

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**САБИРОВА РИХСИ АБДУКАДИРОВНА,
ЮЛДАШЕВ НОСИРЖОН МУХАМЕДЖАНОВИЧ**

Область знаний – «Социальное обеспечение и здравоохранение» - 500000

Область образования – «Здравоохранение» - 510000

УЧЕБНИК ПО ПРЕДМЕТУ
«БИОХИМИЯ»

II часть

5510100 - «Лечебное дело»

5510200 – «Педиатрическое дело»

5510300 – «Медико-профилактическое дело»

5111000 – «Профессиональное образование»

5510900 – «Медико-биологическое дело»

Ташкент – 2018

Авторский коллектив:

Юлдашев Н.М., Сабирова Р.А., Иноятова Ф.Х., Кульманова М.У.,
Исмаилова Г.О., Акбарходжаева Х.Н., Шукуров И.Б., Каримова Ш.Ф.,
Юсупов М.Ш., Хайбулина З.Р., Нишантаев М.К.

Рецензенты:

Саатов Т.С. – доктор биологических наук, профессор, академик АН
Республики Узбекистан, зав.лаборатории геномики и протеомики института
биоорганической химии академии наук Республики Узбекистан

Ирискулов Б.У. – доктор медицинских наук, профессор, зав.кафедрой
нормальной и патологической физиологии Ташкентской медицинской
академии

Биохимия: учебник / Под редакцией проф. Р.А.Сабировой, Н.М.Юлдашева.

Ташкент, 2018.- с.

В учебнике рассмотрены основные положения биологической химии. Приведены сведения о структуре и свойствах биомолекул, биоэнергетике, молекулярных основах физиологических функций организма. Рассмотрены биохимические особенности важнейших органов и тканей. Изложены современные представления о молекулярных основах нарушений при ряде патологических состояний и болезней.

Учебник предназначен для бакалавров медицинских высших учебных заведений.

ВВЕДЕНИЕ

Предлагаемый учебник посвящён к рассмотрению вопросов функциональной биохимии, а именно вопросов молекулярной биологии и биохимию отдельных органов и систем организма.

Молекулярная биология в широком смысле – это область биологии, изучающая важнейшие явления жизнедеятельности – наследственность, изменчивость, рост, развитие, движение, обмен веществ и энергии, чувствительность, иммунитет и др., на уровне молекулярного строения живой системы. Существование живой системы обусловлено постоянным взаимодействием практически всех составляющих её химических веществ. Все эти реакции строго упорядочены и, в зависимости от условий и потребностей организма, подвергаются настройке и регулировке. Решающая роль в организации этих процессов принадлежит двум классам больших молекул – белкам и нуклеиновым кислотам. Эти биополимеры и являются информационными молекулами и служат главным объектом исследования молекулярной биологии. Поэтому обычно под молекулярной биологией подразумевают комплекс биологических наук, изучающий механизмы хранения, передачи и реализации генетической информации, строение и функции нерегулярных биополимеров – белков и нуклеиновых кислот.

Функциональная биохимия – это раздел биохимии, изучающий химические превращения, лежащие в основе функций органов, тканей и организма в целом. Она изучает осуществление органами и тканями специфических биохимических функций; структурно-функциональную компартментализацию и интеграцию биохимических процессов в организме; биохимические механизмы регуляции процессов, протекающих в органах и тканях и организме в целом, и их интеграцию; биохимические процессы, обеспечивающие поддержание гомеостаза и адаптацию организма. По сути функциональная биохимия является основой для понимания течения физиологических реакций специфичных для отдельных

тканей и органов, т.е. фундаментальной основой физиологии и, в определённой мере, патологической физиологии.

Студенты медики должны помнить, что в настоящее время именно молекулярная биология является локомотивом развития биологической и медицинской науки. Её теоретические результаты уже легли в основу революционных современных технологий. Именно её успехи привели к появлению таких методов, как геновая инженерия, клонирования, искусственная экспрессия и нокаут генов. Она привела к появлению молекулярной генетики, причём привлечение вычислительной техники для анализа генетической информации, привело к появлению таких современных направлений, как биоинформатика, геномика и протеомика. Функциональная биохимия, будучи биохимией отдельных органов и систем организма, служит для полного понимания функционирования организма и механизмов развития патологических процессов.

Часть I.
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Глава 1.
ОРГАНИЗАЦИЯ И РЕПЛИКАЦИЯ ДНК

Нуклеиновые кислоты: ДНК, РНК. Основные нуклеотиды клетки. В каждом живом организме присутствуют 2 типа нуклеиновых кислот: рибонуклеиновая кислота (РНК) и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Молекулярная масса самой «маленькой» из известных нуклеиновых кислот – транспортной РНК (тРНК) составляет примерно 25 кД. ДНК – наиболее крупная полимерная молекула; её молекулярная масса варьирует от 1000 до 1000000 кД. ДНК и РНК состоят из мономерных единиц – нуклеотидов, поэтому нуклеиновые кислоты называют полинуклеотидами. Например, вирус животного SV40 содержит $5,0 \cdot 10^3$ нуклеотидов и 5 генов; в Т4 бактериофаге $2,0 \cdot 10^5$ нуклеотидов и 200 генов; в *E. coli* $4,6 \cdot 10^6$ нуклеотидов и 4600 генов; в гаплоидной клетке человека $2,8 \cdot 10^9$ нуклеотидов и 30000-40000 генов. Следует сказать, что сперматозоидах человека содержится 60% ДНК, в соматических клетках – 1-10% (в мышцах – 0,2%) ДНК, внеядерная ДНК составляет 1,3%. Содержание РНК в клетках превышает содержание ДНК в 5-10 раза, в клетках с высоким синтезом белка соотношение РНК/ДНК составляет 4-10, со средней интенсивностью – 0,3-2,5. В эукариотических клетках 11% РНК локализовано в ядре, 15% – в митохондриях, 50% – в рибосомах и 24% – в цитоплазме. В таблице X представлены особенности ДНК и РНК.

Типы НК	М.м.	S	%	локализация	функция
ДНК	10^{11}	-	97-99% 1-3	Ядро Митохондрии	Хранение и передача наследственной информации
мРНК	$4 \cdot 10^4 - 1,2 \cdot 10^6$	6-25	25%	Ядро, цитоплазма	Передача наследственной информации
тРНК	$2,5 \cdot 10^4$	4	15%	Цитоплазма, рибосомы,	Активизация аминокислот и их

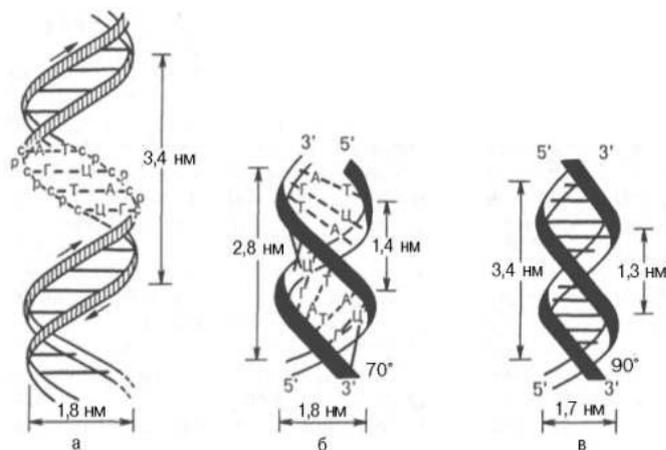
				митохондрии	транспорт
рРНК	0,7x10 ⁶ 1,5x10 ⁶ 0,6x10 ⁶ 1,1x10 ⁶ 4,0x10 ⁴	18 28 16 23 5	80%	рибосомы	Синтез белка
гмяРНК	2,5- 5x10 ⁴	4-8	Незначительное количество	Ядро, частицы РНК	Активизация генов

О локализации и количественном содержании нуклеиновых кислот в клетках получены определённые данные. Доказано, что количественное содержание ДНК в клетках одного и того же организма отличается удивительным постоянством и исчисляется несколькими пикограммами, однако в клетках разных видов живых организмов имеются существенные количественные различия в содержании ДНК. Хорошо известно также, что ДНК преимущественно сосредоточена в ядре, а в митохондриях и хлоропластах содержится только небольшой процент клеточной ДНК. О количестве РНК нет точных данных, поскольку содержание её в разных клетках в значительной степени определяется интенсивностью синтеза белка. На долю РНК приходится около 5-10% от общей массы клетки. Современная классификация различных типов клеточной РНК основывается на данных топографии, функции и молекулярной массы.

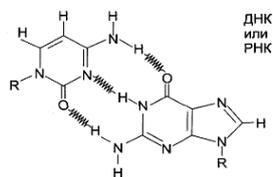
Первичная структура. Под первичной структурой нуклеиновых кислот понимают порядок, последовательность расположения мононуклеотидов в полинуклеотидной цепи ДНК и РНК. Такая цепь стабилизируется 3',5'-фосфодиэфирными связями. Поскольку молекулярная масса нуклеиновых кислот колеблется в широких пределах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

В последнее время о первичной структуре ДНК (точнее, отдельных её фрагментов) судят по ряду косвенных данных, например, по степени сплочённости нуклеотидных звеньев в молекуле ДНК (определение сводится в конечном счёте к выяснению числа и структуры отдельных фракций нуклеотидов, так называемых изоплитов), также по кинетике реассоциации ДНК (метод позволяет выяснить наличие в молекуле повторяющихся последовательностей нуклеотидов). О первичной структуре ДНК судят, кроме того, по распределению минорных оснований (имеются данные о существовании подобной закономерности).

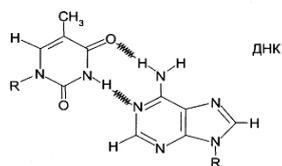
Вторичная структура. В соответствии с моделью Дж. Уотсона и Ф. Крика, предложенной в 1953 г. на основании ряда аналитических данных, а также рентгеноструктурного анализа молекула ДНК состоит из двух цепей, образуя правовращающую спираль, в которую обе полинуклеотидные цепи закручены вокруг одной и той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



Цитозин ∷ Гуанин
(три водородные связи)



Тимин ∷ Аденин
(две водородные связи)



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

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

Все основания цепей ДНК расположены внутри двойной спирали, а пентозофосфатный остов — снаружи. Полинуклеотидные цепи

удерживаются относительно друг друга за счёт водородных связей между комплементарными пуриновыми и пиримидиновыми азотистыми основаниями А и Т (две связи) и между Г и Ц (три связи). При таком сочетании каждая пара содержит по три кольца, поэтому общий размер этих пар оснований одинаков по всей длине молекулы. Водородные связи при других сочетаниях оснований в паре возможны, но они значительно слабее. Последовательность нуклеотидов одной цепи полностью комплементарна последовательности нуклеотидов второй цепи. Комплементарные основания уложены в стопку в сердцевине спирали. Между основаниями двухцепочечной молекулы в стопке возникают гидрофобные взаимодействия, стабилизирующие двойную спираль. Такая структура исключает контакт азотистых остатков с водой, но стопка оснований не может быть абсолютно вертикальной. Пары оснований слегка смещены относительно друг друга. В образованной структуре различают две бороздки — большую, шириной 2,2 нм, и малую, шириной 1,2 нм. Азотистые основания в области большой и малой бороздок взаимодействуют со специфическими белками, участвующими в организации структуры хроматина.

ДНК может формировать несколько типов двойных спиралей (около 6, от А до Е и Z форм). Они различаются числом пар азотистых оснований, приходящихся на один виток двойной спирали; расстоянием между плоскостями пар оснований, который они образуют с осью спирали; диаметром спирали и направленностью (правая или левая) двойной спирали.

Тип	Закрученность спирали	Число пар оснований на виток	Расстояние между плоскостями оснований	Диаметр спирали
A	Правая	11	0,256 нм	2,3 нм
B	Правая	10	0,338 нм	1,9 нм
Z	Левая	12	0,371 нм	1,8 нм

Некоторые из этих форм переходят друг в друга при изменении при изменении концентрации соли и степени гидратации. В физиологических

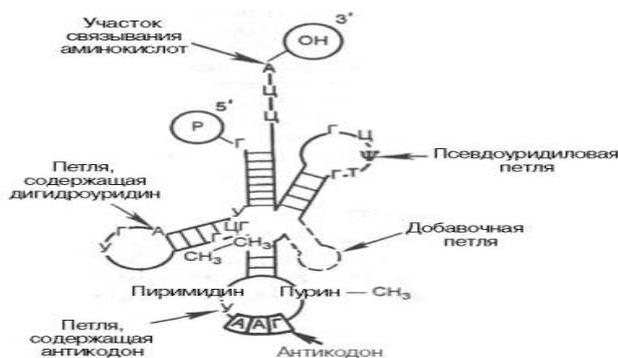
условиях она находится в В-форме, правовращающаяся, шаг его спирали составляет 3,4 нм, виток содержит 10 пар нуклеотидов. При более высоком содержании солей и менее гидратированной форме переходит в А-форму, С-Е-формы выявлены в экспериментах. Z-форма, левовращающаяся, зигзагообразная, участвует в регуляции экспрессии генов, реверсия его в В-форму может происходить при потере метильной группировки 5-дезоксиметилцитидина.

Генетическая информация, закодированная в последовательности нуклеотидов, служит следующим целям: необходима для синтеза белковых молекул и обеспечивает передачу самой себя ряду клеточных поколений и поколений организмов, т.е. служит матрицей для транскрипции и репликации. Комплементарность цепей двойной спирали Уотсона и Крика предполагает полуконсервативный способ репликации ДНК.

В отличие от ДНК, РНК содержит рибозу; из азотистых оснований аденин, гуанин, цитозин, урацил; одноцепочная, комплементарна только к одной цепи ДНК и содержание гуанина не обязательно равно цитозину, урацила – к аденину; может гидролизироваться под воздействием щелочей до 2-3-циклических диэфиров мононуклеотидов и поэтому для диагностических целей более выгодна. Все они вовлечены в синтез белка, различают несколько видов РНК. Информационная (мРНК) является наиболее гетерогенной в отношении размеров и стабильности, является переносчиком информации от гена к белок-синтезирующей системе клетки, т.е. матрицы. Находящиеся в цитоплазме зрелые молекулы мРНК не являются полной копией транскрибируемого участка ДНК. Непроцессированные продукты транскрипции, находящиеся в ядрах клеток млекопитающих, образуют гяРНК.

Пространственную структуру любых тРНК, независимо от различий в последовательности нуклеотидов, описывают универсальной моделью «клеверного листа». В каждой молекуле тРНК есть участки цепи, не участвующие в образовании водородных связей между нуклеотидными

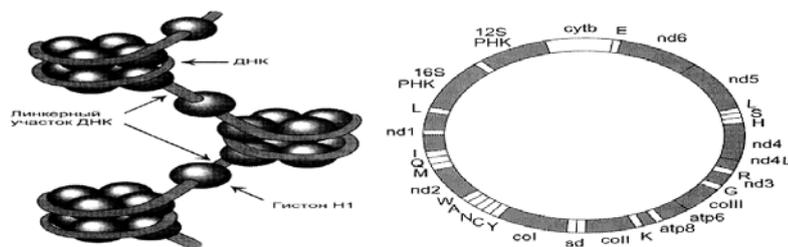
остатками. К ним, в частности, относят участок, ответственный за связывание с аминокислотой на 3'-конце молекулы и антикодон — специфический триплет нуклеотидов, взаимодействующий комплементарно с кодоном мРНК.



В состав нуклеотидов тРНК входят минорные основания (в среднем 10—12 оснований на молекулу). Они представлены метилированными основаниями, изомерами и аналогами пиримидинов. Минорные основания выполняют 2 функции: они делают тРНК устойчивыми к действию нуклеаз цитоплазмы и поддерживают определённую третичную структуру молекулы, так как не могут участвовать в образовании комплементарных пар, и препятствуют спирализации определённых участков в полинуклеотидной последовательности тРНК.

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

Третичная структура. Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому. В диплоидных клетках человека содержится **46 хромосом**. Общая длина ДНК всех хромосом клетки составляет 1,74 м, но она упакована в ядре, диаметр которого в миллионы раз меньше. Чтобы расположить ДНК в ядре клетки, должна быть сформирована очень компактная структура. Компактизация и суперспирализация ДНК осуществляются с помощью разнообразных белков, взаимодействующих с определёнными последовательностями в структуре ДНК. Все связывающиеся с ДНК эукариотов белки можно разделить на 2 группы: **гистоновые и негистоновые белки**. Комплекс белков с ядерной ДНК клеток называют хроматином.



Хроматин. Гистоны, нуклеосомы, рибосомы. Генетическая организация генома.

Хроматин эукариотических клеток содержит в своем составе: ДНК – 30-45%, гистоновые белки – 30-50%, негистоновые белки – 4-33%, РНК – 1,5-10%. Молекула ДНК «накручивается» на поверхность гистонового октамера, совершая 1,75 оборота (около 146 пар нуклеотидов). Такой комплекс гистоновых белков с ДНК служит основной структурной единицей хроматина, её называют «**нуклеосома**». ДНК, связывающую нуклеосомные частицы, называют линкерной ДНК. В среднем линкерная ДНК составляет 60 пар нуклеотидных остатков. Молекулы гистона H1 связываются с ДНК в межнуклеосомных участках (линкерных последовательностях) и защищают эти участки от действия нуклеаз. 90% ДНК находится в нуклеосомах

(неактивный хроматин), 10% - линкерные участки (активный хроматин). Активный хроматин составляет 2-11%: в мозге – 10-11%, гепатоцитах – 3-4%, почечных клетках – 2-3%.

Каждая клетка многоклеточного организма содержит одну и ту же генетическую информацию в виде одной и той же последовательности ДНК. Различия между типами клеток одного и того же организма объясняются дифференциальной экспрессией общей генетической информации. ДНК в активном хроматине содержит длинные участки (100000 пар оснований), чувствительные к действию нуклеаз (ДНК-аза I), что создает возможность транскрипции. Внутри большой области активного хроматина обнаружены короткие участки (100-300 нуклеотидов) с еще более высокой чувствительностью к ДНК-азе I – гиперчувствительные сайты. Они обычно локализованы непосредственно перед активным геном и могут быть обусловлены наличием так называемых энхансерных элементов, усиливающих транскрипцию.

Инсонда ишлайдиган генлар сони

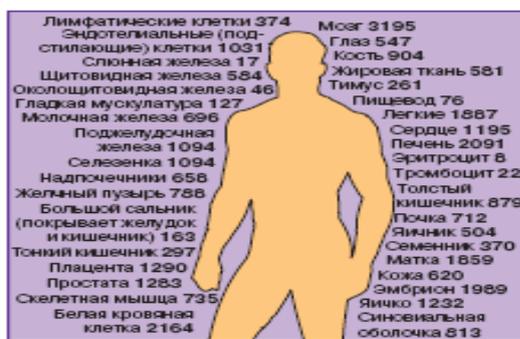


Рис. 3 Количество генов, вовлеченных в развитие и функционирование органов и тканей человека

Под электронным микроскопом в интерфазном ядре можно увидеть транскрипционно не активный гетерохроматин и транскрипционно активный эухроматин. Различают 2 вида гетерохроматина: конститутивный (всегда

неактивный), расположенный в областях близких к центромерам и концевым участкам (теломерам) хромосом; и факультативный (временами транскрибируемый) хроматин. Согласно экспериментальным исследованиям, из двух X-хромосом самок млекопитающих одна практически транскрипционно неактивна, однако при гаметогенезе и на ранних стадиях эмбриогенеза гетерохроматиновая X-хромосома становится транскрипционно-активной, т.е. проявляется свойства факультативного гетерохроматина.

Гаплоидный геном человека состоит из $3,5 \times 10^9$ пар оснований и примерно из $1,7 \times 10^7$ нуклеосом, т.е. каждая из 23 хроматид гаплоидного генома человека содержит в среднем $1,5 \times 10^8$ нуклеотидов в одной двухцепочной молекуле ДНК, размер которых уменьшен в 8000 раз, содержит около 1,5 миллиона пар генов. Однако количество белков в организме человека не более 1000000. Это означает, что большая часть генома не кодируется. Их небольшая часть выполняет роль регулятора экспрессии генов в ходе развития, дифференцировку и адаптацию. Большая часть избыточной ДНК представлена многочисленными семействами повторяющихся последовательностей, т.е. имеются повторяющиеся и неповторяющиеся последовательности. 20-30% генома человека представлена повторяющимися последовательностями. При этом высокоповторяющиеся транскрипционно неактивны и участвуют в формировании хроматина.

Гистоны — белки с молекулярной массой 11—21 кД, содержащие много остатков аргинина и лизина. Благодаря положительному заряду гистоны образуют ионные связи с отрицательно заряженными фосфатными группами, расположенными на внешней стороне двойной спирали ДНК. Существует 5 типов гистонов. Четыре гистона H2A, H2B, H3 и H4 образуют октамерный белковый комплекс $(H2A, H2B, H3, H4)_2$, который называют «**нуклеосомныйкор**» (от англ. *nucleosome core*). Молекула ДНК «накручивается» на поверхность гистонического октамера, совершая 1,75

оборота (около 146 пар нуклеотидов). Такой комплекс гистоновых белков с ДНК служит основной структурной единицей хроматина, её называют «**нуклеосома**». ДНК, связывающую нуклеосомные частицы, называют линкерной ДНК. В среднем линкерная ДНК составляет 60 пар нуклеотидных остатков. Молекулы гистона H1 связываются с ДНК в межнуклеосомных участках (линкерных последовательностях) и защищают эти участки от действия нуклеаз.

В ядре каждой клетки присутствует около 60 млн молекул каждого типа гистонов, а общая масса гистонов примерно равна содержанию ДНК. Аминокислотные остатки лизина, аргинина и концевые аминокислоты гистонов могут модифицироваться: ацетилироваться, фосфорилироваться, метилироваться или взаимодействовать с белком убиквитином (негистоновый белок). Модификации бывают обратимыми и необратимыми, они изменяют заряд и конформацию гистонов, а это влияет на взаимодействие гистонов между собой и с ДНК. Активность ферментов, ответственных за модификации, регулируется и зависит от стадии клеточного цикла. Модификации делают возможными конформационные перестройки хроматина.

Негистоновые белки хроматина. В ядре эукариотической клетки присутствуют сотни самых разнообразных ДНК-связывающих негистоновых белков. Каждый белок комплементарен определённой последовательности нуклеотидов ДНК (сайт ДНК). К этой группе относятся семейство сайт-специфических белков типа «цинковые пальцы». Каждый «цинковый палец» узнаёт определённый сайт, состоящий из 5 нуклеотидных пар. Другое семейство сайт-специфических белков — гомодимеры. Фрагмент такого белка, контактирующий с ДНК, имеет структуру «спираль-поворот-спираль». К группе структурных и регуляторных белков, которые постоянно ассоциированы с хроматином, относят белки высокой подвижности (**HMG-белки** — от англ. *highmobilitygelproteins*). Они имеют молекулярную массу менее 30 кД и характеризуются высоким содержанием заряженных

аминокислот. Благодаря небольшой молекулярной массе НМГ-белки обладают высокой подвижностью при электрофорезе в полиакриламидном геле. К негистоновым белкам принадлежат также ферменты репликации, транскрипции и репарации. При участии структурных, регуляторных белков и ферментов, участвующих в синтезе ДНК и РНК, нить нуклеосом преобразуется в высоко конденсированный комплекс белков и ДНК. Образованная структура в 10000 раз короче исходной молекулы ДНК.

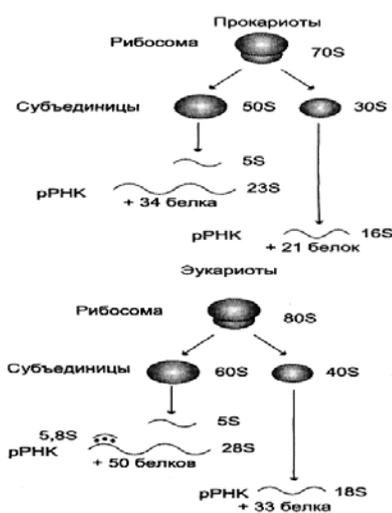
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА МИТОХОНДРИЙ. Митохондрии — важнейшие органеллы клеток, осуществляющие синтез АТФ за счёт окисления субстратов. Митохондрии имеют собственный уникальный геном, наследуемый по материнской линии, так как он происходит из цитоплазмы яйцеклетки. Геном митохондрий сперматозоидов не попадает в оплодотворённую яйцеклетку. Митохондриальный геном человека представлен одной кольцевой молекулой ДНК из 16569 нуклеотидных пар. Он кодирует 13 белков, используемых на построение структурно-функциональных компонентов митохондрий. В митохондриях отсутствуют ферменты, ответственные за репарацию, поэтому митохондриальный геном содержит немало ошибок. Митохондрии эукариотов имеют очень маленькие рибосомы с константой седиментации 55S, тогда как рибосомы прокариотов — 70S.

Рибосомы представляют собой рибонуклео-протеиновые образования — своеобразные «фабрики», на которых идёт сборка аминокислот в белки. Эукариотические рибосомы имеют константу седиментации 80S и состоят из 40S (малой) и 60S (большой) субъединиц. Каждая субъединица включает рРНК и белки. В 40S субъединицу входит рРНК с константой седиментации 18S и около 30—40 белков. В 60S субъединице обнаружено 3 вида рРНК: 5S, 5,8S и 28S и около 50 различных белков.

Белки входят в состав субъединиц рибосомы в количестве одной копии и выполняют структурную функцию, обеспечивая взаимодействие между мРНК и тРНК, связанными с аминокислотой или пептидом. В присутствии

мРНК 40S и 60S субъединицы объединяются с образованием полной рибосомы, масса которой примерно в 650 раз больше массы молекулы гемоглобина.

В рибосоме есть 2 центра для присоединения молекул тРНК: аминокислотный (А) и пептидилный (Р) центры, в образовании которых участвуют обе субъединицы. Вместе центры А и Р включают участок мРНК, равный 2 кодонам. В ходе трансляции центр А связывает аа-тРНК, строение которой определяет код он, находящийся в области этого центра. В структуре этого кодона зашифрована природа аминокислоты, которая будет включена в растущую полипептидную цепь. Центр Р занимает пептидил-тРНК, т.е. тРНК, связанная с пептидной цепочкой, которая уже синтезирована.



У эукариотов различают рибосомы 2 типов: «свободные», обнаруживаемые в цитоплазме клеток, и связанные с эндоплазматическим ретикулумом (ЭР). Рибосомы, ассоциированные с ЭР, ответственны за синтез белков «на экспорт», которые выходят в плазму крови и участвуют в обновлении белков ЭР, мембраны аппарата Гольджи, митохондрий или лизосом.

Митохондрии содержат свой набор рибосом. Митохондриальные рибосомы мельче, чем рибосомы эукариотов, прокариотов и имеют

константу седиментации 55S. Они также состоят из двух субъединиц, но отличаются от эукариотических рибосом количеством и составом рРНК и белков.

Изменения и перестройки генетического материала

1. Для выделения ДНК из гомогената тканей удаляют фрагменты клеточных органелл и мембран с помощью центрифугирования. Белки, разрушенные протеазами (чаще всего применяют протеиназу К), экстрагируют из раствора. Затем ДНК осаждают, например, этанолом и после удаления надосадочной жидкости ДНК растворяют в буферном растворе.

2. Молекула ДНК среднего размера содержит 150000000 нуклеотидных пар и имеет длину 4 см. Поэтому молекулы ДНК чувствительны к сдвиговым усилиям, возникающим в растворе, и в процессе выделения ДНК из тканей она фрагментируется. Получаются молекулы ДНК значительно меньше исходных, но все равно очень большие — тысячи или десятки тысяч пар нуклеотидов. Такие молекулы неудобны для исследований, и их приходится дополнительно фрагментировать.

Для фрагментирования используют **рестриктазы**— ферменты, выделяемые из бактерий. У бактерий эти ферменты участвуют в уничтожении чужеродных для них ДНК. Рестриктазы «узнают» специфические последовательности из 4—6 нуклеотидов (сайты рестрикции), которые встречаются в ДНК человека. Известно множество различных рестриктаз, причем каждая из них «узнает» свой сайт рестрикции. С помощью набора рестриктаз можно разрезать молекулу ДНК на фрагменты желаемой длины. Например, для изучения первичной структуры удобны фрагменты размером около 300 нуклеотидных пар (н.п.). Следовательно, цельную молекулу ДНК в 150000000 н.п. нужно разрезать на 500000 фрагментов и каждый из фрагментов изучать отдельно.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для проведения некоторых исследований необходимо большое количество хорошо очищенной высокомолекулярной ДНК. Метод ПЦР дает возможность избирательно синтезировать небольшие участки ДНК и получить за 3—4 ч несколько миллионов копий исследуемого фрагмента. Объектами для выделения ДНК могут быть кровь, биоптат ткани, слюна, моча, околоплодные воды и т.д.

Репликация ДНК

ДНК и наследственность.

Структура ДНК и РНК — способ «записи информации», обеспечивающий формирование в организме двух информационных потоков. Один из потоков осуществляет воспроизведение информации, заключённой в молекулах ДНК. Удвоение молекул ДНК называют **«репликация»**. В результате этого процесса и последующего деления дочерние клетки наследуют геном родительской клетки, в котором содержится полный набор генов, или «инструкций» о строении РНК и всех белков организма.

Второй поток информации реализуется в процессе жизнедеятельности клетки. В этом случае происходит «считывание», или **транскрипция**, генов в форме полинуклеотидных последовательностей мРНК и использование их в качестве матриц для синтеза соответствующих белков.

В последнем случае осуществляется «перевод» (**трансляция**) информации, заключённой в мРНК, на «язык» аминокислот.

Этот поток информации от ДНК через РНК на белок получил название **«центральная догма биологии»**, который был сформулирован Криком. Согласно ему не может быть переноса информации от белка к РНК, но допускается перенос от РНК к ДНК. Он характерен для всех живых организмов, за исключением некоторых РНК-содержащих вирусов.

Матричная природа синтеза нуклеиновых кислот и белков обеспечивает высокую точность воспроизведения информации. Так, в ходе

репликации дочерние молекулы ДНК синтезируются на нитях материнской ДНК. При образовании всех видов РНК, необходимых для синтеза белков, информация об их структуре «считывается» с определённых генов в молекулах ДНК. В синтезе новых молекул белков матрицей, содержащей информацию об их строении, являются мРНК.

Исправление ошибок, возникающих в структуре ДНК под воздействием факторов внешней и внутренней среды, осуществляет ещё один матричный синтез — **репарация**. Он является вариантом ограниченной репликации и восстанавливает первоначальную структуру ДНК, используя в качестве матрицы участок неповреждённой нити ДНК. При размножении РНК-содержащих вирусов в клетках эукариотических организмов новые молекулы ДНК могут синтезироваться с помощью процесса, в ходе которого РНК служит матрицей для синтеза комплементарной ДНК, которая может включаться в геном высших организмов (**обратная транскрипция**). Возможно, обратная транскрипция имеет значение не только при опухолевой трансформации клеток, но и при их нормальной жизнедеятельности или в ходе их дифференцировки.

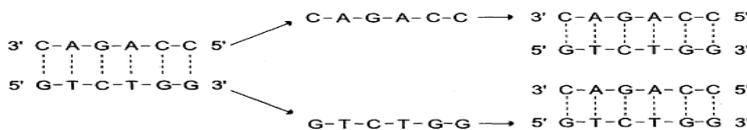
Все виды передачи генетической информации основаны на матричном механизме. Это означает, что для каждого из них необходима матрица. При репликации матрицей служит одна из цепей ДНК (или РНК у вирусов), при транскрипции — участок ДНК (прямая транскрипция) или РНК (обратная транскрипция), а при трансляции – мРНК, т. е. матрицей может быть только нуклеиновая кислота. Матрица позволяет с большой точностью (что очень важно, поскольку речь идет о наследственных свойствах) и экономичностью (что не менее важно) воспроизводить имеющуюся в клетке генетическую информацию. Точность копирования соответствующей нуклеиновой матрицы обеспечивает *правило комплементарности азотистых оснований* нуклеотидов, согласно которому происходит спаривание А с Т (или с У в

РНК) и Г с Ц. Благодаря этому порядок чередования нуклеотидов в каждой новой полинуклеотидной цепи комплементарен матрице.

Молекулярные основы репликации

Живые организмы в течение S-фазы клеточного цикла, которая предшествует делению клетки, удваивают содержание ДНК таким образом, что каждая дочерняя клетка после деления получает набор хромосом, идентичный родительской клетке. Процесс удвоения хромосом называют репликацией (редупликацией).

Хромосома содержит одну непрерывную двухцепочечную молекулу ДНК. При репликации каждая цепь родительской двухцепочечной ДНК служит матрицей для синтеза новой комплементарной цепи. Вновь образованная двойная спираль имеет одну исходную (родительскую) и одну вновь синтезированную (дочернюю) цепь. Такой механизм удвоения ДНК получил название «полуконсервативная репликация».



Первичная структура дочерней цепи определяется первичной структурой родительской цепи, потому что в основе её образования лежит принцип комплементарности оснований ($G = C$ и $A = T$). Ферменты и белки, участвующие в репликации, должны работать быстро и точно. Эти условия выполняются с помощью особого мультиферментного комплекса.

В 1957 году Меселсон и Сталь установили, что в живых организмах репликация ДНК происходит по полуконсервативному механизму. Сначала он представлялся просто: на расплетающихся цепях ДНК, которые являются матрицами, образуются комплементарные новые цепи ДНК. Нуклеотиды при этом выстраиваются по матрице соответственно правилу комплементарности, а «сшиваются», друг с другом фосфодиэфирными связями с помощью специального фермента *ДНК-полимеразы*. Впоследствии

оказалось, что ДНК-полимераза не способна начать синтез новой ДНК из свободных нуклеотидов; она лишь способна удлинять полинуклеотидную цепь, т. е. для нее нужна затравка. В настоящее время репликация ДНК представляется сложным, многоступенчатым процессом, который имеет отличительные признаки у прокариотов и эукариотов.

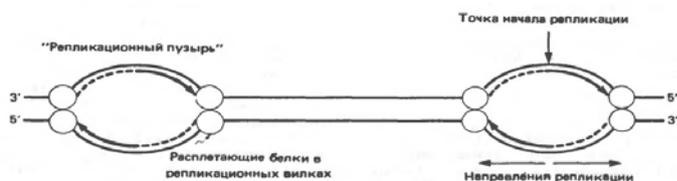
Для репликации ДНК необходим ряд условий:

- 1) наличие дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (дАТФ, дТТФ, дГТФ и дЦТФ) как структурного материала для сборки новых цепей ДНК;
- 2) расплетение двойной спирали ДНК;
- 3) образование затравки;
- 4) наличие ферментов, участвующих в образовании затравки и синтезе новых полинуклеотидных цепей ДНК.

Репликацию можно разделить на 4 этапа: образование репликативной вилки (инициация), синтез новых цепей (элонгация), исключение праймеров, завершение синтеза двух дочерних цепей ДНК (терминация).

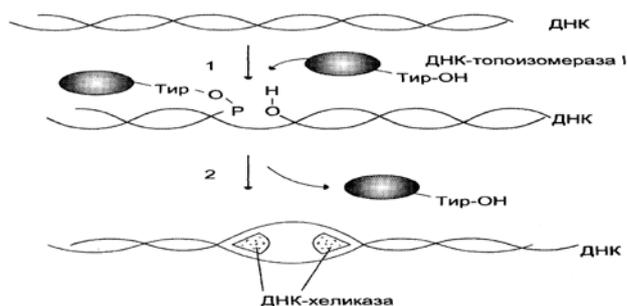
ИНИЦИАЦИЯ РЕПЛИКАЦИИ

ДНК хромосомы человека содержит примерно 150 млн пар нуклеотидов. Репликация такой большой молекулы со скоростью 50 нуклеотидов в минуту шла бы примерно 800 ч. Поэтому инициация синтеза ДНК происходит в нескольких сайтах хромосомы, которые называют сайтами инициации репликации, или **ориджинами** (от англ. *origin* — происхождение) репликации.



Термин «сайт» используют для обозначения любого участка генома. Ориджины репликации имеют определённую нуклеотидную последовательность. Последовательность ДНК, ограниченную двумя ориджинами репликации, называют единицей репликации, или **репликоном**. На ориджинах при участии ДНК-топоизомеразы I инициируется двунаправленная репликация. Образуются две репликативные вилки, перемещающиеся в противоположных направлениях до тех пор, пока не встретятся со следующим репликоном, т.е. репликация прекращается, когда встречаются две репликативные вилки.

Синтез ДНК у эукариотов происходит в S-фазу клеточного цикла. Инициацию репликации регулируют специфические сигнальные белковые молекулы — факторы роста. Факторы роста связываются рецепторами мембран клеток, которые передают сигнал, побуждающий клетку к началу репликации. Синтез новых одноцепочечных молекул ДНК может произойти только при расхождении родительских цепей. В определённом сайте (точка начала репликации) происходит локальная денатурация ДНК, цепи расходятся и образуются две репликативные вилки, движущиеся в противоположных направлениях. В образовании репликативной вилки принимает участие ряд белков и ферментов.



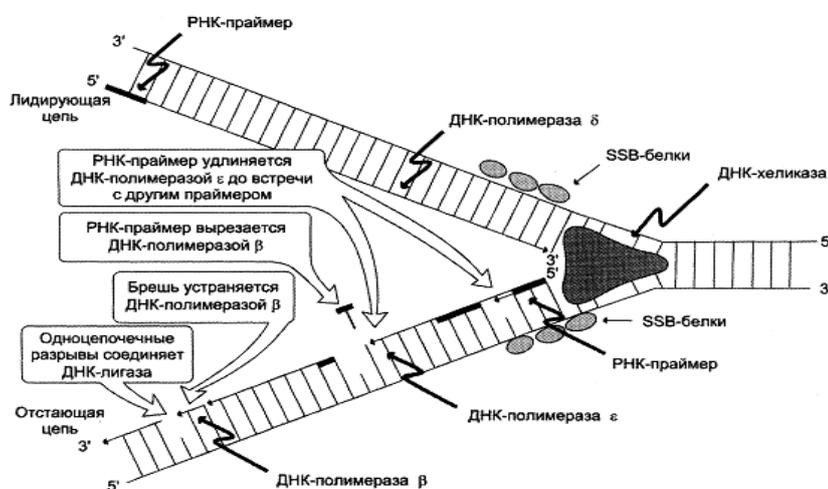
ДНК-топоизомераза I разрывает фосфоэфирную связь в одной из цепей двойной спирали и ковалентно присоединяется к 5'-концу в точке разрыва. По окончании формирования репликативной вилки фермент ликвидирует разрыв в цепи и отделяется от ДНК. Разрыв водородных связей в

двухцепочечной молекуле ДНК осуществляет ДНК-хеликаза. Фермент ДНК-хеликаза использует энергию АТФ для расплетения двойной спирали ДНК. В результате происходит раскручивание участка суперспирализованной молекулы ДНК. В поддержании этого участка ДНК в раскрученном состоянии участвуют SSB-белки (*singlestrandbindingproteins*, т.е. белки, связывающиеся с одноцепочечными нитями ДНК). SSB-белки, не закрывая азотистых оснований, связываются с одноцепочечной ДНК по всей длине разделившихся цепей и таким образом предотвращают их комплементарное скручивание и образование «шпилек». Они обладают большим сродством к одноцепочечным участкам ДНК, независимо от первичной структуры цепей.

Репликация ДНК осуществляется ДНК-зависимыми ДНК-полимеразами. Ферменты проявляют каталитическую активность только в присутствии предварительно раскрученной матричной двухцепочечной ДНК. Синтез цепей ДНК происходит в направлении 5'→3' растущей цепи, т.е. очередной нуклеотид присоединяется к свободному 3'-ОН-концу предшествующего нуклеотидного остатка. Синтезируемая цепь всегда антипараллельна матричной цепи. В ходе репликации образуются 2 дочерние цепи, представляющие собой копии матричных цепей.

В синтезе эукариотических ДНК принимают участие 5 ДНК-полимераз (α , β , ϵ , δ – ядерные, γ – митохондриальная). Иницирует репликацию ДНК-полимераза α , которая комплементарна определённому сайту одноцепочечной ДНК. Присоединяясь к нему, она синтезирует небольшой фрагмент РНК — праймер, состоящий из 8—10 рибонуклеотидов и около 50 дезоксирибонуклеотидов (всего 60 нуклеотидных остатков). Олигонуклеотид, синтезированный ДНК-полимеразой α и образующий небольшой двухцепочечный фрагмент с матрицей, позволяет присоединиться ДНК-полимеразе δ и продолжить синтез новой цепи в направлении от 5'- к 3'-концу по ходу раскручивания репликативной вилки. Выбор ДНК-полимеразой δ очередного нуклеотида определяется матрицей. Включение дезоксирибонуклеозидмонофосфатов в растущую цепь ДНК сопровождается

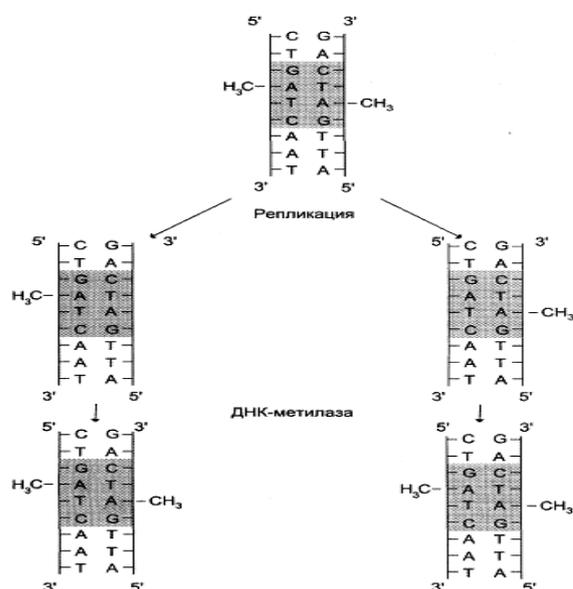
гидролизом макроэргических связей соответствующих нуклеозидтрифосфатов и отщеплением пирофосфата. Энергия макроэргических связей расходуется на образование 3',5'-фосфодиэфирной связи между последним нуклеотидом растущей цепи ДНК и присоединяемым нуклеотидом. Включение нуклеотида в синтезируемую цепь ДНК невозможно без предварительного связывания азотистого основания водородными связями с комплементарным нуклеотидом матричной цепи.



В каждой репликативной вилке идёт одновременно синтез двух новых (дочерних) цепей. Направление синтеза цепи ДНК совпадает с направлением движения репликативной вилки лишь для одной из вновь синтезируемых цепей (**лидирующая цепь**). На второй матричной цепи синтез дочерней ДНК осуществляется двумя ферментами: ДНК-полимеразой α и ε в направлении 5'→3', но против движения репликативной вилки. Поэтому вторая цепь синтезируется прерывисто, короткими фрагментами, которые называют «**фрагменты Оказаки**». Дочерняя цепь ДНК, синтез которой происходит фрагментами, называют отстающей цепью. Каждый фрагмент Оказаки, примерно 100 нуклеотидных остатков, содержит праймер. Праймеры удаляет ДНК-полимераза β, постепенно отщепляя с 5'-конца фрагмента по одному рибонуклеотиду. К ОН-группе на 3'-конце предыдущего фрагмента ДНК-полимераза β присоединяет дезоксирибонуклеотиды

в количестве, равном вырезанному праймеру и таким образом заполняет брешь, возникающую при удалении рибонуклеотидов. Фермент **ДНК-лигаза** катализирует образование фосфодиэфирной связи между 3'-ОН-группой дезоксирибозы одного фрагмента цепи ДНК и 5'-фосфатом следующего фрагмента. Реакция протекает с затратой энергии АТФ. Таким образом, из множества фрагментов Оказаки образуется непрерывная цепь ДНК.

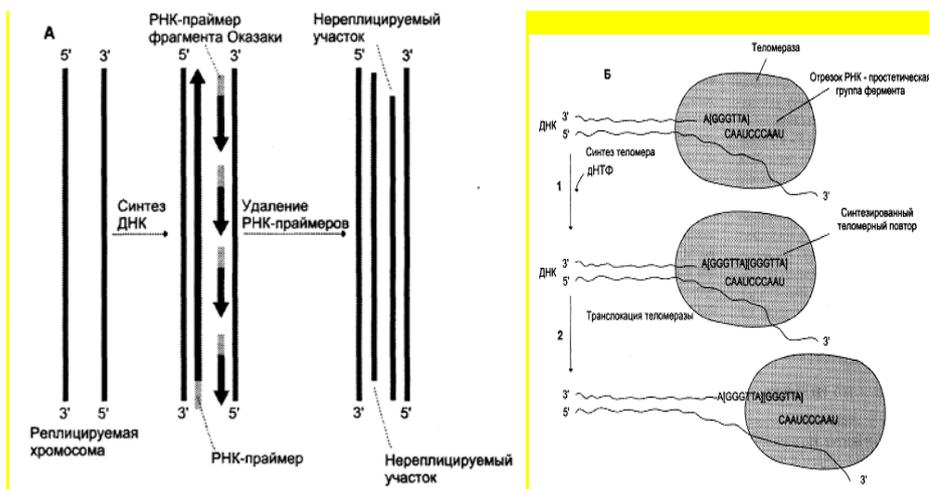
После завершения репликации происходит **метилование нуклеотидных остатков** вновь образованных цепей ДНК. Метильные группы присоединяются ко всем остаткам аденина в последовательности -**GATC**- и цитозина в последовательности -GC-. Количество метилированных оснований равно примерно 1—8%. Модификация происходит при участии метилтрансфераз, использующих в качестве источника метальных групп S-аденозилметионин (SAM). Наличие метильных групп в цепях ДНК необходимо для формирования структуры хромосом, а также для регуляции транскрипции генов.



На каждом конце хромосомы присутствует специфическая нуклеотидная последовательность. Она представлена многочисленными по-

вторыми (сотни или даже тысячи раз) олигонуклеотидов-**GGGTTA-**, называемых теломерной последовательностью, или просто теломерной ДНК. Наличие теломер необходимо для завершения репликации концевых информативных последовательностей хромосом, т.е. для сохранения генетической информации.

После завершения репликации хромосомы 5'-концы дочерних цепей ДНК недостроены, так как после удаления праймеров эти фрагменты оказываются недореплицированными. Это происходит потому, что ДНК-полимераза β , отвечающая за заполнение брешы, образованной после удаления праймера, не может вести синтез цепи ДНК от 3'-к 5'-концу.



Таким образом, в ходе каждого цикла репликации 5'-концы синтезированных цепей укорачиваются. Но такие потери не представляют опасности для генетической информации хромосом, потому что укорочение ДНК идёт за счёт теломер. Во время следующего цикла репликации 5'-концы цепей ДНК опять остаются недостроенными. Таким образом, с каждым клеточным делением ДНК хромосом будут последовательно укорачиваться. Укорочение теломер в большинстве клеток по мере их старения — важный фактор, определяющий продолжительность жизни организма.

Однако в эмбриональных и других быстроделющихся клетках потери концов хромосом недопустимы, потому что укорочение ДНК будет

происходить очень быстро. В эукариотических клетках имеется фермент **теломераза**, обеспечивающий восстановление недореплицированных 5'-концов. К особенностям этого фермента относят присутствие в качестве протетической группы РНК, которая служит матрицей при синтезе теломерных повторов хромосом.

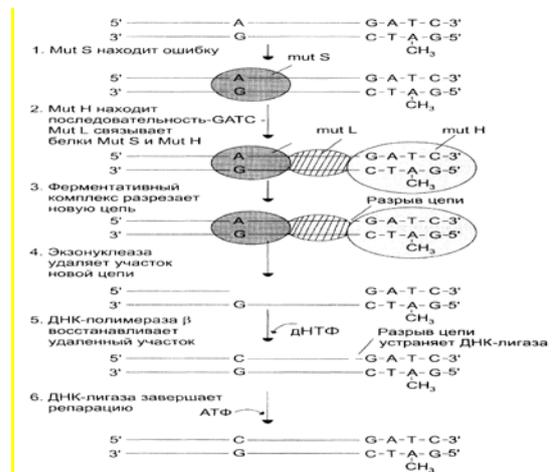
В большинстве соматических клеток теломераза неактивна, так как соматическая клетка имеет длину теломерной ДНК, достаточную для времени жизни клетки и её потомства. Однако небольшую активность теломеразы обнаруживают в клетках с высокой скоростью обновления, таких как лимфоциты, стволовые клетки костного мозга, клетки эпителия, эпидермиса кожи и др., а также теломеразная активность высокая в опухолевых клетках.

Процесс, позволяющий живым организмам восстанавливать повреждения, возникающие в ДНК, называют репарацией. Все репарационные механизмы основаны на том, что ДНК — двухцепочечная молекула, т.е. в клетке есть 2 копии генетической информации. Если нуклеотидная последовательность одной из двух цепей оказывается повреждённой (изменённой), информацию можно восстановить, так как вторая (комплементарная) цепь сохранена. Процесс репарации происходит в несколько этапов. На первом этапе выявляется нарушение комплементарности цепей ДНК. В ходе второго этапа некомплементарный нуклеотид или только основание устраняется, на третьем и четвёртом этапах идёт восстановление целостности цепи по принципу комплементарности. Однако в зависимости от типа повреждения количество этапов и ферментов, участвующих в его устранении, может быть разным. Очень редко происходят повреждения, затрагивающие обе цепи ДНК, т.е. нарушения структуры нуклеотидов комплементарной пары. Такие повреждения в половых клетках не репарируются, так как для осуществления сложной репарации с участием гомологичной рекомбинации требуется наличие диплоидного набора хромосом. Нарушения комплементарности цепей ДНК могут происходить спонтанно, т.е. без участия каких-либо повреждающих факторов, например

результате ошибок репликации, дезаминирования нуклеотидов, депуринизации.

Точность репликации ДНК очень велика, но примерно один раз на 10^5 — 10^6 нуклеотидных остатков происходят ошибки спаривания, и тогда вместо пары нуклеотидов А—Т, G—C в дочернюю цепь ДНК оказываются включенными нуклеотиды, некомплементарные нуклеотидам матричной цепи. Ферменты, участвующие в удалении неправильной пары нуклеотидов, распознают матричную цепь по наличию метилированных остатков аденина в последовательностях **GATC**-. Пока основания нуклеотидных остатков в дочерней цепи неметилированы, ферменты должны успеть выявить ошибку репликации и устранить её.

Выявление и удаление некомплементарного нуклеотида протекает с участием специфичных белков **mut S** (находит неправильную пару и связывается с ним), **mut H** (присоединяется к метилированному участку-GATC-), **mut L** (является связующим белком между ними). **Присоединение** mut L завершает образование активного фермента и формирует комплекс mut S, mut L, mut H на участке, содержащем ошибку, способствует проявлению у mut H эндонуклеазной активности, что приводит к ферментативному гидролизуетфосфоэфирной связи в неметилированной цепи молекулы ДНК.



Экзонуклеаза присоединяется к свободным концам цепи, отщепляя по одному нуклеотиду в направлении от 3'-к 5'- и устраняет некомплементарную пару. Достраивание осуществляется ДНК-полимераза β, а соединение основного и вновь синтезированного участков цепи осуществляется при участии фермента ДНК-лигаза. Для успешного функционирования этих ферментов необходимо участие в репарации хеликазы и SSB-белков.

ДНК каждой клетки человека теряет за сутки около 5000 пуриновых остатков вследствие разрыва N-гликозидной связи между пурином и дезоксирибозой. Тогда в молекуле ДНК на месте этих оснований образуется участок, лишённый азотистых оснований, названный AP-сайтом (AP-site, или апуриновый сайт). Этот тип повреждений устраняет фермент ДНК-инсертаса (от англ. *insert*— вставлять), который может присоединять к дезоксирибозе основание в соответствии с правилом комплементарности. В этом случае нет необходимости разрезать цепь ДНК, вырезать неправильный нуклеотид и репарировать разрыв.

Точность комплементарных взаимодействий от того, находятся ли пуриновые и пиримидиновые основания в благоприятной для спаривания таутомерной форме. Физические и химические факторы окружающей среды вызывают в ДНК повреждения 4 типов (табл.).

- I. *Затрагивающие единичные нуклеотиды*
 - А. Депуринизация
 - Б. Дезаминирование цитозина до урацила
 - В. Дезаминирование аденина до гипоксантина
 - Г. Алкилирование оснований
 - Д. Вставка или делеция нуклеотида
 - Е. Включение основания-аналога
- II. *Затрагивающие пару нуклеотидов*
 - А. УФ-индуцируемое образование тиминовых димеров
 - Б. Поперечные сшивки бифункциональным алкилирующим агентом
- III. *Разрывы цепей*
 - А. Ионизирующая радиация
 - Б. Радиоактивная дезинтеграция каркаса ДНК
- IV. *Поперечные сшивки*
 - А. Между основаниями одной цепи или разных цепей
 - Б. Между ДНК и молекулами белка (например, гистонами)

Реакции дезаминирования цитозина и превращение его в урацил, аденина в гипоксантин, гуанина в ксантин происходят значительно реже, чем депуринизация, и составляют 10 реакций на один геном в сутки. Исправление этого вида спонтанного повреждения происходит при участии ДНК-N-гликозилазы. Нерепарируемо и поэтому опасно дезаминирование метилированного цитозина. Продукт его спонтанного дезаминирования — тимин, нормальное для ДНК основание, которое не распознаётся ДНК-N-гликозилазой.

Индукцируемые повреждения возникают в ДНК в результате воздействия разнообразных мутагенных факторов как радиационной, так и химической природы. Под действием УФО двойная связь между C₅ и C₆ атомами углерода в составе пиримидиновых оснований (тимине и цитозине) может разрываться с образованием димеров. В зависимости от того, какие основания соединены в димер, их называют димерами тимина, цитозина или тимин-цитозиновыми димерами. Удаление пиримидиновых димеров происходит под действием **фотолиазы**.

Азотистые основания в ДНК могут подвергаться разнообразным повреждениям: алкилированию, окислению, восстановлению или связыванию основания с формамидными группировками. Репарация АП-сайта может происходить или только при участии ДНК-инсертазы, которая присоединяет к дезоксирибозе основание в соответствии с правилом комплементарности,

или при участии всего комплекса ферментов, участвующих в репарации: АП-эндонуклеазы, АП-экзонуклеазы, ДНК-полимеразы ρ и ДНК-лигазы.

Репарация необходима для сохранения нативной структуры генетического материала на протяжении всей жизни организма. Снижение активности ферментов репарационных систем приводит к накоплению повреждений (мутаций) в ДНК. Причиной многих наследственных болезней человека выступает нарушение отдельных этапов процесса репарации. **При пигментной ксеродермии** в системе репарации снижена активность ферментов, ответственных за удаление неправильных оснований, «застройку» бреши и другие функции. Дефект репарационной системы проявляется в сверхчувствительности к УФ-свету, что приводит к появлению красных пятен на коже, переходящих в незаживающие коросты и нередко в рак кожи. **Трихотиодистрофия** связана с повышенной фоточувствительностью ДНК, вызванной снижением активности фермента, участвующего в удалении димеров тимина. Симптомы заболевания: ломкость волос вследствие нехватки серы в белках волос и их луковиц; часто умственная и физическая отсталость; аномалии кожи и зубов. При атаксии-телеангиэктазии повышена чувствительность к рентгеновскому облучению, у больных с анемией Фанкони нарушена система репарации поперечных сшивков. Все они характеризуются повышенной частотой развития злокачественных новообразований.

Взаимосвязь репликации с фазами клеточного деления

Процессы роста и деления клеток лежат в основе жизни любого организма. Но прежде чем совершить деление, клетка должна с высокой точностью копировать свой геном, синтезировать множество высоко- и низкомолекулярных соединений. Совокупность событий, обеспечивающих деление эукариотических клеток, называют **«клеточный цикл»**. Продолжительность клеточного цикла зависит от типа делящихся клеток, у взрослого человека она может варьировать примерно от 8 ч и более,

а для некоторых типов клеток до года и больше. Все фазы клеточного цикла G_1 , S, G_2 , M могут различаться по длительности, но в особенности это касается фазы G_1 , длительность которой может быть равна практически нулю или быть столь продолжительной, что может казаться, будто клетки вообще прекратили деление. В этом случае говорят, что клетки находятся в состоянии покоя (фаза G_0). Так, нейроны взрослого человека не делятся вообще. Клетки эпителия кишечника делятся на протяжении всей жизни человека, но даже у этих быстропролиферирующих клеток подготовка к делению занимает 24 ч. Клетки лёгких, почек, печени во взрослом организме начинают делиться только лишь в ответ на повреждение органов.

Внешние сигналы могут стимулировать или ингибировать прохождение клетки через цикл. Такими сигналами могут быть факторы роста, интерлейкины, гормоны, способные поддерживать или индуцировать пролиферацию определённых типов клеток. Сигнальные молекулы связываются специфическими мембранными рецепторами, активируют внутриклеточные пути передачи сигналов от рецептора к ядру и таким образом индуцируют транскрипцию определённых генов. Одними из первых активируются гены, кодирующие белки **циклины**.

Все циклины делят на 2 подсемейства: **G1-циклины** (D, E) и митотические циклины (A и B). Циклинзависимые киназы, связывая циклин, переходят в активную форму и могут фосфорилировать специфические белки (факторы транскрипции, белки-ингибиторы факторов транскрипции), которые регулируют синтез ферментов, обеспечивающих репликацию. Синтез каждого циклина начинается при подготовке к соответствующей фазе клеточного цикла, его концентрация в клетке повышается, а после окончания фазы резко падает до нуля. Завершившие свою работу комплексы циклинов и CDK связываются специфическими белками, ингибирующими их активность, и затем подвергаются разрушению.

Циклин	Киназа	Функция
D, E	CDK4, CDK6	Регулирует переход клетки из G ₁ -фазы в S-фазу
A	CDK2	Активирует синтез ДНК на начальной стадии S-фазы
B	CDK1	Регулирует переход клетки из G ₂ -фазы в M-фазу

Глава 2.

СИНТЕЗ И ПРОЦЕССИНГ РНК

Молекулярные основы транскрипции

Транскрипция — первая стадия реализации генетической информации в клетке. В ходе процесса образуются молекулы мРНК, служащие матрицей для синтеза белков, а также транспортные, рибосомальные и другие виды молекул РНК, выполняющие структурные, адапторные и каталитические функции. Транскрипция у эукариотов происходит в ядре. В основе механизма транскрипции лежит тот же структурный принцип комплементарного спаривания оснований в молекуле РНК (G=C и T=A). ДНК служит только

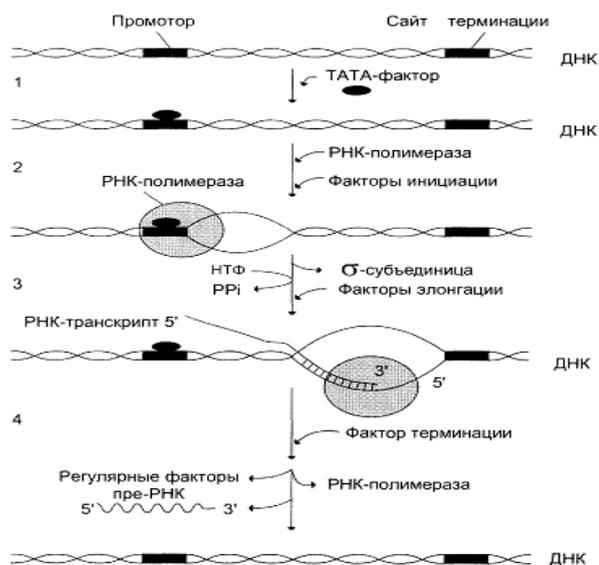
матрицей и в ходе транскрипции не изменяется. Рибонуклеозидтрифосфаты (ЦТФ, ГТФ, АТФ, УТФ) — субстраты и источники энергии, необходимые для протекания полимеразной реакции, образования 3',5'-фосфодиэфирной связи между рибонуклеозидмонофосфатами.

Синтез молекул РНК начинается в определённых последовательностях (сайтах) ДНК, которые называют **промоторы**, и завершается в терминирующих участках (**сайты терминации**). Участок ДНК, ограниченный промотором и сайтом терминации, представляет собой единицу транскрипции — **транскриптон**. В каждом транскриптоне присутствует неинформативная зона; она содержит специфические последовательности нуклеотидов, с которыми взаимодействуют регуляторные транскрипционные факторы. Это белки ускоряющие или замедляющие процесс транскрипции. Соотношение информативной и неинформативной частей в транскриптонах эукариотов составляет в среднем 1:9 (у прокариотов 9:1). В каждом транскриптоне транскрибируется только одна из двух цепей ДНК, которая называется **матричной**, вторая, комплементарная ей цепь, называется **кодирующей**. Синтез цепи РНК идёт от 5'- к 3'-концу, при этом матричная цепь ДНК всегда антипараллельна синтезируемой нуклеиновой кислоте. Транскрипция не связана с фазами клеточного цикла; она может ускоряться и замедляться в зависимости от потребности клетки или организма в определённом белке.

Биосинтез РНК осуществляется ДНК-зависимыми РНК-полимеразами. В ядрах эукариотов обнаружены 3 специализированные РНК-полимеразы: РНК-полимераза I, синтезирующая пре-рРНК; РНК-полимераза II, ответственная за синтез пре-мРНК; РНК-полимераза III, синтезирующая пре-тРНК. РНК-полимеразы — олигомерные ферменты, состоящие из нескольких субъединиц — 2α , 2β , δ .

В процессе транскрипции различают 3 стадии: инициацию, элонгацию и терминацию. Активация промотора происходит с помощью большого белка — **ТАТА-фактора**. Присоединение его облегчает взаимодействие

промотора с РНК-полимеразой. Факторы инициации вызывают изменение конформации РНК-полимеразы и обеспечивают раскручивание примерно одного витка спирали ДНК, т.е. образуется **транскрипционная вилка**, в которой матрица доступна для инициации синтеза цепи РНК.



После того как синтезирован олигонуклеотид из 8-10 нуклеотидных остатков, δ -субъединица отделяется от РНК-полимеразы, а вместо неё к молекуле фермента присоединяются несколько факторов элонгации. Они повышают активность РНК-полимеразы и облегчают расхождение цепей ДНК. Синтез молекулы РНК идёт от 5'- к 3'-концу комплементарно матричной цепи ДНК. На стадии элонгации, в области транскрипционной вилки, одновременно разделены примерно 18 нуклеотидных пар ДНК. Растущий конец цепи РНК образует временную гибридную спираль, около 12 пар нуклеотидных остатков, с матричной цепью ДНК. По мере продвижения РНК-полимеразы по матрице в направлении от 3'- к 5'-концу впереди неё происходит расхождение, а позади — восстановление двойной спирали ДНК. Раскручивание двойной спирали ДНК в области сайта терминации делает его доступным для фактора терминации. Завершается синтез РНК встрогих определённых участках матрицы — терминаторах (сайты терминации). Фактор терминации облегчает отделение первичного

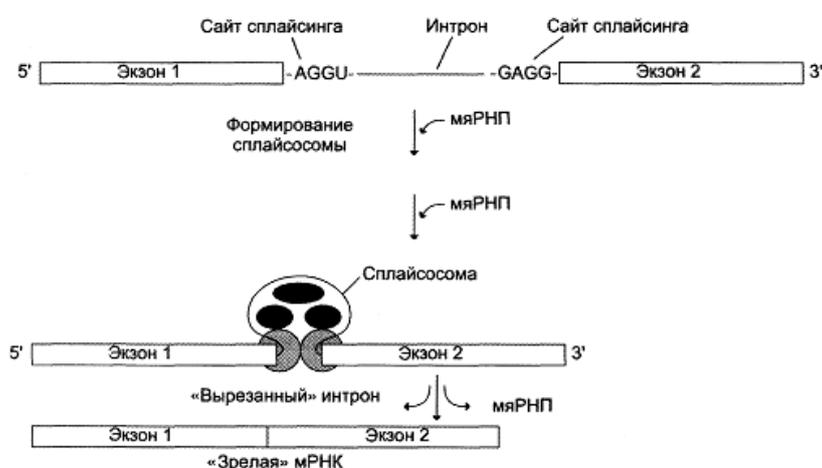
транскрипта(пре-мРНК), комплементарного матрице, и РНК-полимеразы от матрицы. РНК-полимераза может вступить в следующий цикл транскрипции после присоединения субъединицы α .

Первичные транскрипты мРНК, прежде чем будут использованы в ходе синтеза белка, подвергаются ряду ковалентных модификаций. Эти модификации необходимы для функционирования мРНК в качестве матрицы. Модификации пре-мРНК начинаются на стадии элонгации. Когда длина первичного транскрипта достигает примерно 30 нуклеотидных остатков, происходит кэпирование его 5'-конца. Осуществляет кэпирование гуанилилтрансфераза и ГТФ с образованием 5',5'-фосфодиэфирной связи. Последующее метилирование остатка гуанина в составе ГТФ с образованием N⁷-метилгуанозина завершает формирование кэпа. Модифицированный 5'-конец обеспечивает инициацию трансляции, удлиняет время жизни мРНК, защищая её от действия 5'-экзонуклеаз в цитоплазме. Кэпирование необходимо для инициации синтеза белка, так как иницирующие триплеты AUG, GUG распознаются рибосомой только если присутствует кэп. Наличие кэпа также необходимо для работы сложной ферментной системы, обеспечивающей удаление интронов.

3'-конец большинства транскриптов, синтезированных РНК-полимеразой II, также подвергается модификации, при которой специальным ферментом полиА-полимеразой формируется полиА-последовательность (полиА-«хвост»), состоящая из 100—200 остатков адениловой кислоты. Сигналом к началу полиаденилирования является последовательность - AAUAAA- на растущей цепи РНК. Наличие полиА-последовательности на 3'-конце облегчает выход мРНК из ядра и замедляет её гидролиз в цитоплазме.

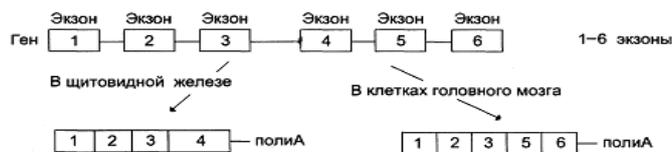
Первичный транскрипт — строго комплементарная матрице нуклеиновая кислота (пре-мРНК), содержащая как экзоны, так и интроны. Длина интронов варьирует от 80 до 1000 нуклеотидов. Процесс «вырезания» интронов протекает при участии малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП). Нуклеотидные последовательности интронов функционально

неактивны. Но на 5'- и 3'-концах они имеют высокоспецифические последовательности — AGGU- и GAGG- соответственно (сайты сплайсинга), которые обеспечивают их удаление из молекулы пре-мРНК. На первой стадии процесса мяРНК связываются со специфическими последовательностями первичного транскрипта (сайты сплайсинга), далее к ним присоединяются другие мяРНК. При формировании структуры сплайсосомы 3'-конец одного экзона сближается с 5'-концом следующего экзона. Сплайсома катализирует реакцию расщепления 3',5'-фосфодиэфирной связи на границе экзона с нитроном. Последовательность интрона удаляется, а два экзона соединяются. Образование 3',5'-фосфодиэфирной связи между двумя экзонами катализируют мяРНК, входящие в структуру сплайсосомы. В результате сплайсинга из первичных транскриптов мРНК образуются молекулы «зрелой» мРНК.



Для некоторых генов описаны альтернативные пути сплайсинга и полиаденилирования одного и того же транскрипта. Экзон одного варианта сплайсинга может оказаться интроном в альтернативном пути, поэтому молекулы мРНК, образованные в результате альтернативного сплайсинга, различаются набором экзонов. Это приводит к образованию разных мРНК и, соответственно, разных белков с одного первичного транскрипта. Так, в парафолликулярных клетках щитовидной железы в ходе транскрипции гена

гормона кальцитонина образуется первичный транскрипт мРНК, который состоит из шести экзонов. Матричная РНК кальцитонина образуется путём сплайсинга первых четырёх экзонов (1-4). Последний (четвёртый) экзон содержит сигнал полиаденилирования (последовательность -AAUAAA-), узнаваемый полиА-полимеразой в парафолликулярных клетках щитовидной железы. Этот же первичный транскрипт в клетках головного мозга в ходе другого (альтернативного) пути сплайсинга превращается в мРНК кальцитонинподобного белка, отвечающего за вкусовое восприятие. Матричная РНК этого белка состоит из первых трёх экзонов, общих с кальцитониновой мРНК, но включает дополнительно пятый и шестой экзоны, не свойственные мРНК кальцитонина. Шестой экзон тоже имеет сигнал полиаденилирования -AAUAAA-, узнаваемый ферментом полиА-полимеразой в клетках нервной ткани.

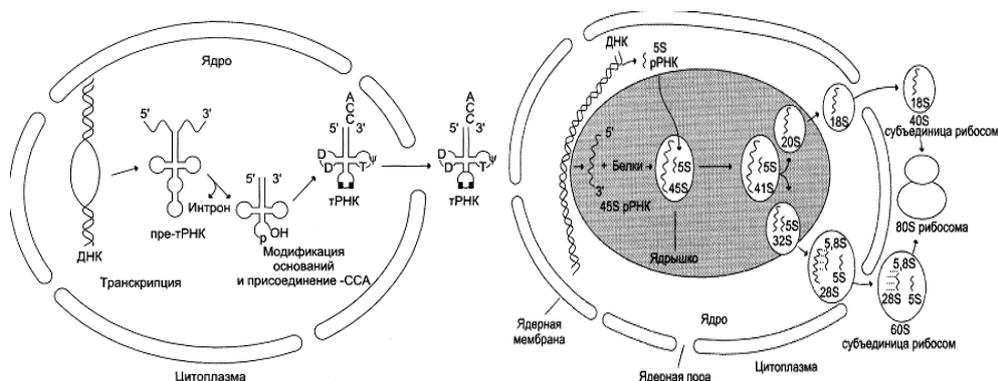


Выбор одного из путей (альтернативный сплайсинг) и одного из возможных сайтов полиаденилирования играет важную роль в тканеспецифической экспрессии генов. Разные варианты сплайсинга могут приводить к образованию разных изоформ одного и того же белка. Например, ген тропонина состоит из 18 экзонов и кодирует многочисленные изоформы этого мышечного белка. Разные изоформы тропонина образуются в разных тканях на определённых стадиях их развития.

Гены, кодирующие большую часть структурных РНК, транскрибируются РНК-полимеразами I и III. Нуклеиновые кислоты — предшественники рРНК и тРНК — подвергаются в ядре расщеплению и химической модификации (процессингу).

Первичный транскрипт тРНК содержит около 100 нуклеотидов, а после процессинга — 70—90 нуклеотидных остатков. Посттранскрипционные

модификации первичных транскриптов тРНК происходят при участии РНК-аз (**рибонуклеаз**). Так, формирование 3'-конца тРНК катализирует РНК-аза, представляющая собой 3'-экзонуклеазу, «отрезающую» по одному нуклеотиду, пока не достигнет последовательности **-ССА**, одинаковой для всех тРНК. Пре-тРНК содержит всего один интрон, состоящий из 14—16 нуклеотидов. Удаление интрона и сплайсинг приводят к формированию «антикодона».



В клетках человека содержится около сотни копий гена рРНК, локализованных группами на пяти хромосомах. Гены рРНК транскрибируются РНК-полимеразой I с образованием идентичных транскриптов. Первичные транскрипты имеют длину около 13000 нуклеотидных остатков (45SpРНК). Она подвергается процессингу, в результате образуется 28SpРНК (около 5000 нуклеотидов), 18SpРНК (около 2000 нуклеотидов) и 5,8SpРНК (около 160 нуклеотидов), которые являются компонентами рибосом.

ГЛАВА 3

СИНТЕЗ БЕЛКА И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

Белки играют центральную роль в процессах жизнедеятельности клеток. Примером служат ферменты и в формировании клеточных структур. Анализ содержания в крови определенных белков и ферментов широко используются в диагностических целях. Открытие генетического кода позволило ответить на вопрос о том, как связаны между собой дефекты определенных белков человека и наследственные заболевания. Поэтому знание синтеза белка необходимо для практики врача общего профиля.

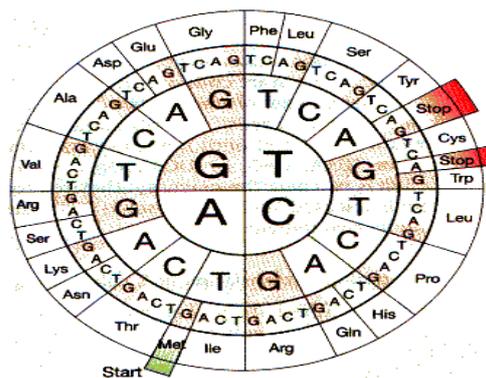
1. Генетический код и его состав.

Перевод информации, заключённой в полинуклеотидной последовательности мРНК, в аминокислотную последовательность белка требует определённого способа кодирования, т.е. существования определённого закона, по которому чередование четырёх нуклеотидов в мРНК задаёт специфическую последовательность аминокислот в белке. Необходимость кодирования структуры белков в линейной последовательности нуклеотидов мРНК и ДНК основана на том, что в ходе трансляции:

- нет соответствия между числом мономеров в матрице мРНК и продукте — синтезируемом белке;
- отсутствует структурное сходство между мономерами РНК и белка.

Это исключает комплементарное взаимодействие между матрицей и продуктом — принцип, по которому осуществляется построение новых молекул ДНК и РНК в ходе репликации и транскрипции. Значит, должен существовать «словарь», позволяющий выяснить, какая последовательность нуклеотидов мРНК обеспечивает включение в белок аминокислот в заданной последовательности. Этот «словарь» получил название генетического, биологического, нуклеотидного, или аминокислотного кода. Он позволяет шифровать аминокислоты, входящие в состав белков, с помощью определённой последовательности нуклеотидов в ДНК и мРНК. Для него характерны определённые свойства.

Генетический код



Триплетность. Одним из основных вопросов при выяснении свойств кода был вопрос о числе нуклеотидов, которое должно определять включение в белок одной аминокислоты. Понятно, что число не может быть равным 1 или 2, так как в этом случае количество кодирующих элементов будет недостаточным для шифрования 20 аминокислот в белках. Число кодирующих последовательностей из четырёх нуклеотидов по три равно $4^3=64$, что более чем в 3 раза превышает минимальное количество, которое необходимо для кодирования 20 аминокислот. Дальнейшие экспериментальные исследования показали, что кодирующими элементами в

шифровании аминокислотной последовательности действительно являются тройки нуклеотидов, или **триплеты**, которые получили название «**кодоны**».

Смысл кодонов. Смысл кодонов стал понятен в 60-х г. XX столетия, когда, используя бесклеточную систему синтеза белков и синтетические полирибонуклеотиды с заданной последовательностью нуклеотидов в качестве матрицы, М. Ниренберг и Г. Маттеи синтезировали полипептиды определённого строения. Так, на матрице поли-У, состоящей только из остатков УМФ, был получен полифенилаланин, а на матрице поли-Ц — полипролин. Из этого следовало, что триплет -УУУ кодирует Фен, а триплет -ССС — Про. В последующих экспериментах удалось установить, что из 64 кодонов включение аминокислот в синтезирующуюся полипептидную цепь шифрует 61 триплет, а 3 остальных — **УАА, УАГ, УГА** не кодируют включение в белок аминокислот и первоначально были названы бессмысленными, или нонсенс-кодонами. Однако оказалось, что эти триплеты сигнализируют о завершении трансляции, и поэтому их стали называть терминирующими, или стоп-кодонами.

Специфичность. Каждому кодону соответствует только одна определённая аминокислота. В этом смысле генетический код строго однозначен.

Вырожденность. В мРНК и ДНК имеет смысл 61 триплет, каждый из которых кодирует включение в белок одной из 20 аминокислот. Из этого следует, что в информационных молекулах включение в белок одной и той же аминокислоты определяют несколько кодонов. Это свойство биологического кода получило название вырожденности. Избыточность кодирующих последовательностей повышает устойчивость информационного потока к неблагоприятным воздействиям внешней и внутренней среды. При определении природы аминокислоты, которая должна быть включена в белок, третий нуклеотид в кодоне не имеет столь важного значения, как первые два.

Линейность записи информации. В ходе трансляции кодоны мРНК «читаются» с фиксированной стартовой точки последовательно и не перекрываются. В записи информации отсутствуют сигналы, указывающие на конец одного код, она и начало следующего. Кодон AUG является иницирующим и прочитывается как в начале, так и в других участках мРНК как Met. Следующие за ним триплеты читаются последовательно без каких-либо пропусков вплоть до стоп-кодона, на котором синтез полипептидной цепи завершается.

Универсальность. До недавнего времени считалось, что код абсолютно универсален, т.е. смысл кодовых слов одинаков для всех изученных организмов: вирусов, бактерий, растений, земноводных, млекопитающих, включая человека. Однако позднее стало известно одно исключение, оказалось, что митохондриальная мРНК содержит 4 триплета, имеющих другое значение, чем в мРНК ядерного происхождения. Так, в мРНК митохондрий триплет UGA кодирует Три, AUA — Met, а AGA и AGG прочитываются как дополнительные стоп-кодоны.

Коллинеарность гена и продукта. У прокариотов обнаружено линейное соответствие последовательности кодонов гена и последовательности аминокислот в белковом продукте, или, как говорят, существует коллинеарность гена и продукта. У эукариотов последовательности оснований в гене, коллинеарные аминокислотной последовательности в белке, прерываются интронами. Поэтому в эукариотических клетках аминокислотная последовательность белка коллинеарна последовательности экзонов в гене или зрелой мРНК после посттранскрипционного удаления интронов.

2. Стадии биосинтеза белка.

Для синтеза полипептидной цепи необходимо большое количество компонентов, совместное и согласованное взаимодействие которых приводит к образованию белка.

Необходимые	Функции
1. Аминокислоты	Субстраты для синтеза белков

2. тРНК	тРНК выполняют функцию адапторов. Они акцепторным концом взаимодействуют с
3. Аминоацил-тРНК синтетазы	аминокислотами, а антикодоном — с кодоном Каждая aa-тРНК-синтетаза катализирует реакцию специфического связывания одной из 20
4. мРНК	Матрица содержит линейную последовательность кодонов, определяющих первичную структуру
5. Рибосомы	Рибонуклеопротеиновые субклеточные структуры, являющиеся местом синтеза белков
6. АТФ, ГТФ	Источники энергии
7. Белковые факторы	Специфические вне ribосомные белки, необходимые для процесса
инициации, элонгации, терминации	трансляции (12 факторов инициации: eIF; 2 фактора элонгации: eEF1, eEF2 и факторы терминации:
8. Ионы магния	Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом

Синтез белка на рибосоме включают этапы: инициации, элонгации и терминации.

3. Адапторная функция тРНК.

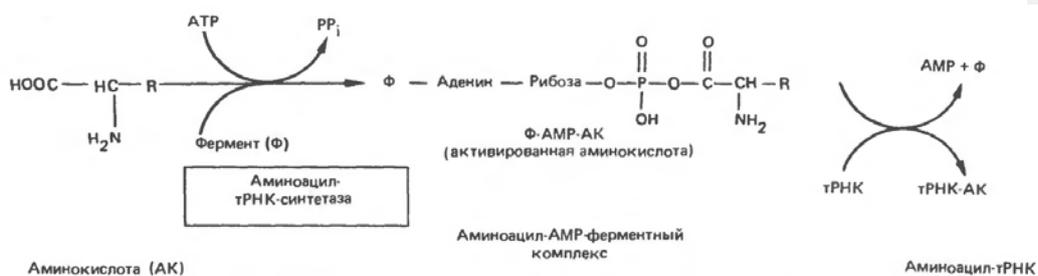
тРНК называют «адапторные молекулы», так как к акцепторному концу этих молекул может быть присоединена определённая аминокислота, а с помощью антикодона они узнают специфический кодон на мРНК. В процессе синтеза белка на рибосоме связывание антикодонов тРНК с кодонами мРНК происходит по принципу комплементарности и антипараллельности. Однако оказалось, что число тРНК для каждой аминокислоты не совпадает с числом кодирующих её кодонов в мРНК, и, следовательно, некоторые тРНК способны связываться больше чем с одним кодоном. Исследование этого вопроса позволило установить следующее:

- первые два основания кодона и последние два основания антикодона образуют обычные прочные пары (гуанин-цитозин и аденин-урацил) и вносят наибольший вклад в специфичность декодирования;

- связывание третьего основания кодона с первым основанием антикодона происходит слабее, чем с первыми двумя, и это позволяет некоторым тРНК прочитывать больше чем один кодон. Так, например, одна из аргининовых тРНК имеет антикодон 5'-1-C-C-3', который может узнавать 3 разных аргининовых кодона:

В цитозоле клеток 20 различных аминокислот присоединяются а-карбоксильной группой к 3'-гидроксильному акцепторному концу соответствующих тРНК с образованием сложноэфирной связи. Эти реакции катализирует семейство ферментов, носящее название аминоацил-тРНК синтетаз (aa-тРНК-синтетаз). Каждый член этого семейства узнаёт только одну определённую аминокислоту и те тРНК, которые способны связываться с этой аминокислотой. Из этого следует, что в группу тРНК-синтетаз входит 20 различных ферментов.

Они осуществляют активацию аминокислот в 2 стадии: на первой стадии аминокислота присоединяется к ферменту и реагирует с АТФ с образованием богатого энергией промежуточного соединения — аминоацил-АМФ. На второй стадии аминоацильный остаток аминоациладенилата, оставаясь связанным с ферментом, взаимодействует с молекулой соответствующей тРНК с образованием аминоацил-тРНК.



Суммарно эту реакцию можно написать следующим образом:



Чрезвычайно высокая специфичность aa-тРНК-синтетаз в связывании аминокислоты с соответствующими тРНК лежит в основе точности

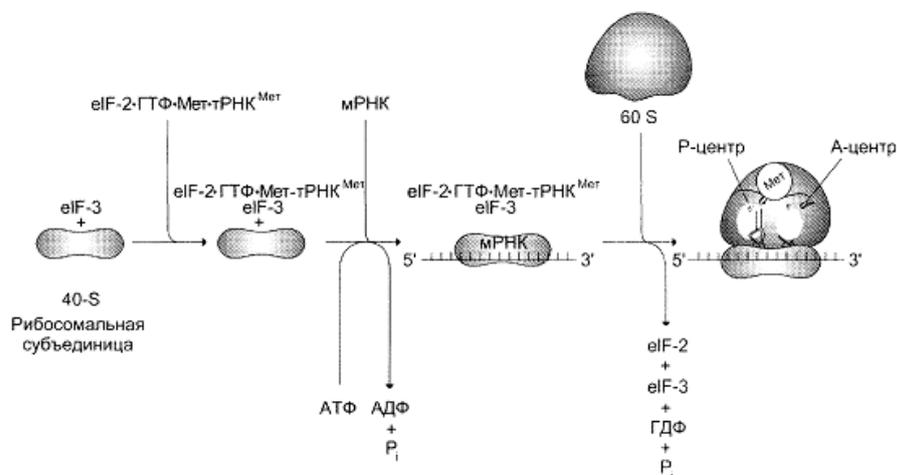
трансляции генетической информации. В активном центре этих ферментов есть 4 специфических участка для узнавания: аминокислоты, тРНК, АТФ и четвёртый — для присоединения молекулы H_2O , которая участвует в гидролизе неправильных аминоациладенилатов. За счёт существования в активном центре этих ферментов корректирующего механизма, обеспечивающего немедленное удаление ошибочно присоединённого аминокислотного остатка, достигается поразительно высокая точность работы: на 1300 связанных с тРНК аминокислот встречается только одна ошибка. Аминокислота, присоединяясь к тРНК, в дальнейшем не определяет специфических свойств aa-тРНК, так как её структуру не узнаёт ни рибосома, ни мРНК. Участие в синтезе белка зависит только от структуры тРНК, а точнее, от комплементарного взаимодействия антикодона аминоацил-тРНК с кодоном мРНК.

3. Трансляция.

В рибосоме есть 2 центра для присоединения молекул тРНК: аминоацильный (А) и пептидилный (Р) центры, в образовании которых участвуют обе субъединицы. Вместе центры А и Р включают участок мРНК, равный 2 кодонам. В ходе трансляции центр А связывает aa-тРНК, строение которой определяет кодон, находящийся в области этого центра. В структуре этого кодона зашифрована природа аминокислоты, которая будет включена в растущую полипептидную цепь. Центр Р занимает пептидил-тРНК, т.е. тРНК, связанная с пептидной цепочкой, которая уже синтезирована. В ходе синтеза белка прочтение информации мРНК идёт в направлении от 5'- к 3'-концу, обеспечивая синтез пептида от N- к С-концу. Каждая эукариотическая мРНК кодирует строение только одной полипептидной цепи (т.е. она моноцистронна), в отличие от прокариотических мРНК, которые часто содержат информацию о нескольких пептидах (т.е. они полицистронны). События на рибосоме включают этапы: инициации, элонгации и терминации.

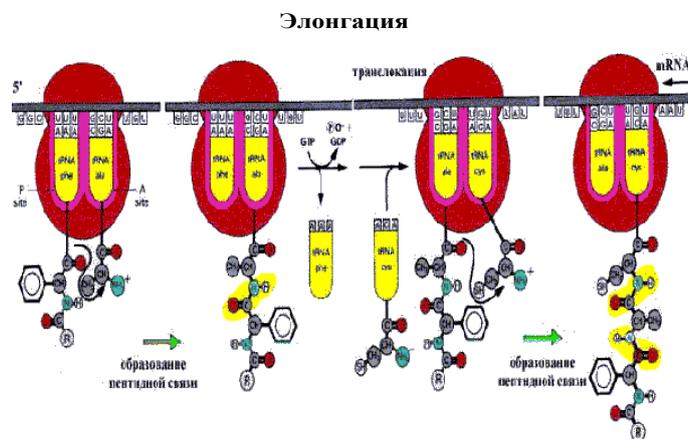
Инициация трансляции представляет собой событие, в ходе которого происходит образование комплекса, включающего $Met\text{-}tRNA^{Met}$, мРНК и

рибосому, где тРНК,^{Мет} — иницирующая метиониновая тРНК. В этом процессе участвуют не менее 10 факторов инициации, которые обозначают как eIF (*eukaryotic initiation factors*) с указанием номера и буквы. Первоначально 40S субъединица рибосомы соединяется с фактором инициации, который препятствует её связыванию с 60S субъединицей, но стимулирует объединение с тройным комплексом, включающим Met-тРНК^{Мет}, eIF-2 и ГТФ. Затем этот теперь уже более сложный комплекс связывается с 5'-концом мРНК при участии нескольких eIF. Один из факторов инициации (eIF-4) узнаёт и присоединяется к участку «кэп» на молекуле мРНК, поэтому он получил название кэпсвязывающего белка. Прикрепившись к мРНК, 40S субъединица начинает скользить по некодирующей части мРНК до тех пор, пока не достигнет иницирующего кодона AUG кодирующей нуклеотидной последовательности. Скольжение 40S субъединицы по мРНК сопровождается гидролизом АТФ, энергия которого затрачивается на преодоление участков спирализации в нетранслируемой части мРНК. Достигнув начала кодирующей последовательности мРНК, 40S субъединица останавливается и связывается с другими факторами инициации, ускоряющими присоединение 60S субъединицы и образование 80S рибосомы (иницирующего комплекса) за счёт гидролиза ГТФ до ГДФ и неорганического фосфата. При этом формируются А- и Р-центры рибосомы, причём в Р-центре оказывается AUG-кодон мРНК с присоединённой к нему Met-тРНК^{Мет}.



Элонгация. По завершении инициации рибосома располагается на мРНК таким образом, что в Р-центре находится иницирующий кодон AUG с присоединённой к нему Мет-тРНК^{Мет}, а в А-центре — триплет, кодирующий включение первой аминокислоты синтезируемого белка. Далее начинается самый продолжительный этап белкового синтеза — элонгация, в ходе которого рибосома с помощью аа-тРНК последовательно «читает» мРНК в виде триплетов нуклеотидов, следующих за иницирующим кодоном в направлении от 5' к 3'-концу, наращивая полипептидную цепочку за счёт последовательного присоединения аминокислот. Включение каждой аминокислоты в белок происходит в 3 стадии, в ходе которых:

- аа-тРНК каждой входящей в белок аминокислоты связывается с А-центром рибосомы;
- пептид от пептидил-тРНК, находящейся в Р-центре, присоединяется к αNH₂-группе аминоацильного остатка аа-тРНК А-центра с образованием новой пептидной связи;
- удлинённая на один аминокислотный остаток пептидил-тРНК перемещается из А-центра в Р-центр в результате транслокации рибосомы.

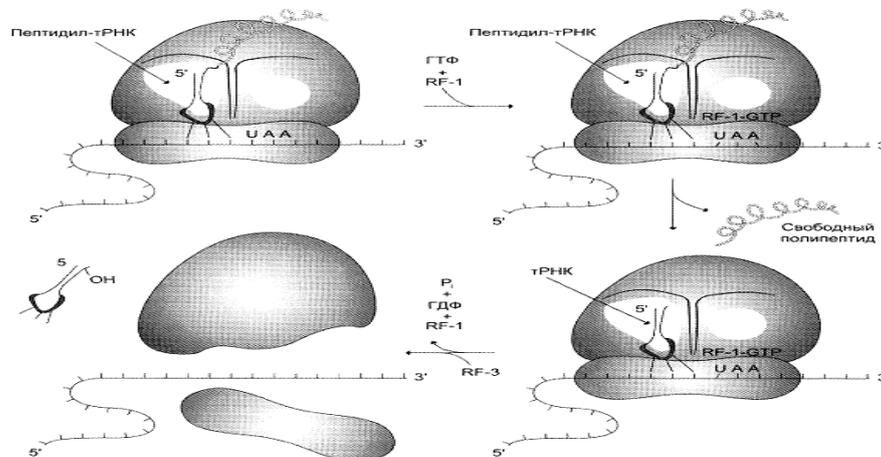


Связывание аминоацил-тРНК в А-центре. Кодон мРНК, располагающийся в А-центре рядом с иницирующим кодоном, определяет природу аа-тРНК^{аа}, которая будет включена в А-центр. аа-тРНК^{аа} взаимодействует с рибосомой в виде тройного комплекса, состоящего из фактора элонгации EF-1, аа-тРНК^{аа} и ГТФ. Комплекс эффективно взаимодействует с рибосомой лишь в том случае, если антикодон аа-тРНК^{аа} комплементарен и антипараллелен кодону мРНК в А-центре. Включение аа-тРНК^{аа} в рибосому происходит за счёт энергии гидролиза ГТФ до ГДФ и неорганического фосфата.

Образование пептидной связи происходит сразу же после отщепления комплекса EF-1 и ГДФ от рибосомы. Эта стадия процесса получила название реакции транспептидации. В ходе этой реакции остаток метионина Мет-тРНК^{мет} связывается с α-аминогруппой первой аминокислоты, присоединённой к тРНК^{аа} и расположенной в А-центре, образуется первая пептидная связь. Установлено, что пептидилтрансферазная активность большой субъединицы рибосомы принадлежит 28S рРНК. Транслокация — третья стадия элонгации. К рибосоме присоединяется фактор элонгации EF-2 и за счёт энергии ГТФ продвигает рибосому помРНК на один кодон к 3'-концу. В результате дипептидил-тРНК, которая не меняет своего положения относительно мРНК, из А-центра перемещается в Р-центр. Свободная от

метионина тРНК.^{Met} покидает рибосому, а в область А-центра попадает следующий кодон. По завершении третьей стадии элонгации рибосома в Р-центре имеет дипептидил-тРНК, а в А-центр попадает триплет, кодирующий включение в полипептидную цепь второй аминокислоты. Начинается следующий цикл стадии элонгации, в ходе которого на рибосоме снова проходят вышеописанные события. Повторение таких циклов по числу смысловых кодонов мРНК завершает весь этап элонгации.

Терминация. Терминация трансляции наступает в том случае, когда в А-центр рибосомы попадает один из стоп-кодонов: УАГ, УАА или УГА. Для стоп-кодонов нет соответствующих тРНК. Вместо этого к рибосоме присоединяются 2 белковых высвобождающих фактора RF (**фактор терминации**). Один из них с помощью пептидилтрансферазного центра катализирует гидролитическое отщепление синтезированного пептида от тРНК. Другой за счёт энергии гидролиза ГТФ вызывает диссоциацию рибосомы на субъединицы.



Интересно отметить, что факторы трансляции, реализующие эффекты за счёт гидролиза ГТФ, являются членами суперсемейства G-белков, в которое входят G-белки, участвующие в трансдукции сигналов гормонов и других биологически активных веществ, и Ras-белки, функционирующие как факторы роста. Когда они связаны с ГТФ, то активны и участвуют в соответствующих метаболических процессах, а когда в активном центре в

результате гидролиза ГТФ превращается в ГДФ, эти белки приобретают неактивную конформацию.

В процессе синтеза белка рибосома присоединяется к 5'-концу мРНК и перемещается в направлении 3'-конца. При этом 5'-конец мРНК освобождается, и к нему может присоединиться новая рибосома, на которой начинается рост ещё одной полипептидной цепи. Как правило, много рибосом одновременно участвует в синтезе белка на одной и той же мРНК, образуя комплекс, который называют полирибосомой, или полисомой. Каждая рибосома занимает на мРНК участок длиной около 80 нуклеотидов, поэтому рибосомы располагаются на мРНК с интервалом примерно в 100 нуклеотидов. Чем длиннее полипептидная цепочка синтезируемого белка, тем больше рибосом может одновременно осуществлять синтез этого белка, значительно увеличивая, таким образом эффективность использования матрицы. Каждая рибосома способна катализировать образование около 100 пептидных связей в минуту.

Следует отметить, что полисомы могут свободно плавать в цитоплазме клетки, они ответственны за синтез цитоплазматических белков. Полисомы шероховатого эндоплазматического ретикулама ответственны за синтез секреторных белков. Специфической особенностью их является наличие N-концевой лидерной последовательности аминокислот, состоящей из 15-30 аминокислотных остатков с гидрофобными радикалами, способствующими транспорту через липидный бислой мембраны.

ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ

Полипептидные цепи могут подвергаться структурным модификациям, либо будучи ещё связанными с рибосомами, либо после завершения синтеза. Эти конформационные и структурные изменения полипептидных цепей получили название посттрансляционных изменений. Они включают удаление части полипептидной цепи, ковалентное присоединение одного или нескольких низкомолекулярных лигандов, приобретение белком нативной конформации. Многие модификации осуществляются в ЭР. Здесь

происходят **фолдинг полипептидных цепей** и формирование уникальной третичной или четвертичной структуры белков. Причём для поддержания нативной конформации молекул огромное значение имеет правильное **формирование дисульфидных связей. Они включают: частичный протеолиз, ковалентную модификацию, фосфорилирование, гликозилирование.**

Частичный протеолиз. Многие белки, секретируемые из клеток, первоначально синтезируются в виде молекул-предшественников, функционально неактивных. Удаление части полипептидной цепи специфическими эндопротеазами приводит к образованию активных молекул. Некоторые белки-предшественники расщепляются в ЭР или аппарате Гольджи, другие — после секреции. Так, неактивные предшественники секретируемых ферментов — проферменты — образуют активный фермент после расщепления по определённым участкам молекулы: профермент панкреатической железы трипсиноген превращается в активный трипсин после секреции в тонкий кишечник. Наглядным примером последовательного двух-стадийного протеолиза служит образование активных форм пептидных гормонов (например, инсулина или глюкагона) из препрогормонов. Первоначально N-концевой сигнальный пептид молекулы-предшественника удаляется в ЭР в процессе синтеза белка, формируются дисульфидные мостики и образуется неактивный прогормон. Затем прогормон в секреторных гранулах, формирующихся в аппарате Гольджи, подвергается действию эндо- и/или экзопротеаз, отщепляется C-пептид и превращается в активный гормон. В кровь секретируется как инсулин, так и C-пептид.

Ковалентные модификации. Структурные белки и ферменты могут активироваться или инактивироваться в результате присоединения различных химических групп: фосфатных, ацильных, метальных, олигосахаридных и некоторых других.

Фосфорилирование белков осуществляется по гидроксильным группам серина, треонина, тирозина ферментами из группы протеинкиназ, тогда как дефосфорилирование катализируют гидролитические ферменты фосфопроteinфосфатазы. В частности, фосфорилирование гликогенфосфорилазы или триацилглицеридлипазы приводит к активации их, фосфорилирование гликоненсинтазы – в неактивный фермент.

Гликозилирование. Белки, входящие в состав плазматических мембран или секретирующиеся из клеток, подвергаются гликозилированию. Углеводные цепи присоединяются по гидроксильным группам серина или треонина (О-гликозилирование) либо аспарагина (N-гликозилирование). Последовательное наращивание углеводного фрагмента происходит в ЭР и аппарате Гольджи.

Многочисленным модификациям подвергаются боковые радикалы некоторых аминокислот: в тиреоглобулине йодируются остатки тирозина; в факторах свёртывания крови карбоксилируются остатки глутамата; в ЭР фибробластов гидрокселируются остатки пролина и лизина в цепях тропоколлагена.

ГЛАВА 4

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Регуляция биосинтеза белка, ингибиторы синтеза белков.

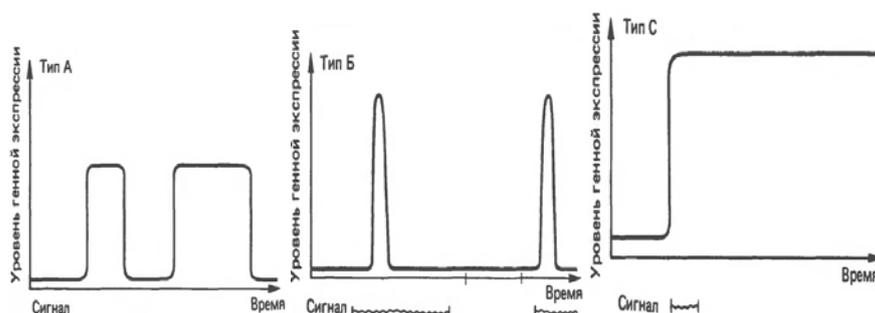
Организмы адаптируются к меняющимся условиям окружающей среды путём изменения экспрессии (скорости транскрипции) генов. Ясное представление об этих процессах может способствовать созданию соединений, ингибирующих функции или подавляющих развитие патогенных организмов. **Экспрессия генетической информации должна регулироваться в ходе онтогенеза организма и дифференцировки составляющих его клеток. Для того, чтобы организм мог приспосабливаться к изменяющимся условиям внешней среды, для экономии энергии и питательных веществ, система экспрессии генетической информации должна**

отвечать на внешние сигналы. В процессе эволюционного развития появились все более сложные механизмы, обеспечивающие необходимый уровень приспособления организма и его клеток к различным условиям. Учитывая, что клетки млекопитающих обладают в 1000 раз большим объемом генетической информации, чем прокариоты, можно предположить, что основная часть дополнительной информации необходима для регуляции экспрессии генов.

Существуют 2 типа регуляции экспрессии генов: позитивная и негативная (табл.). Если уровень экспрессии генетической информации количественно возрастает под действием специфических факторов (позитивные регуляторы), то говорят о позитивной регуляции. Если уровень экспрессии под воздействием регуляторных элементов понижается (негативные регуляторы), то говорят о негативной регуляции. В некоторых случаях можно получить позитивный эффект при двойном негативном воздействии, т.е. эффектор, ингибирующий действие негативного регулятора, оказывает в итоге позитивное регуляторное влияние. В частности, во многих регуляторных системах, функционирующих как индуцибельные, на молекулярном уровне, в действительности имеет место так называемая дерепрессия.

В биологических системах на регуляторный сигнал можно получить 3 различных видов ответа:

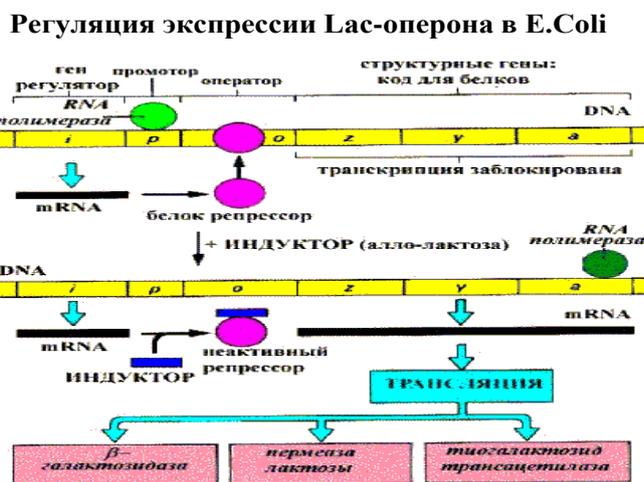
- повышенный уровень экспрессии генов при постоянном присутствии иницирующего сигнала (например, стероидные гормоны) (А тип);
- временное усиление экспрессии даже при постоянном присутствии регуляторного сигнала (ответ на воздействие ростовых факторов в процессе индивидуального развития организма) (Б тип);
- ответ реализуется как повышение уровня экспрессии гена в ответ на регуляторный сигнал, который сохраняется в течение продолжительного времени даже при отсутствии сигнала (триггерный механизм и является наследуемым изменением) (С тип).



Этот процесс, в деталях изученный на бактериях и вирусах, включает взаимодействие специфических белков с участками ДНК в непосредственной близости от стартового участка транскрипции. При этом может происходить включение или выключение транскрипции. Исследования на клетках *E. coli* позволили установить, что у бактерий существуют ферменты 3 типов: **конститутивные**, присутствующие в клетках в постоянных количествах независимо от метаболического состояния организма (например, ферменты гликолиза); **индуцируемые**, их концентрация в обычных условиях мала, но может возрасти в 1000 раз и более, если, например, в среду культивирования клеток добавить субстрат такого фермента; **репрессируемые**, т.е. ферменты метаболических путей, синтез которых прекращается при добавлении в среду выращивания конечного продукта этих путей. У прокариот существуют несколько типов регуляции: теория оперона и репрессия синтеза белков.

Теория оперона была предложена Франсуа Жакоб и Жак Моно в 1961 году на основании генетических исследований индукции L-галактозидазы, участвующей в клетках *E. coli*, в гидролитическом расщеплении лактозы. У *E. coli*, как и у других прокариотов, ДНК не отделена от цитоплазмы ядерной оболочкой. В процессе транскрипции образуются первичные транскрипты, не содержащие интронов, а мРНК лишены «кэпа» и поли-А-конца. Синтез белка начинается до того, как заканчивается синтез его матрицы, т.е. транскрипция и трансляция протекают почти одновременно. Исходя из размера генома (4×10^6 пар нуклеотидов), каждая клетка *E.*

colis содержит информацию о нескольких тысячах белков. Но при нормальных условиях роста она синтезирует около 600-800 различных белков, а это означает, что многие гены не транскрибируются, т.е. неактивны. Гены белков, функции которых в метаболических процессах тесно связаны, часто в геноме группируются вместе в структурные единицы (**опероны**). Согласно теории Жакоба и Моно, оперонами называют участки молекулы ДНК, которые содержат информацию о группе функционально взаимосвязанных структурных белков, и регуляторную зону, контролирующую транскрипцию этих генов. Транскрипция структурных генов зависит от способности РНК-полимеразы присоединиться к промотору, расположенному на 5'-конце оперона перед структурными генами. Связывание РНК-полимеразы с промотором зависит от присутствия белка-репрессора на смежном с промотором участке, который называют **«оператор»**. Белок-репрессор синтезируется в клетке с постоянной скоростью и имеет средство к операторному участку. Структурно участки промотора и оператора частично перекрываются, поэтому присоединение белка-репрессора к оператору создаёт стерическое препятствие для присоединения РНК-полимеразы.

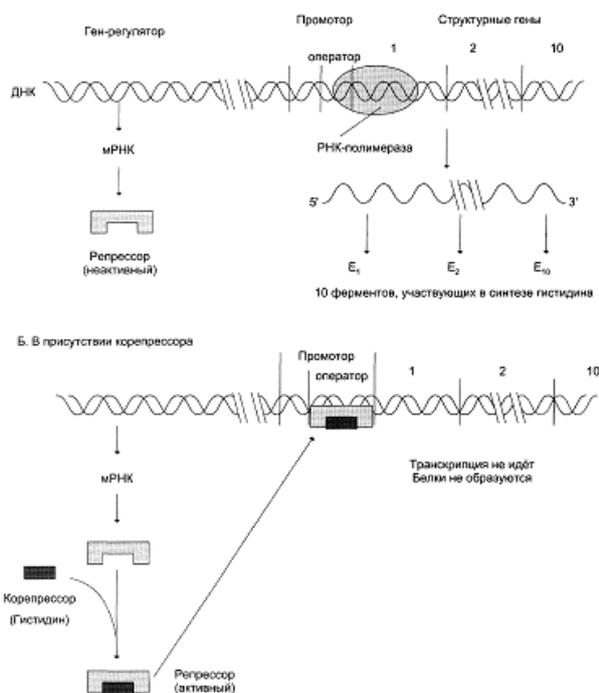


Теория оперона объясняет это явление следующим образом. В отсутствие индуктора (лактозы) белок-репрессор связан с оператором. А

поскольку участки оператора и промотора перекрываются, то присоединение репрессора к оператору препятствует связыванию РНК-полимеразы с промотором, и транскрипция структурных генов оперона не идёт. Когда в среде появляется индуктор, т.е. лактоза, то он присоединяется к белку-репрессору, изменяет его конформацию и снижает сродство к оператору. РНК-полимераза связывается с промотором и транскрибирует структурные гены.

Репрессия синтеза белков. Триптофановый и гистидиновый опероны. Снижение концентрации фермента в бактериальной клетке может осуществляться путём репрессии синтеза ферментов. Сущность этого механизма регуляции заключается в следующем: когда клетки *E. coli* растут на среде, содержащей в качестве единственного источника азота соль аммония, то им приходится синтезировать все азотсодержащие вещества. Такие клетки, в частности, должны содержать все ферменты, необходимые для синтеза 20 различных аминокислот. Однако если добавить в среду культивирования одну из аминокислот, например триптофан или гистидин, то клетка перестанет вырабатывать весь набор ферментов, необходимых для синтеза этих аминокислот из аммиака и источника углерода. Репрессия синтеза ферментов, катализирующих последовательность реакций метаболического пути конечным продуктом, как это имеет место в случае ферментов синтеза гистидина или триптофана, называется репрессией конечным продуктом. Это явление теория оперона объясняет следующим образом: при отсутствии в среде Гис или Три регуляторный белок-репрессор не имеет сродства к оператору и происходит синтез ферментов, осуществляющих образование этих аминокислот. Когда в среду добавляют, например, Гис, то эта небольшая молекула, получившая название «корепрессор», присоединяется к белку-репрессору. В результате конформационных изменений в молекуле репрессора комплекс белка-репрессора и корепрессора (Гис) приобретает сродство к оператору, присоединяется к нему, и транскрипция оперона прекращается, т.е.

прекращается считывание информации о строении 10 ферментов, участвующих в синтезе этой аминокислоты.



Следует иметь в виду, что репрессия и индукция синтеза белков у прокариотов реализуют принципы адаптации к меняющимся условиям существования и клеточной экономии: ферменты появляются в клетках, когда в них существует потребность, и перестают вырабатываться, если потребность исчезает.

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЭУКАРИОТОВ

Эукариотические организмы устроены значительно сложнее прокариотов и нуждаются в более сложном аппарате регуляции. Так, в организме человека имеется более 200 различных типов клеток, существенно различающихся по структуре и функциям. В то же время различными методами исследования ДНК доказано, что количество и структура ДНК практически всех клеток организма одинаковы (за исключением лимфоцитов), т.е. все клетки организма содержат один и тот же геном. У высших организмов по сравнению с прокариотическими существенно

возрастает содержание ДНК на гаплоидную клетку: с $4,2 \times 10^6$ пар нуклеотидов у *E. coli* до $3,3 \times 10^9$ пар нуклеотидов в клетках человека.

1. Организация хроматина в дифференцированных клетках многоклеточного организма

В клетках млекопитающих наряду с адаптивной регуляцией, обеспечивающей приспособление организма к меняющимся условиям внутренней и внешней среды, существуют механизмы, которые сохраняют стабильную (существующую на протяжении всей жизни клетки и даже многих её генераций) репрессию одних генов и депрессию других. В разных типах клеток в область эухроматина попадают разные гены, а это означает, что в разных тканях транскрибируются разные участки хроматина.

Стойкая репрессия генов гетерохроматина обеспечивается:

- пространственной укладкой ДНК, при которой гетерохроматин находится в высококонденсированном состоянии;
- метилированием дезоксицитидина ДНК-метилазами в 5'-CG-3' последовательностях ДНК. Эта модификация сильно меняет конформацию хроматина и препятствует активной транскрипции;
- связыванием с гистонами и образованием нуклеосом, которые также снижают транскрипционную активность ДНК.

Исследования показали, что **области эухроматина**, в которых расположены активно транскрибируемые гены, обладают некоторыми структурными особенностями:

- они более чувствительны к действию ДНК-аз, чем остальные участки ДНК;
- молекулы гистонов, связанные с ДНК в этих участках, модифицированы: ϵ -аминогруппа лизина метилирована или ацетилирована; метилированы некоторые остатки аргинина и гистидина в гистонах H2A и H2B, являющихся коровыми белками нуклеосом. Некоторые молекулы H2A образуют прочный комплекс с белком убиквитином. В гистоне H1 фосфорилируются остатки серина. Результат этой серии ковалентных

модификаций — снижение суммарного, положительного заряда гистонов и ослабление сродства нуклеосом к ДНК.

- к областям «активного» хроматина присоединяется группа негистоновых HMG-белков. Эти белки содержат много положительно заряженных аминокислотных остатков, связывание с которыми ослабляет взаимодействие ДНК и гистонов и вызывает дополнительное повышение транскрипционной активности генов.

Разнообразие клеток и возросшая сложность клеточных процессов нуждаются в большом разнообразии механизмов регуляции. Показано, что разный набор и количество белков в эукариотических клетках может регулироваться:

- изменением количества структурных генов;
- перестройкой генов в хромосомах;
- эффективностью транскрипции разных участков генома (энхансеры и сайленсеры);
- характером посттранскрипционных модификаций первичных транскриптов (альтернативный сплайлинг, редактирование РНК, изменение стабильности мРНК);
- на уровне трансляции (изменение скорости трансляции);
- с помощью посттрансляционных превращений вновь синтезированных полипептидных цепей (**различия в продолжительности жизни молекул белка**).

Изменение количества структурных генов могут проявляться амплификацией (увеличением) количества генов. Это проявляется когда возникает необходимость увеличения синтеза необходимого продукта гена, в частности гистоновые белки, тРНК и рРНК, так как 20% общего генома состоит из участков, кодирующих эти гены. Амплифицированные участки могут располагаться тандемно (друг за другом) в хромосоме или могут образовывать двойные мини-хромосомы (внехромосомные фрагменты ДНК). К таким генам можно отнести металлотioneины, которые вырабатывают

белки, способные связывать тяжёлые металлы и защищать клетки от отравления этими соединениями; ген дигидрофолатредуктазы и ген Р-гликопротеина, ответственный за синтез белка, обеспечивающего множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток. Другой формой данной регуляции является **утрата генетического материала**: потеря всех генов за счёт разрушения ядра ретикулоцитов в процессе созревания эритроцитов, либо в процессе созревания лимфоцитов и образования плазматических клеток.

Одним из видов регуляции генов является **«генетическая рекомбинация»**, т.е. перемещение генов между хромосомами или внутри хромосомы, объединение генов с образованием изменённой хромосомы, которая после таких структурных изменений способна к репликации и транскрипции. Она может наблюдаться в следующих случаях:

- при половом слиянии яйцеклетки и сперматозоида;
- при перемещении транспозонов (подвижных генетических элементов), в состав которых входят отдельные гены или группа генов, с исходной позиции в какое-либо другое место той же или другой хромосомы;
- при формировании в лимфоцитах «библиотеки» генов, кодирующих антитела или иммуноглобулины.

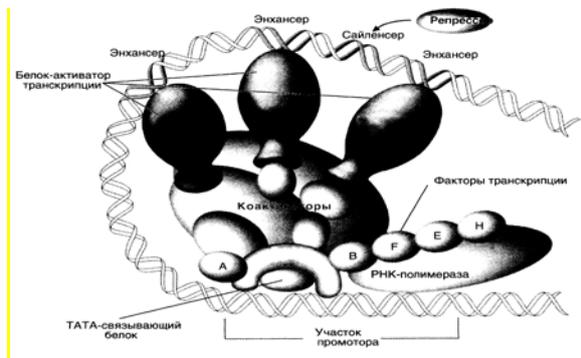
В организме человека образуются около 10 млн различных антител. **Антитела** с одинаковыми антигенсвязывающими свойствами синтезируются В-лимфоцитами. При попадании в организм любого антигена среди имеющегося набора В-лимфоцитов всегда найдётся такой клон клеток, антитела которого имеют комплементарный ему активный центр. Следует сказать, что активный центр антитела, встроенных в плазматическую мембрану В-лимфоцитов, находится на поверхности клеток. Взаимодействие антигена с активным центром антитела вызывает пролиферацию клеток и превращение В-лимфоцитов в плазматические клетки, способные осуществлять синтез и секрецию свободных антител. В основе их происхождения лежит ограниченное количество генов, способных

кодировать огромное многообразие белков иммунной системы. В процессе дифференцировки В-лимфоцита из зародышевой клетки происходит «вырезание» протяжённого участка генетического материала, обеспечивающее сближение V_L - и C_L -областей с образованием полного гена L-цепи иммуноглобулина. Этот процесс перестройки в геноме получил название соматической рекомбинации, он связан с созреванием лимфоцитов и не передаётся по наследству.

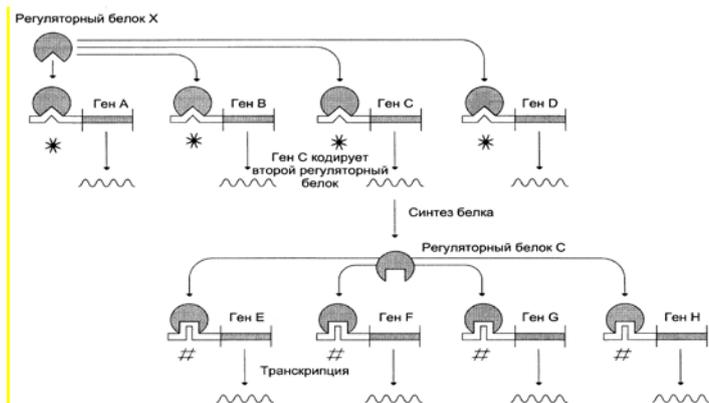
Описано 3 семейства генных фрагментов, кодирующих строение L- и H-цепей. Два семейства ответственны за синтез лёгких цепей: сегменты, кодирующие строение L-цепей типа λ , расположены в хромосоме 22, генетический материал L-цепей типа κ (каппа) — в хромосоме 2, а информация о всём разнообразии H-цепей локализована в хромосоме 14. Анализируя перестройки генетического материала в процессе формирования полных генов Ig можно сказать, что данный процесс протекает в несколько этапов и они приурочены к строго определённой стадии дифференцировки В-лимфоцитов. Из сегментов, которые кодируют различные участки полипептидной цепи, входящей в переменные домены, и одного из экзонов константного домена собираются полные гены тяжёлых и лёгких нитей Ig. Если сборка L-цепей включает одну соматическую рекомбинацию, то сборка H-цепей происходит с помощью двух соматических рекомбинаций. Когда В-лимфоциты синтезируют Ig не относящиеся к классу M, происходит ещё одна дополнительная рекомбинация. Таким образом, происходящие в зрелых В-лимфоцитах соматические мутации, определяют многообразие антител. Аналогичные процессы наблюдаются и в ходе дифференцировки T-лимфоцитов.

У млекопитающих экспрессия различных генов осуществляется в разное время и с различной интенсивностью. Установлено, что у эукариотов имеются гены транскрибирующиеся конститутивно (постоянно и во всех тканях: гены гликолиза, синтеза РНК и некоторых белков) и гены,

транскрибирующиеся только в специализированных клетках (тканеспецифическая экспрессия) или гены подвергающиеся адаптивной регуляции (индуцибельные). Как было отмечено ранее, экспрессия гена может происходить если к ТАТА-участок промотора связывается с ТАТА-специфическим белком, факторами транскрипции и РНК-полимеразой, образуя иницирующий комплекс, осуществляющий синтез небольшого количества мРНК. Это белки, имеющие один или несколько доменов, каждый из которых выполняет регуляторную роль. В частности, **ДНК-связывающие домены отвечают за узнавание** и связывание регуляторных факторов со специфическими участками на молекуле ДНК; **домены, активирующие транскрипцию - обеспечивают** связывание с транскрипционными факторами, коактиваторами и РНК-полимеразой; **антирепрессорные домены – способны** освободить транскрибируемые участки ДНК; **домены, связывающие лиганды - изменяют** конформацию и обеспечивает связывание их с молекулой ДНК. **Лигандами-индукторами могут служить стероидные гормоны, ретиноевая кислота, кальцитриол, гормоны щитовидной железы, а лигандами-репрессорами – конечные продукты метаболизма или другие гормоны.** Экспрессия конститутивных генов осуществляется через специфические сайты (боксы), находящиеся на расстоянии от транскрибирующего гена (на расстоянии 100-200 пар оснований). Именно конститутивно экспрессируемые гены нуждаются в этих элементах и поэтому они имеются во всех клетках. В генах, участвующих в адаптивной регуляции, обнаружены участки молекулы ДНК, удаленные от промотора на 1000 и более пар оснований. Они подразделяются на 2 типа: энхансеры и сайленсеры. энхансеры — это участки ДНК, состоящие из 10-20 пар оснований, при взаимодействии которых с регуляторными белками ускоряет транскрипцию, сайленсеры - участки ДНК, связывание которых с белками, обеспечивает замедление транскрипции.



Вместе с тем имеются *cis*-элементы – это общие для группы генов регуляторные последовательности ДНК. Она расположены выше промотора (на расстоянии 250 пар оснований). При этом один и тот же индуктор связывается с соответствующим регуляторным белком и активизирует большое количество различных генов. В этом случае белковый продукт этой группы генов может быть индуктором другой группы генов, определяя серию ответных реакций. К ним можно отнести гены, чувствительные стероидным гормонам, или гены белков теплового шока.



У млекопитающих одним из механизмов регуляции экспрессии генов является **посттранскрипционная модификация**. Она может протекать в виде **альтернативного сплайсинга**, редактирования и изменения стабильности РНК. Ярким примером альтернативного сплайсинга является синтез мембраносвязанных и секреторных форм антител. В-лимфоциты синтезируют первоначально полиаденилированные транскрипты после второго стоп-кодона, при этом интрон, содержащий первый стоп-кодон, удаляется. В результате синтезируются мембраносвязанный IgM. При превращении В-лимфоцитов в плазматические клетки образуется мРНК, с сохраненным интроном первого

стоп-кодона, обуславливая раннее полиаденилирование и исчезновение экзона, кодирующий гидрофобный участок молекулы. В результате синтезируются укороченные молекулы антител, секретируемые в кровь.

Описаны случаи изменения (редактирования) первичной структуры мРНК после транскрипции. В таких генах последовательность нуклеотидов в общем одинакова, тогда как транскрибируемой в разных тканях мРНК в результате замен, вставок или выпадений нуклеотидов появляются различия. Примером может быть образование апопротеина В в клетках печени (апо-В100) и тонкого кишечника (апо-В48). Апо-В100 содержит 4563 аминокислотных остатка, апо-В48 - 2152 аминокислот. Это связано с дезаминированием цитозина и превращением его в урацил в кодоне 2153, т.е. появлению стоп-кодон UAA, прекращению трансляции мРНК и синтезу укороченного белка (длина апо-В48 составляет 48% от длины белка синтезируемого печенью).

Период полужизни эукариотических мРНК колеблется от нескольких часов до нескольких дней, причем поли(А)-фрагмент на 3'-конце мРНК удлиняет продолжительность жизни молекул. Следовательно, стабильность молекул мРНК влияет на скорость трансляции. Например, стабильность мРНК-матриц для синтеза молекул гистонов сильно зависит от фазы клеточного цикла, т.е. в S-фазе гистоны постоянно синтезируются и используются для укладки вновь образованной ДНК в нуклеосомы (гистоновая мРНК в этот период стабильна в течение нескольких часов). После этого периода в клетках образуется небольшое количество гистонов, так как они не требуются для формирования нуклеосом и поэтому период полужизни составляет 10-15 мин.

По мнению различных авторов, изменение скорости образования белков на уровне трансляции не относит к основным способам регуляции количества и разнообразия белков, но все же играют определенную роль. Так, в частности регуляция синтеза белка в ретикулоцитах осуществляется только на уровне трансляции и зависит от содержания гема в клетке: при

увеличении содержания гемма синтез глобина ускоряется, и наоборот. Это связано с фосфорилированием фактора инициации 1P2 (неактивная форма). Высокая концентрация гема предотвращает фосфорилирование данного белка (активная форма).

К другим видам регуляции является присоединение белков к нетранслируемым участкам мРНК и, как следствие, ингибирование трансляции. В частности, присоединение ферритина к петле, локализованной на 5'-конце мРНК ферритина при низкой концентрации железа, трансляция данного белка замедляется. При повышении концентрации ионов железа в клетке Fe^{3+} взаимодействует с белком, изменяется его конформацию и сродство к мРНК, что приводит к освобождению мРНК от регуляторного белка и начинается синтез ферритина.

Период полужизни белка регулируется протеазами. Он колеблется от нескольких часов до нескольких месяцев или лет в зависимости от функциональной активности клетки. В частности, ферменты, катализирующие регуляторные реакции метаболических путей подвергаются быстрому расщеплению, скорость обновления их достаточно высока. На продолжительность жизни белков влияет также и физиологическое состояние организма, наличие дефектов в белковой молекуле. Кроме того, существует мощная система защиты, обеспечивающая быстрое расщепление дефектных белков. Распад белков может осуществляться как в лизосомах путем аутофагирования, так и в цитоплазме под действием протеаз и этот процесс протекает с участием присоединения убиквитинов.

ИНГИБИТОРЫ РЕПЛИКАЦИИ — ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ.

ЗНАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСНОВ ПЕРЕДАЧИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ ДАЛА МОЩНЫЙ ТОЛЧОК В РАЗВИТИИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ. БЫЛИ СОЗДАНЫ РАЗЛИЧНЫЕ ПРЕПАРАТЫ, **ингибирующие синтез ДНК, РНК** или белков. Они нашли широкое применение в медицине для лечения инфекционных и аутоиммунных заболеваний, опухолевых новообразований. Принцип их действия основан на модификации матриц: ДНК и РНК,

белоксинтезирующего аппарата или инактивации ферментов. Лидирующее место среди них занимают антибиотики, т.е. разнообразным по химическому строению органическим соединениям, синтезируемым микроорганизмами. Они способны в малых количествах оказывать избирательное токсическое действие на другие микроорганизмы.

В зависимости от механизма действия их можно разделить на следующие группы: интеркалирующие препараты, алкилирующие агенты, ингибиторы ДНК-топоизомеразы 11, ингибиторы транскрипции и трансляции, разрушающие структуру белков клеточной стенки бактерий. Препараты антибактериальной группы отличаются высокой избирательностью, малотоксичны для человека, так как в эукариотических и прокариотических клетках имеются определенные различия в структуре РНК-полимераз, РНК и белков рибосом.

Следует отметить, что генетический материал вирусов представлен небольшой молекулой ДНК или РНК и содержит информацию только о некоторых специфических белках и ферментах, которые необходимы для репродукции вируса. После заражения макроорганизма вирусами в инфицированных клетках с высокой скоростью начинается синтез вирусных ДНК, РНК и белков, прекращается синтез нуклеиновых кислот и белков, свойственных организму хозяина, что ведет к гибели заражённой клетки.

Рассмотрим каждый из групп антибиотиков.

Антибиотики, разрушающие матричную функцию. Эти антибиотики способны взаимодействовать с ДНК, нарушают её матричную функцию, приводят к подавлению процессов репликации и транскрипции. В основном их используют для лечения злокачественных новообразований, поэтому такие антибиотики называют противоопухолевыми препаратами. Для этих целей широкое применение нашли такие антибиотики, как дауномицин, доксорубин и другие. Особенности циклической структуры

этих антибиотиков позволяет взаимодействовать с молекулой ДНК, встраиваться («интеркалировать») между парами оснований G≡C. Это приводит к тому, углеводный компонент этих азотистых оснований занимает малую бороздку ДНК, локально изменяя структуры ДНК и ингибируя репликацию и транскрипцию. К этой группе также относится антибиотик актиномицин D. Он блокирует синтез ДНК и РНК у про- и эукариотов.

Противоопухолевые антибиотики не обладают высокой избирательной активностью. В основном их избирательность обеспечивается более высокой скоростью синтеза ДНК и РНК опухолевых клеток, повышенной проницаемостью их клеточных мембран. Эти соединения также токсичны для быстроделющихся нормальных клеток организма (стволовые клетки кроветворной системы, клетки слизистой оболочки желудка и кишечника, фолликулов волос), что приводит к их повреждению. В связи с этим создаются препараты связанные с белками, рецепторы к которым имеются в опухолевых клетках.

Антибиотики	Механизм действия
Ингибиторы репликации Дауномицин Доксорубицин Актиномицин D	Внедряются («интеркалируют») между парами оснований ДНК и нарушают репликацию и транскрипцию
Мелфалан	Алкилирует ДНК и нарушает репликацию
Номермицин Новобиоцин	Ингибируют ДНК-топоизомеразу II, ответственную за суперспирализацию ДНК, нарушают репликацию и транскрипцию
Ингибиторы транскрипции Рифамицины	Связываются с бактериальной РНК-полимеразой и препятствуют началу транскрипции
Ингибиторы трансляции Тетрациклины Левомецетин Эритромицин Стрептомицин	Ингибируют элонгацию: связываются с 30S субъединицей рибосомы и блокируют присоединение aa-тРНК в А-центр Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную активность Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует транслокацию Ингибирует инициацию трансляции. Связывается с 30S субъединицей рибосомы, вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК

Имеются препараты, ингибирующие репликацию и транскрипцию. К ним относятся алкилирующие агенты и ингибиторы ДНК-топоизомеразы

II (ингибиторы ДНК-гираз), например налидиксовая кислота, новобиоцин и номермицин. Ингибиторы матричных синтезов могут оказывать противобактериальное действие, например рифампицин, широко применяемый для лечения туберкулеза. Они ингибируют только бактериальную **ДНК-зависимую РНК-полимеразу**. **Механизм их действия** связан с β -субъединицей фермента и препятствуя инициации транскрипции и не влияют на работу ядерных РНК-полимераз эукариотических клеток.

К ингибиторам трансляции относятся такие антибиотики, как тетрациклины, эритромицин, пурамицин, хлорамфеникол и аминогликозиды. Аминогликозид **стрептомицин** ингибирует инициацию синтеза белка у прокариотов и вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК, поэтому широко применяются при лечении инфекционных заболеваний сердца (кардиты). **Тетрациклины обладают широким спектром действия**, связываются с 30S субъединицей рибосомы, что приводит к блокировке связывания аминоацил-тРНК в А-центр рибосомы, т.е. нарушается элонгация полипептидной цепи. **Левомецетин** (хлорамфеникол) также относится к антибиотикам широкого спектра действия, механизм его действия связан с 50S субъединицей рибосомы и подавляет пептидилтрансферазную активность. К группе β -лактамов относятся **пенициллины и цефалоспорины**, механизм их действия связан с ингибированием синтеза клеточных стенок у грамотрицательных микроорганизмов. В отличие от ингибиторов репликации и транскрипции, антибактериальные препараты обладают высокой избирательностью и меньшей токсичностью для человека, что связано с различиями в структуре РНК-полимераз, РНК и белков рибосом в эукариотических и прокариотических клетках.

Вирусы. Они подразделяются на ДНК- и РНК-содержащие вирусы. Геном их небольшой и содержит информацию специфических белков и ферментов, необходимых для репродукции вируса. После заражения клетки

организма хозяина с высокой скоростью начинается синтез специфичных вирусных ДНК, РНК и белков с использованием ферментов и белков, субстратов и источников энергии клетки хозяина. Это продолжается до полной гибели заражённой клетки.

Токсины. К ним относятся токсин бледной поганкой *Amanita phalloides* осаманитин, белок рицин, выделенный из клещевины обыкновенной. Токсичность α -аманитина для человека связана с ингибированием эукариотической РНК-полимеразы, особенно РНК-полимеразы II. Действие рицина связано с наличием N-гликозилазы, которая удаляет один остаток аденина из 28S рРНК большой субъединицы рибосомы и ингибирует синтез белка у эукариотов. Энтеротоксин возбудителя дифтерии *Corynebacterium diphtheriae* ингибирует синтез белков в клетках слизистой оболочки зева и гортани. В цитоплазме клеток хозяина под влиянием протеолитических ферментов токсин расщепляется на 2 фрагмента, один из которых является ферментом АДФ-рибозилтрансферазой и инактивирует фактор элонгации EF-2. Это приводит к нарушению транслокации рибосом, прекращению биосинтеза белков в инфицированных клетках и к их гибели, что и определяет основные симптомы дифтерии.

Интерфероны — небольшие белки (гликопротеины), состоящие примерно из 160 аминокислотных остатков и секретирующиеся клетками позвоночных в ответ на заражение вирусами в ничтожно малых количествах (от нанограммов, 10^{-9} г до пикограммов 10^{-12} г), препятствующие распространению вирусной инфекции. В концентрации 10^6 — 10^9 единиц антивирусной активности на 1 мг белка обладает очень высокой неспецифической противовирусной активностью. У человека В-лимфоцитами и макрофагами продуцируются α -интерфероны, они кодируются 14 генами. Фибробластами синтезируются β -интерфероны, которые кодируются 5 генами. Т-лимфоцитами экспрессируются γ -интерфероны, которые кодируются 1 геном. Интерфероны, связываясь с рецепторами на плазматической мембране заражённых клеток, стимулируют

синтез ферментов, способных разрушать мРНК вирусов и прекращать синтез белков на рибосомах, т.е. препятствуют экспрессии вирусных генов в клетках эукариотов. Механизм действия интерферонов связан: 1) ингибированием синтеза белков, необходимых для репликации вирусов; 2) стимуляцией синтеза фермента **олигонуклео-тидополимеразы**, катализирующего образование коротких олигоаденилатов, являющихся активаторами рибонуклеазы; 3) стимуляцией синтеза протеинкиназы, фосфорилированная форма которой инактивирует фактор инициации eIF2. В результате синтез всех белков в инфицированных клетках прекращается. Клетки погибают, но вместе с ними останавливается размножение вирусов, и начинается выздоровление. Таким образом, жертвуя небольшим количеством клеток, организм защищает себя от болезни. В настоящее время интерфероны получают промышленным путём с использованием генной технологии. Они применяются для лечения простуды, гриппа, полиомиелита, ветряной оспы, герпеса, вируса гепатита и других инфекций, а также гемобластозов.

ГЛАВА 5

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ

Точная работа процессов репликации, транскрипции и трансляции обеспечивает копирование генома и воспроизведение фенотипических характеристик организма в поколениях, т.е. наследственности. Однако биологическая эволюция и естественный отбор возможны только при наличии генетической изменчивости, естественно геном постоянно претерпевает разнообразные изменения под воздействием внешних и внутренних факторов, которые могут сохраниться в молекуле ДНК несмотря на эффективную работу механизмов репарации. Изменения в последовательности пуриновых или пиримидиновых оснований в гене, не исправленные ферментами репарации, получили название «мутации». Они могут появляться как в соматических клетках, а другие могут обнаруживаться в половых клетках, передаваться по наследству и проявляться в фенотипе потомства как наследственная болезнь.

Основной вклад в генетическую изменчивость вносят перестройки хромосом в процессе мейоза при слиянии яйцеклетки со сперматозоидом у

эукариотов. Это сопровождается генетическими рекомбинациями, т.е. обмена участками ДНК между гомологичными хромосомами (перемещение из одного места хромосомы в другое), обуславливая новой комбинации генов у потомства. Передвигающиеся фрагменты ДНК называются ДНК транспозонами (участки ДНК, удаляемые из одного локуса хромосомы и встраиваемые в другой локус той же или другой хромосомы) и ретротранспозонами (они не покидают исходного положения в молекуле ДНК, копии их встраиваются в новый участок). Включаясь в гены или участки около генов, они могут вызывать мутации и изменять их экспрессию. Например, это происходит при заражении ДНК- или РНК-содержащими вирусами, которые внедряют свой генетический материал в ДНК клеток хозяина.

Изменения в геноме довольно разнообразны и затрагивают различные участки ДНК от хромосом и генов до отдельных нуклеотидов (табл.).

Тип мутаций	Характер мутационных изменений	Примеры последствий
Геномный	Изменение числа хромосом	Болезнь Дауна (появление дополнительной хромосомы 21)
Хромосомные	Общее число хромосом не меняется. Наблюдают перестройки хромосом, обычно видимые при микроскопическом исследовании.	Мышечная дистрофия Дюшенна (делеции X-хромосомы)
Генные	Изменения затрагивают один кодон или небольшой отрезок гена и не обнаруживаются цитогенетически	Серповидно-клеточная анемия, вызванная заменой одного нуклеотида в гене β -цепи гемоглобина

Если геномные и хромосомные мутации чаще наблюдаются на уровне соматических клеток и проявляются фенотипической разновидностью, то в половых клетках приводят к летальным последствиям. Вместе с тем следует сказать, что частота мутаций в половых клетках довольно высока и согласно литературным данным нарушения структуры хромосом выявляются в 20% случаев при беременности у эмбрионов. В 90% случаев это приводит к нарушению развития плода и спонтанным абортam в первом триместре гестации. В 50% случаях развивается трисомия по аутосомам (болезнь Дауна, при которой хромосома 21 присутствует в 3 экземплярах).

Некоторые генные мутации закрепляются в популяции и определяют эволюционные процессы. Это проявляется прекращением синтеза белка, кодируемого повреждённым геном, либо синтезом изменённого белка, приобретая наследственный характер. Генные (точечные) мутации бывают 3 видов: **замены**, при которых одно азотистое основание в ДНК замещается на другое; **вставки**, обеспечивающие внедрение в молекулу ДНК одного или нескольких дополнительных нуклеотидов; **делеции** (или выпадения) одного или нескольких нуклеотидов, при которых происходит укорочение молекулы ДНК. При замене если кодирующий триплет, в котором находится изменённый нуклеотид, из-за вырожденности кода вызывает включение в белок той же аминокислоты, что исходный кодон (или кодон «дикого» типа), то такую мутацию называют «молчащей», и белковый продукт остаётся тем же. Когда замена одного основания приводит к замене аминокислоты в мутантном белке, то такую мутацию называют «**миссенс-мутация**». Так, точечная мутация в кодоне серина (важнейший структурный компонент активного центра сериновых протеаз: трипсина, химотрипсина и некоторых других ферментов) приводит к полной потере активности. Наибольшим повреждающим действием обладают мутации, приводящие к образованию одного из терминирующих кодонов (нонсенс-мутация). В процессе синтеза белка работа рибосомы будет остановлена на мутантном триплете мРНК: UAA, UAG, UGA. Проявление нонсенс-мутаций зависит от их внутригенной локализации: чем ближе мутация к 5'-концу гена, тем короче её белковый продукт и низкая биологическая функция.

Мутации по типу вставки или делеции нуклеотидов более многочисленны и опасны для клеток. Если мутация приводит к вставке или делеции в ген одной нуклеотидной пары или участка двухцепочечной молекулы ДНК с числом мономеров, не кратным 3, то это вызывает изменение считывания всех последующих кодонов и нарушение соответствия между кодонами в ДНК и аминокислотами в белке. Мутации со сдвигом рамки считывания часто приводят к появлению внутреннего

терминирующего кодона, вызывающего преждевременное прекращение синтеза полипептидной цепи и образование укороченного продукта, лишённого биологической активности. Такие сдвиги вызываются ингибиторами матричных синтезов (интеркаляторами). В ходе репликации такой изменённой цепи ДНК в дочернюю нить в результате ошибочного спаривания с «интеркалированной» молекулой может встроиться дополнительный нуклеотид.

В редких случаях теряется или включается в ДНК олигодезоксинуклеотид, состоящий из 3 или кратного 3 числа нуклеотидов. Такие мутации называют делециями или вставками без сдвига «рамки считывания» ДНК. В образующемся белковом продукте в этом участке окажется пропущенной или, наоборот, включённой дополнительно одна или несколько аминокислот, тогда как вся остальная аминокислотная последовательность будет соответствовать исходной молекуле. Они не приносят большого вреда.

Средняя частота возникновения мутаций в структурных локусах человека колеблется в пределах от 10^{-5} до 10^{-6} на одну гамету за каждое поколение. Следует сказать, что данный показатель может варьировать в широких пределах для разных генов. Это связано с характером мутационного повреждения, механизмом возникновения мутации, протяжённостью кодирующей области мутантного гена, функциями белка, закодированного в этом гене. Однако человечество справляется с такой мутационной нагрузкой, так как кодирующие части генов, изменения в которых наиболее опасны, занимают не более 10% генома. С другой стороны, далеко не каждая мутация в кодирующей области имеет фенотипическое проявление, так как многие попадают в 3'-положение кодонов и поэтому являются «молчащими», некоторые оказываются в доменах, несущественных для функционирования белков. Потомству передаются мутации, происходящие в гаметах, а их процент совсем невелик.

ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА

Геном эукариотических клеток содержит значительно больше ДНК, чем геном прокариотов. У кишечной палочки *E. coli* ДНК содержит $3,8 \times 10^6$ пар нуклеотидов или около 3000 генов. При этом вся ДНК выполняет определённые функции: кодирует белки, рРНК, тРНК или участвует в регуляции образования генных продуктов. Общая длина ДНК гаплоидного набора из 23 хромосом человека составляет $3,5 \times 10^9$ пар нуклеотидов, что в 1000 раз превосходит размер генома прокариотов. Этого количества ДНК достаточно для создания нескольких миллионов генов. По данным Международного консорциума и фирмы «Целера Геномикс», полученным при секвенировании генома человека и опубликованным в 2001 г., число белок-кодирующих генов, по оценкам первой организации, составляет 31780, а по оценкам второй — 39114 генов. Последовательность нуклеотидов в ДНК человека имеет области, кодирующие белки (не более 2% общего генома), области, кодирующие РНК (около 20% генома), и повторяющиеся последовательности (более 50% общего генома). Функции «избыточной» ДНК до конца не ясны, полагают, что она участвует в регуляции экспрессии генов, процессинга РНК, выполняет структурные функции, повышает точность гомологичного спаривания и рекомбинации хромосом в процессе мейоза, способствует успешной репликации. Большая часть этой ДНК возникла в результате обратной транскрипции РНК и благодаря наличию подвижных элементов.

Во фракции «избыточной» ДНК выделяют относительно короткие последовательности длиной от 2 до 10 пар нуклеотидов, повторяющиеся миллионы раз - «сателлитные ДНК». Они составляют около 10% всего генома человека, рассеяны по всему генетическому материалу клетки, преимущественно локализуются в центромерных и теломерных областях большинства хромосом. Имеется и группа умеренно повторяющихся последовательностей ДНК. Она довольно гетерогенна по размеру и числу копий, составляет более 30% генома человека, включает ДНК, кодирующую структуру рРНК, тРНК и некоторых мРНК, например, гены гистонов.

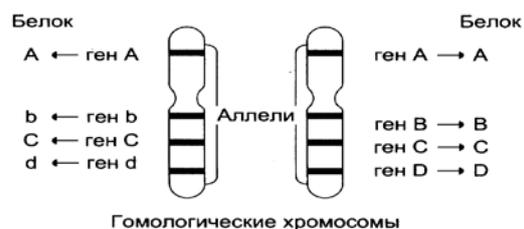
Умеренно повторяющиеся последовательности ДНК включают участки, которые не транскрибируются, однако они участвуют в регуляции экспрессии генов (промоторы и энхансеры). **Уникальные последовательности** ДНК представлены ДНК-последовательностями, которые присутствуют в геноме в количестве одной или нескольких копий, и транскрибируются, образуя мРНК, содержащие информацию о различных белках.

Типичный ген человека состоит примерно из 28000 нуклеотидов и содержит в среднем 8 экзонов, его кодирующая последовательность составляет около 1340 пар нуклеотидов и шифрует белок, включающий 447 аминокислотных остатков. Самый крупный ген - ген мышечного белка дистрофина, состоящий из $2,4 \times 10^6$ пар нуклеотидов, а наибольшее количество экзонов (234) присутствует в гене фибриллярного белка титина, ответственного за пассивную эластичность скелетных мышц. Уникальные последовательности ДНК также могут образовывать мультигенные семейства. Они расположены в виде кластеров в определённых областях одной или нескольких хромосом, например, гены рибосомальных, транспортных и малых ядерных РНК, гены α - и β -глобинов, тубулинов, миоглобина, актина, трансферина и многих других. Наряду с функционально активными мультигенами имеются псевдогены, которые являются мутационно изменёнными последовательностями. Они не способны транскрибироваться. Эти уникальные последовательности очень сходны по структуре с определёнными генами, располагаются тандемно и могут находиться в разных хромосомах.

ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ

Большинство нормальных клеток человека диплоидны, так как содержат 2 копии каждой хромосомы (отца и матери). Эти две копии одной и той же хромосомы называют гомологичными (рис.), в каждой из них имеется более тысячи генов. Соответствующие друг другу гены в гомологичных хромосомах называют аллелями. Если аллели идентичны и содержат

одинаковую последовательность нуклеотидов индивидуум будет **гомозиготен** по данному признаку, если аллели различаются - гетерозиготное наследование гена. В этом случае индивидуум будет иметь 2 белковых продукта гена, различающихся по аминокислотной последовательности.

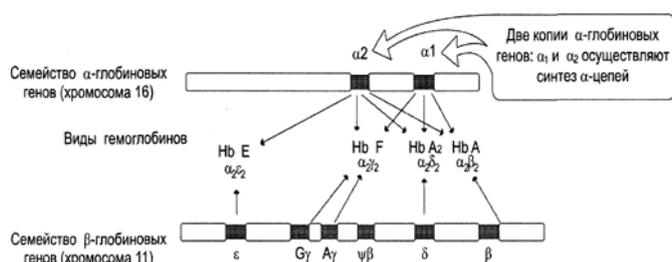


У каждого человека существует только 2 разных аллеля одного гена, тогда как в популяции людей вариантов аллелей может быть огромное множество. Если в ходе мейоза рекомбинации сопровождаются обменом участками ДНК, меньшими по размеру, чем ген, то такой процесс может приводить к появлению новых аллелей. Учитывая, что рекомбинации происходят более часто, чем мутации в кодирующих участках гена, то разнообразие вариантов аллелей связано в основном этим процессом. Существование в популяции 2 и большего числа аллелей одного гена называют «**аллеломорфизм**», или «**полиморфизм**», а белковые продукты, образующиеся в ходе экспрессии этих вариантов гена — «**полиморфы**». Разные аллели встречаются в популяции с разной частотой. К полиморфам относят только те варианты, распространённость которых в популяции не меньше 1%.

В процессе эволюции отдельные гены амплифицируются с образованием копий, а их структура и положение могут изменяться в результате мутаций и перемещений не только внутри хромосомы, но и между хромосомами. Со временем это приводит к появлению новых генов, кодирующих белки, родственные исходному, но отличающиеся от него определёнными свойствами и занимающие в хромосомах разные генные локусы. К родственным белкам относят **изобелки**, представляющие собой варианты

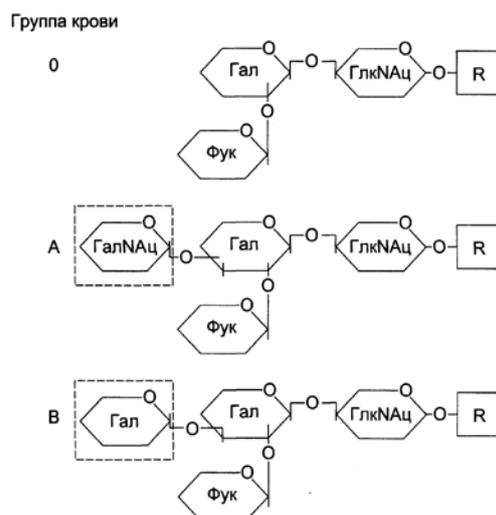
белков, выполняющие одну и ту же функцию и обнаруживаемые в пределах одного вида организмов. Так, в группе из 2000 генов человека, кодирующих факторы транскрипции и транскрипционные активаторы, идентифицировано 900, относящихся к семейству белков, имеющих «цинковые пальцы». Существует 46 генов фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, осуществляющего единственную окислительную реакцию в метаболическом пути катаболизма глюкозы до пирувата. Выявлены семейства родственных белков, возникшие в ходе эволюции из одного «предкового» гена, или гена-предшественника, например, гены миоглобина и протомеров гемоглобинов; группа протеолитических ферментов: трипсин, химотрипсин, эластаза, плазмин, тромбин и некоторые другие белки и ферменты.

Гемоглобины человека. Разнообразие генов гемоглобина связано эволюционными изменениями генов-предшественников, локализованных на хромосомах 16 и 11 соответственно, возникли семейства генов α - и β -глобинов (рис.). В процессе онтогенеза у людей образуются разные виды гемоглобинов. Они обеспечили адаптацию к меняющимся условиям существования: HbE - эмбриональный, синтезируется у зародыша в первые месяцы развития, HbF - фетальный, обеспечивает дальнейшее внутриутробное развитие плода, HbA и HbA₂ осуществляют транспорт кислорода в организме взрослого человека. Это тетрамеры, состоящие из полипептидных цепей двух видов: α и β в HbA ($2\alpha 2\beta$), α и ϵ в HbE ($2\alpha 2\epsilon$), α и γ в HbF ($2\alpha 2\gamma$), α и δ в HbA₂ ($2\alpha 2\delta$).



Наряду с генами, кодирующими изобелки и занимающими разные локусы на хромосоме, обнаружено многообразие гемоглобина А, являющихся продуктами аллельных генов. Например, HbA — HbS, образующийся в результате замены остатка глутамата в положении 6 β-цепи HbA на валин. По аллелям HbA и HbS всех людей можно разделить на 3 генотипически различающиеся группы: AA, AS и SS. Часто людей с S аллелем можно встретить в малярийных районах Африки и Азии (до 35%).

Группы крови. *Имеется* полиморфизма белков, связанный с проблемой переливания крови. В популяции людей существуют 3 аллельных вариантов гена фермента гликозил-трансферазы (A, B и 0), принимающего участие в синтезе олигосахарида. Он локализован на наружной поверхности плазматической мембраны и определяет антигенные свойства эритроцитов. Варианты фермента A и B имеют разную субстратную специфичность: вариант A катализирует присоединение к олигосахариду N-ацетилгалактозамина, а вариант B — галактозы, тогда как вариант 0 кодирует белок, лишённый ферментативной активности. Это определяет различную структуру олигосахаридов (рис.). Антитела к антигенам A и B обычно имеются в сыворотке крови людей, на поверхности эритроцитов которых отсутствует соответствующий антиген, т.е. индивидуумы с антигенами A на поверхности эритроцитов продуцируют в сыворотку крови антитела к B-антигенам (анти-B), а люди с B-антигенами — антитела к антигенам A (анти-A). В сыворотке крови анти-A и анти-B обычно присутствуют в высоких титрах и при появлении соответствующих антигенов способны активировать ферменты системы комплемента.



При переливании крови руководствуются правилом, согласно которому кровь донора и реципиента не должна содержать антигены и антитела, реагирующие между собой. При нарушении этого правила происходит реакция антиген-антитело, вызывая агглютинацию эритроцитов и их разрушение ферментами комплемента и фагоцитами.

Антигены эритроцитов	Нет	A	B	AB
Генотипы	00	AA или A0	BB или B0	AB
Антитела в сыворотке крови	Анти-А и анти-В	Анти-В	Анти-А	Нет
Группы крови	0 (I)	A (II)	B (III)	AB (IV)
Частота (%)	45	40	10	5

У индивидуумов-гетерозигот, имеющих группу крови AB (IV), на эритроцитах присутствуют А- и В-антигены, функционируют 2 варианта гликозилтрансферазы (А и В), поэтому антитела не образуются и поэтому их можно рассматривать как «универсальных» реципиентов. Однако люди с группой крови IV не могут безопасно получать сыворотку крови от этих доноров, так как она содержит антитела к А- и/или В-антигенам. Индивидуумы, имеющие 0 (I) группу крови, гомозиготы по неактивному варианту гликозилтрансферазы 0, и поверхность их эритроцитов лишена

антигенов. Такие люди являются «универсальными» донорами эритроцитарной массы. В то же время сыворотка крови этих доноров содержит антитела к А- и В-антигенам и может использоваться только для пациентов 0 (I) группы крови.

Белки главного комплекса гистосовместимости и трансплантационная несовместимость. При формировании клеточного иммунного ответа узнавание Т-лимфоцитами чужеродного антигена происходит только, если он расположен рядом с гликопротеинами, присутствующими на собственной клеточной мембране. Эти гликопротеины называют белками главного комплекса гистосовместимости (МНС-белками). Существуют 2 класса этих белков: молекулы класса I и II. МНС-белки класса I обнаружены практически во всех содержащих ядро клетках, тогда как МНС-белки класса II имеются в клетках, участвующих в иммунном ответе, т.е. в антиген-представляющих В-клетках и Т-хелперах. Семейство генов, кодирующих МНС-белки, локализованы на коротком плече хромосомы 6 и занимающих участок ДНК длиной более 6000 пар нуклеотидов. Гены комплекса отличаются чрезвычайно высоким полиморфизмом и считаются самой полиморфной системой человека. Это обеспечивает трансплантационную несовместимость, приводит к развитию реакции клеточного иммунитета и отторжению трансплантата. По мнению многих исследователей, полиморфизм различных белков настолько велик, что можно говорить о биохимической индивидуальности и уникальности каждого человека.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ

Каждый генетический локус характеризуется определённым уровнем изменчивости. Аллели генов делят на 2 группы: нормальные (аллели «дикого» типа), для которых функция гена не нарушена, и мутантные, приводящие к нарушению работы гена, синтезу белка, функция которого нарушена и при гомозиготном наследовании фенотипически проявляется как наследственная болезнь. Наследственные болезни являются следствием

мутаций, произошедших в гаметах или зиготе. Они могут быть первичными (возникли в гаметах или в процессе формирования зиготы), или вторичными (мутантный ген возник раньше и был передан последующему поколению по наследству). Первичные мутации не сопровождаются возникновением болезни, так как происходят обычно в одной из хромосом, и индивидуум, получивший такую мутацию, становится гетерозиготным носителем повреждения в гене. Мутантный ген в гетерозиготном состоянии часто не проявляется как болезнь и существенно не снижает жизнеспособность организма, но способствует распространению в популяции. При вторичных мутациях, если каждый из родителей является носителем мутантного гена, будучи гетерозиготой, возможно рождение детей-гомозигот по дефектному аллелю. В таком случае развивается наследственная болезнь, часто сопровождаемая очень тяжёлым течением.

Согласно данным ВОЗ, около 2,4% всех новорождённых на земном шаре страдают теми или иными наследственными нарушениями, в 40% случаях определяют раннюю младенческую смертность и инвалидность. На хромосомах человека выявлено около 800 генов, мутации в которых приводят к развитию различных наследственных болезней. Количество моногенных заболеваний (т.е. вызванных мутациями в определённом гене) примерно равно 950 (групп болезней, клинически отличающихся друг от друга, но обусловленных мутациями в одном и том же гене). Например, мутации в гене рецептора с тирозинкиназной активностью *ret* могут вызывать 4 различных наследственных заболевания. Наибольшую группу составляют ферменты (31% от общего числа), в 14% случаях составляют белки, модулирующие функции белков и участвующие в фолдинге. Наибольшее число мутантных генов установлено на X-хромосоме.

Достаточно хорошо изучены наследственные заболевания, связанные с нарушением синтеза α - или β -цепей Hb (талассемии). Талассемии возникают как результат мутаций, включающих замены или делеции одного или нескольких нуклеотидов, а иногда и целого гена,

кодирующего структуру одного из протомеров. Эти болезни классифицируют по 4 типам: α^0 - или β^0 - если одна из цепей не синтезируется, α^+ - или β^+ - если синтез какой-либо из цепей снижен.

α -Талассемии возникают при нарушении синтеза α -цепей. Так как в геноме каждого индивидуума существует 4 копии данного гена (по 2 копии на каждой хромосоме) выявлены несколько видов недостаточности α -цепей. Если дефектна одна из 4 копий, то фенотипически это не проявляется, при дефекте в 2 копиях гена у носителя мутации обнаруживают слабовыраженные признаки болезни, а при дефекте в 3 копиях развивается гемолитическая анемия. При полном отсутствии синтеза α -цепей (т.е. дефектны все 4 копии гена) наступает внутриутробная гибель плода.

β -Талассемии развиваются в результате снижения синтеза β -цепей гемоглобина, для которых на каждой хромосоме имеется по одному гену. Синтез НbА начинается после рождения ребёнка: при дефекте в одной из копий гена недостаточность проявляется в слабой степени и не требует специального лечения, а при полном выключении синтеза β -цепей развивается тяжёлая форма анемии, требующую пересадку костного мозга.

Наряду с болезнями, наследственная природа которых установлена, существует множество болезней, характеризующихся семейной предрасположенностью: сахарный диабет, подагра, атеросклероз, шизофрения, болезнь Крона, семейный полипоз и другие. Они относят к мультифакторным заболеваниям, и для их выявления исследование генов, ответственных за предрасположенность.

ГЛАВА 6

ТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБЕНАНТНЫХ ДНК

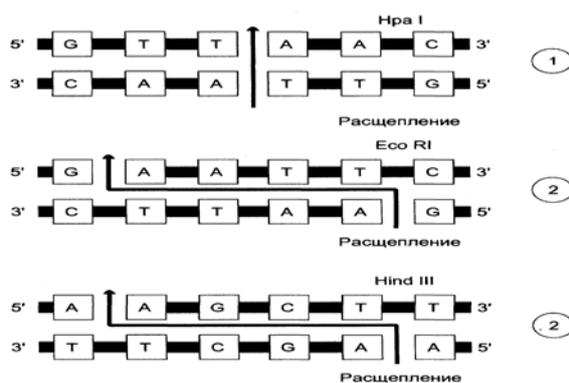
Достижения в области молекулярной биологии углубили наши знания об экспрессии генов и причинах многих болезней, а также способствовали разработке новых подходов к их диагностике и лечению таких заболеваний.

Так, идентификация генов, нарушение работы которых приводит к развитию наследственных заболеваний, создала предпосылки для подробного анализа генетических и биохимических основ патогенеза этих заболеваний и разработки наиболее эффективных методов лечения. Методами молекулярной медицины были созданы вакцины для предотвращения гепатитов, инсулин человека — для лечения сахарного диабета, фактор VIII — для восстановления нормального свёртывания крови и лечения гемофилии и многие другие препараты. С другой стороны, с помощью генной терапии оказалось возможным вводить в организм больного полноценно работающие гены и восстанавливать метаболические нарушения, вызванные мутантными генами. Например, осуществляется лечение детей с иммунодефицитом, вызванным дефектом аденозиндезаминазы, методы гено-коррекции таких наследственных болезней, как семейная гиперхолестеринемия, гемофилия В, муковисцидоз и некоторые другие.

ДНК можно выделить из любых тканей и клеток, содержащих ядра. Это многоэтапный процесс включает быстрый лизис клеток, удаление фрагментов клеточных органелл и мембран, ферментативное разрушение белков протеиназами и экстрагирование ДНК из раствора с помощью фенола и хлороформа, его осаждение этанолом и растворение в буферном растворе. Контролем качества экстрагированной ДНК является измерение оптической плотности раствора ДНК в области белкового и нуклеинового спектров поглощения, т.е. при 280 и 260 нм, соответственно. Для чистых образцов ДНК соотношение оптических плотностей, полученных при 260/280 нм, должно быть больше 1,8. В ходе выделения получают молекулы ДНК значительно меньше исходных, но всё же довольно больших размеров (тысячи или десятки тысяч пар нуклеотидов), что требует дополнительной фрагментации.

Для фрагментирования используют рестриктазы (ферменты, расщепляющие ДНК), выделенные из бактериальных клеток. Рестриктазы узнают специфические последовательности из 4—6, реже 8—12 нуклеотидов

в двухцепочечной молекуле ДНК (сайты рестрикции) и «разрезают» её в местах локализации этих последовательностей. Количество образующихся рестрикционных фрагментов ДНК при использовании одной рестриктазы зависит от количества сайтов рестрикции, а размер фрагментов определяется положением этих сайтов по всей длине исходной молекулы ДНК. Известно более 500 различных типов рестриктаз бактериального происхождения, каждый из этих ферментов узнаёт свою специфическую последовательность (рис.). для изучения первичной структуры (метод секвенирования) удобны фрагменты размером около 300 пар нуклеотидов. Следовательно, ДНК одной хромосомы в 150×10^6 пар нуклеотидов нужно разрезать на 500 000 фрагментов и каждый из фрагментов изучать отдельно.



Образующиеся в результате рестрикции фрагменты ДНК могут быть исследованы методом электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле. Выявление ДНК в геле возможно в присутствии бромида этидия, связывающегося с фрагментами молекулы и дающего специфическое розовое окрашивание в ультрафиолетовой области спектра.

После электрофореза рестрицированной геномной ДНК и проявления с помощью бромида этидия получается равномерное окрашивание по всей длине геля. Идентификация нужных фрагментов ДНК в таком геле возможна только путём гибридизации с мечеными ДНК-зондами. Классическим методом идентификации интересующих участков ДНК стал метод блот-гибридации по Саузерну, предложенный в 1975 г. Получившаяся в

результате деления по молекулярной массе в гелях ДНК, подвергается денатурации и переносится за счёт капиллярных сил, электрического поля или вакуума с геля на плотный носитель (нитроцеллюлозный фильтр или нейлоновую мембрану) (перенос или блоттинг). Фиксированную на фильтре ДНК гибридизуют с ДНК- или РНК-зондом, содержащим метку. Методом радиоавтографии определяют положение искомого фрагмента геномной ДНК на электрофореграмме. Блот-гибридизация является высокочувствительным методом идентификации специфических последовательностей ДНК.

Наиболее часто для установления первичной структуры ДНК используют дидезоксисеквенирование. В реакционных пробах, содержащих денатурированную одонитевую ДНК, ДНК-полимеразу, дНТФ, один из которых является радиоактивным, и праймер инициируют синтез ДНК в присутствии специфических дидезоксинуклеозидтрифосфатов (ддНТФ). Синтез одновременно ведут в четырёх параллельных пробах, в каждую из которых наряду с компонентами реакционной смеси прибавляют один из 4 ддНТФ. ддНТФ будут конкурировать с нормальными дНТФ за включение в растущую полинуклеотидную цепь. При встраивании ддНТФ вместо соответствующего нуклеотида синтез ДНК прекращается. В результате в каждой из пробирок получается набор различающихся по длине меченых фрагментов ДНК с одним из специфических дидезоксинуклеотидов на конце. После одновременного разделения этих фрагментов в электрическом поле на 4 соседних дорожках и радиоавтографии размер синтезированных молекул может быть установлен, а это значит, что может быть определена локализация терминирующих дидезоксинуклеотидов. На основании этих данных устанавливают последовательность нуклеотидов во вновь синтезированных фрагментах, комплементарных ДНК-матрице. В настоящее время созданы приборы для автоматического одновременного секвенирования большого числа проб с использованием меченных разными флюорохромами дидезоксинуклеотидов.

Для работы с нуклеотидными последовательностями в генах и других участках ДНК необходимо иметь достаточное количество материала для исследования. Поэтому исследуемые фрагменты ДНК обычно предварительно амплифицируют (увеличивают количественно в миллионы раз), для того чтобы получать их в любое время и в неограниченном количестве. Исключительно ценным инструментом в решении этой проблемы оказалось использование рекомбинантных ДНК (т.е. ДНК, построенных из участков разного происхождения). Для получения таких молекул первоначально выделяют ДНК из 2 разных источников. Каждую из них в отдельности фрагментируют, используя одну и ту же рестриктазу, расщепляющую ДНК с образованием «липких» концов. После процедуры нагревания и медленного охлаждения (отжига) наряду с исходными молекулами ДНК_x и ДНК_y могут образовываться рекомбинантные молекулы, состоящие из фрагментов ДНК_x и ДНК_y связанных между собой «липкими» концами. Ковалентное сшивание фрагментов осуществляют с помощью ДНК-лигазы в присутствии АТФ как источника энергии.

В технологии рекомбинантных ДНК, кроме фрагментов ДНК, выделенных из клеток, содержащих ядра, используют ДНК, полученную с помощью обратной транскриптазы. При добавлении в реакционную среду 4 разных дезоксирибонуклеозилтрифосфатов фермент на матрице мРНК по принципу комплементарности синтезирует ДНК-копию, или кДНК. Так как источником информации при образовании кДНК служит зрелая цитоплазматическая мРНК, то такая ДНК, в отличие от ДНК фрагментов, полученных при расщеплении геномной ДНК эукариотов, не содержит интронов.

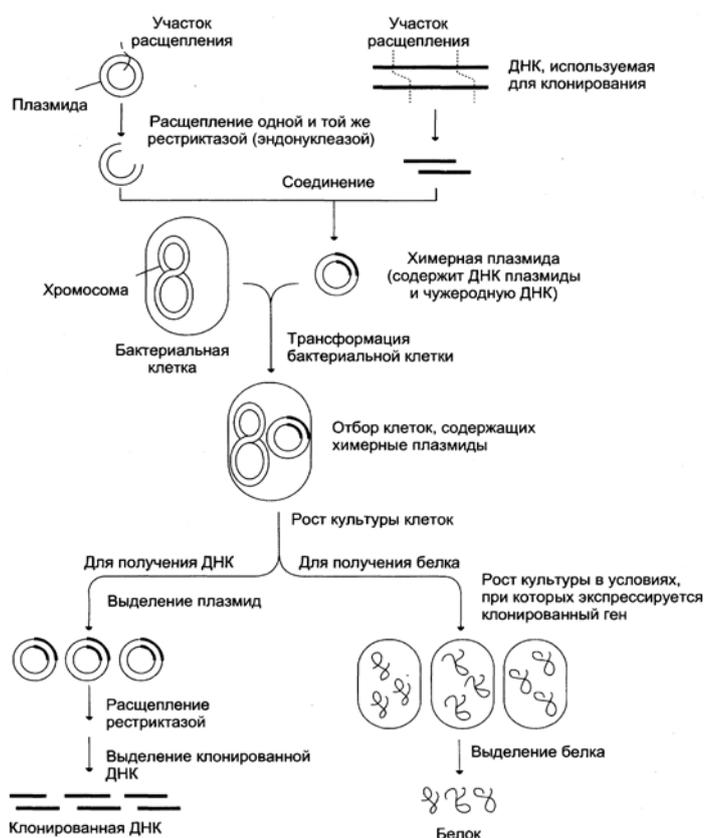
Для получения значительных количеств интересующего материала проводят клонирование ДНК, предполагающее встраивание нужного фрагмента ДНК в векторную молекулу ДНК. Вектор обеспечивает проникновение этой рекомбинантной, или химерной ДНК в бактериальные

клетки. В качестве векторов используют плазмиды, фаги, ретро- и аденовирусы. Особенно часто в качестве вектора служит плазмидная ДНК. Плазмиды представляют собой небольшие кольцевые двухцепочечные молекулы ДНК, присутствующие в бактериальных клетках в различном количестве копий. Они имеют автономную систему контроля репликации, которая поддерживает их количество в клетках на определённом уровне. Используемую для клонирования плазмидную ДНК и интересующую нас ДНК расщепляют по определённому участку рестриктазой. получают рекомбинантную ДНК, возвращают гибридную плазмиду в кольцевую форму и вводят в бактериальные клетки, т.е. осуществляют трансформацию бактерий. При размножении трансформированных бактерий происходит увеличение числа копий введённого в плазмиду фрагмента ДНК, т.е. таким способом чужеродный для бактерии генетический материал может быть получен в значительных количествах (рис.). В качестве клонирующих векторов часто используют фаги. Если экзогенную ДНК вводят в эукариотические клетки, то эту процедуру называют трансдукцией.

Полимеразная цепная реакция

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), предложенный в 1983 г. Карри Муллисом (Нобелевская премия, 1993 г.), явился эпохальным открытием XX века в области молекулярной биологии. Он позволяет подвергать специфичной амплификации в условиях *in vitro* (в пробирке) участки ДНК длиной от нескольких десятков до нескольких сотен пар нуклеотидов, используя в качестве матрицы любые образцы ДНК. Необходимое условие для проведения ПЦР — знание нуклеотидной последовательности амплифицируемой области. Участок исследуемой ДНК гибридизуют с двумя искусственно синтезированными праймерами длиной от 15 до 30 пар нуклеотидов, которые комплементарны 3'-концам амплифицируемого участка на кодирующей и не кодирующей нитях ДНК. Расстояние между праймерами определяет длину синтезируемых молекул. В качестве матрицы для синтеза продуктов ПЦР используют любой тип ДНК:

геномную ДНК человека, различных видов про- и эукариотов, ДНК, выделенную из культур клеток, «библиотек» генов и других источников. Метод не требует больших количеств исследуемой ДНК, в принципе, достаточно даже одной молекулы, содержащейся в одном волосе на голове, одной капле крови или спермы.



Успех в разработке метода в значительной степени обусловлен использованием в качестве фермента термофильной ДНК-полимеразы, выделенной из бактерий, живущих в горячих источниках, и потому устойчивой к действию высоких температур. Реакционная смесь для получения интересующей нас ДНК содержит исследуемую ДНК, субстраты реакции — 4 дНТФ, 2 праймера, термостабильную, или Таг-полимеразу и буфер, содержащий ионы Mg^{2+} . Один цикл полимеризации включает 3 этапа: **плавление (при температуре 90-97°C исследуемая двуцепочечная ДНК**

денатурирует и переходит в однонитевую форму); **гибридизация или отжиг ДНК с праймерами** (комплементарное связывание праймеров с цепями матричной ДНК и образование двухцепочечного участка на каждой из нитей ДНК); **элонгация** (удлинение нитей ДНК, комплементарных матричной ДНК, катализирует Tag-полимераза в направлении от 5'- к 3'-концу). Затем снова наступает этап плавления, когда за счёт повышения температуры синтез ДНК прекращается, и двунитевой участок между матричными и вновь синтезированными молекулами ДНК денатурирует. Во втором и последующих циклах праймеры гибридизируются с исходной матричной ДНК и с вновь синтезированными молекулами ДНК, количество которых нарастает в геометрической прогрессии. В последнем случае синтез ДНК заканчивается не из-за изменения температурного режима, а по достижении ДНК-полимеразой границы амплифицированного участка, что определяет строго определённый размер продукта с точностью до одного нуклеотида. Каждый из этапов цикла имеет продолжительность от десятков секунд до 1-3 мин, в результате полный цикл длится от одной до нескольких минут. Описанную процедуру амплификации ДНК проводят в автоматическом режиме в приборе (циклизатор, или термоциклер, амплификатор ДНК). Такой прибор позволяет задавать нужное количество циклов и выбирать оптимальные временные и температурные параметры. За 25-30 циклов число синтезированных копий ДНК достигает нескольких миллионов. С помощью ПЦР можно получить достаточное количество копий участков ДНК, в которых предполагаются присутствие мутаций, полиморфизм сайтов, можно проводить ДНК-диагностику инфицированности пациентов вирусными, бактериальными и грибковыми возбудителями болезней.

ДНК-диагностика заболеваний

Используя технику рекомбинантных ДНК, удаётся исследовать варианты генов, ответственных за развитие многих заболеваний. Этим способом идентифицированы точечные мутации, вызванные заменой одного азотистого основания, делециями или вставками, приводящими к появлению

аллелей, кодирующих функционально неактивные белки. Разработанные технологии позволяют вести целенаправленное картирование генов человека в рамках международного проекта «Геном человека». Официально эта научная программа с участием ведущих молекулярно-генетических лабораторий США, стран Западной Европы, а также России и Японии оформилась в 1990 г. В ходе работы над проектом картированы 923 гена, вызывающих развитие моногенных заболеваний, более 100 из них полностью секвенированы. К концу 2001 г. работами лабораторий США, Великобритании, Японии и ряда европейских стран с точностью до 90% завершена расшифровка генома. В ближайшем будущем будут изучены все гены, ответственные за развитие патологических процессов у человека. Это позволит вывести диагностику и лечение многих болезней на новый уровень.

Для этих целей используются различные методы исследования: полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ), *определение мутаций с помощью аллель-специфических проб*.

Мутации, возникающие в участках узнавания определённых рестриктаз, делают эти участки ДНК нечувствительными к действию ферментов. Это может быть легко обнаружено по изменению длины рестрикционных фрагментов ДНК. ПДРФ-анализ включает следующие этапы: выделение геномной ДНК, её рестрикцию специфической эндонуклеазой, электрофоретическое разделение образующихся фрагментов ДНК и идентификацию этих фрагментов путём блот-гибридизации по Саузерну. На электрофореграммах при отсутствии рестрикции в исследуемой ДНК выявляют один крупный фрагмент, соответствующий по длине последовательности ДНК между двумя соседними участками рестрикции для той же эндонуклеазы. При наличии рестрикции в полиморфном участке на электрофореграмме будет присутствовать меньший по размерам фрагмент, равный расстоянию между полиморфным участком рестрикции и одним из ближайших постоянных участков рестрикции. При обследовании пациентов и членов их семей на носительство патологических генов широко

используют этот метод, с помощью которого: идентифицируют делеции в гене дистрофина, на долю которых приходится около 60% всех мутаций, вызывающих миодистрофию Дюшенна; диагностируют гемофилию А, некоторые талассемии, ретинобластому и гранулематоз; контролируют здоровье детей в семьях, в которых родители являются гетерозиготами по гену серповидно-клеточной анемии и другим дефектным генам.

Многие мутации, вызывающие возникновение генных болезней, не попадают в участки, ответственные за узнавание ферментов рестрикции. В этом случае, если последовательность оснований в области мутации известна, то её обнаруживают с помощью аллель-специфических олигонуклеотидов. Для этого синтезируют короткие олигонуклеотидные зонды, содержащие обычно около 19 нуклеотидов, комплементарные участку нормального и мутантного аллеля в ДНК. Область генома, содержащую исследуемый ген, амплифицируют с помощью ПЦР, и образцы полученной ДНК переносят на нитроцеллюлозные фильтры (дот- или слот-блоттинг). Пробы выдерживают с ³²P-зондами для выявления нормальной или мутантной последовательности. У гомозигот по исследуемой мутации ДНК будет гибридизоваться только с зондом, комплементарным мутантной последовательности. ДНК нормального гомозиготного индивидуума свяжется с зондом, соответствующим неизменённой нуклеотидной последовательности, тогда как с ДНК гетерозигот будут гибридизоваться оба зонда. Олигонуклеотиды, аллель-специфичные по определённым мутациям, можно использовать в качестве праймеров в ПЦР при клиническом тестировании населения на наличие патологического гена. Если ДНК, полученная от пациента, амплифицирует с мутантным олигонуклеотидом, то пациент является носителем мутации. Если нуклеотидная последовательность в исследуемом гене не изменена, то олигонуклеотид, содержащий мутацию, не свяжется с ДНК-матрицей, и ПЦР не пойдёт.

Вакцины — очищенные белки, антигенные детерминанты ряда возбудителей вирусных и бактериальных инфекций. В последнее время их

получают, пользуясь техникой рекомбинантных ДНК. Первой вакциной, синтезированной этим способом, была вакцина против вируса гепатита В.

Белки, имеющие терапевтическое значение, получают с использованием этой технологии во многих странах мира. Так, одним из первых синтезирован инсулин человека. В клетках *E. coli*, трансформированных плазмидами, содержащими ДНК, которая кодировала А- и В-цепи инсулина, нарабатывают белковые продукты А- и В-цепей. После очистки их подвергают фолдингу и окислению, которое обеспечивает образование соответствующих дисульфидных мостиков. Аналогичным способом получен гормон роста, используемый для лечения детей с недостаточностью этого гормона. Более сложные белки получены в культуре клеток млекопитающих: фактор VIII, тканевый активатор плазминогена, эритропоэтин, интерлейкины, колоний-стимулирующие факторы. Разработаны методы получения белков человека с использованием трансгенных животных; эти белки получают в результате искусственного введения чужеродного гена в оплодотворённую яйцеклетку или в ранние зародыши млекопитающих. Генноинженерные мероприятия можно провести таким образом, чтобы интересующий нас белок человека секретировался с белками молока.

Генная терапия — лечение наследственных, многофакторных и инфекционных заболеваний путём введения в соматические клетки пациентов генов, которые обеспечивают исправление генных дефектов или придают клеткам новые функции. Первый клинический опыт применения генной терапии был осуществлён в 1990 г. в Бетесде (США) на четырёхлетней девочке, страдавшей наследственным иммунодефицитом, вызванным мутацией в гене аденозиндезаминазы. Ребёнку были введены её собственные лимфоциты, предварительно трансформированные вне организма генной конструкцией, включающей ген *ADA* + ген *neo* + ретровирусный вектор. Лечебный эффект наблюдался в течение нескольких

месяцев, после чего процедуру введения гена повторяли многократно без видимых неблагоприятных эффектов.

К настоящему времени разработаны химические, физические и биологические методы доставки чужеродного гена в клетки-мишени. Однако пока только вирусные векторы или генетические конструкции, включающие вирусные последовательности, способны к эффективной доставке необходимого гена и его последующей длительной экспрессии. В геном пациента чужеродная ДНК может вводиться либо в культуре клеток (*ex vivo*), либо непосредственно в организм больного (*in vivo*). При осуществлении первого способа выделяют и культивируют специфический тип клеток пациента, вводят в него чужеродный ген, отбирают трансформированные клетки и реинфузируют их тому же больному. Генная терапия *in vivo* основана на прямом введении в специализированные ткани больного клонированных и определённым образом упакованных последовательностей ДНК, поступающих с помощью рецепторов в определённые типы клеток. В этом способе гены вводят, как правило, в виде аэрозольных и инъекционных форм. Наиболее часто аэрозольную генотерапию используют при лечении болезней лёгких и муковисцидоза. Наряду с развитием исследований, касающихся лечения наследственных дефектов, генотерапию всё чаще используют для лечения ненаследственных, главным образом, инфекционных и онкологических болезней. Единственное и неременное ограничение таких работ состоит в том, чтобы все генотерапевтические мероприятия были направлены на конкретного больного и затрагивали только его соматические клетки.

Современный уровень знаний не позволяет проводить коррекцию генных дефектов на уровне половых клеток и клеток ранних доимплантационных зародышей человека в связи с реальной опасностью засорения генофонда нежелательными генными конструкциями и внесения мутаций с непредсказуемыми результатами. В целях предотвращения распространения дефектных генов в популяции людей и рождения детей с

наследственными патологиями во многих странах мира работают генетические консультанты, а также проводят пренатальную диагностику, позволяющую оценить здоровье плода с использованием анализа ДНК на самых ранних стадиях развития.

ГЛАВА 7

ОНКОГЕНЕЗ

Опухоли – это группа генных болезней, характеризующихся неконтролируемой клеточной пролиферацией. Они по способности к распространению в организме их делят на 2 группы: **доброкачественные** (локальные, не обладающие способностью прорасти в соседние ткани) и **злокачественные** (способные к инвазии в определённых тканях и перемещению в другие части тела, давая начало метастазам). Известно более 100 различных видов рака. Наиболее распространёнными и встречающимися в более 50% случаях от всех диагностируемых случаев заболевания являются рак лёгкого, молочной железы, толстой и прямой кишки, простаты, матки и яичников. В зависимости от тканей и типов клеток, из которых они возникли, опухоли классифицируют на **карциномы** (из клеток эктодермы и эндодермы), **саркомы** (из клеток мезодермы) и **гемобласты** (из камбиальной клетки кроветворной и лимфатической ткани). Онкологические заболевания занимают 2-е место по летальности, уступая сердечнососудистым заболеваниям. Основными и наиболее изученными причинами рака у людей являются радиация, химические канцерогены и вирусы.

ФИЗИЧЕСКИЕ, ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ

В возникновении рака у людей ведущая роль принадлежит (около 80% случаев) факторам окружающей среды: стиль жизни, пищевые продукты, заболевания, увеличивающие риск развития опухолей, и наследственные изменения в геноме. Агенты, стимулирующие возникновение опухолей

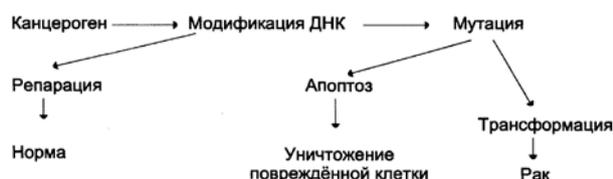
называются канцерогенами. Их можно разделить на три большие группы: излучения, химические соединения и вирусы.

УФО, рентгеновские и гамма-лучи оказывают мутагенное и канцерогенное действие. Действие их связано с повреждением ДНК. Так, под воздействием излучений в определенных участках могут образовываться апурицированные или апирицированные участки, появляться одно- и двухцепочечные разрывы или сшивки. Под воздействием УФО могут образовываться тиминовые димеры. Наряду с этим они могут оказывать опосредованное действие, индуцируя образование в тканях свободных радикалов, повреждающих генетический аппарат и матричный синтез в клетке. Этим связана высокая частота возникновения карциномы и меланомы в Австралии и Новой Зеландии (УФО), увеличение случаев заболевания лейкозами у жителей Японии после взрыва на их территории атомных бомб, учащение случаев рака лёгких у шахтёров, работающих с радиоактивными рудами.

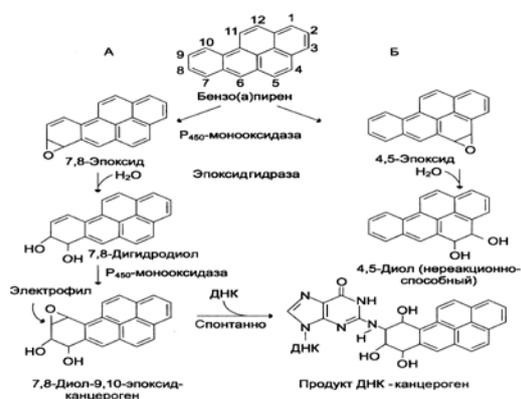
Группы веществ	Представители групп
Полициклические ароматические углеводороды	Бензопирен, диметилбензантрацен
Ароматические амины	2-Ацетиламинофлуорен, N-метил-4-аминоазобензол
Нитрозамины	Диметилнитрозамин, диэтилнитрозамин
Алкилирующие агенты	Циклофосфамид, диэтилстильбэстрол
Природные вещества	Дактиномицин, афлатоксин В ₁
Неорганические вещества	Хром, бериллий, асбест, свинец, кадмий

Огромное количество различных по химическому строению веществ обладают канцерогенным действием (табл.). В основном это про-канцерогены, не способные взаимодействовать с генетическим аппаратом клетки, их канцерогенное действие проявляется после метаболической модификации микросомальной монооксигеназной системой печени. Образующиеся **канцерогены** способны реагировать с молекулами нуклеиновых кислот и белков, нарушать работу регуляторных механизмов клеток и вызывать рост опухолей. В связи с этим трансформация клеток под действием канцерогенов получила название химического канцерогенеза. В

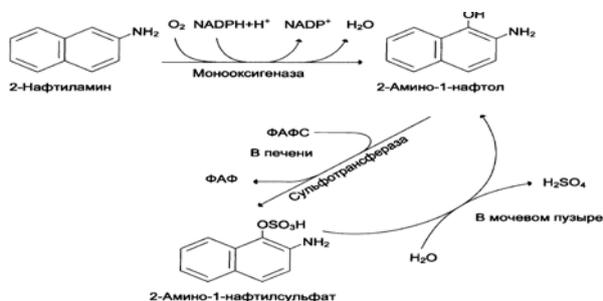
покоящихся клетках ДНК двухспиральна, и азотистые основания защищены от воздействия повреждающих агентов. Однако в ходе репликации они становятся чувствительными к канцерогенам, и клетки, получившие повреждения, могут иметь разную судьбу (рис.). В организме существуют различные механизмы защиты. Так, модификация ДНК под воздействием факторов окружающей среды подвергается репарации и, как следствие переход в норму. Если модификация сохраняется, то появляется мутированная клетка, которая подвергается апоптозу и уничтожению поврежденной клетки. Срыв этих механизмов ведет к трансформации клеток и неоплазии.



Наиболее опасными химическими канцерогенами являются полициклические ароматические углеводороды (ПАУ): бензантрацен, бензо(а)-пирен, 7,12-диметилбензантрацен и другие соединения, содержащие конденсированные ароматические кольца. После ферментативной активации монооксигеназами образующиеся первичные и вторичные эпоксиды способны связываться с пуриновыми основаниями в молекуле ДНК (рис.). В 1775 году появилось сообщение о развития рак мошонки у трубочистов Лондона. Было сделано предположение связи рака мошонки с их постоянным контактом каменноугольной смолой и сажой. Тогда же была обнаружена взаимосвязь между употреблением нюхательного табака и раком носа, курением и раком губ или лёгких.

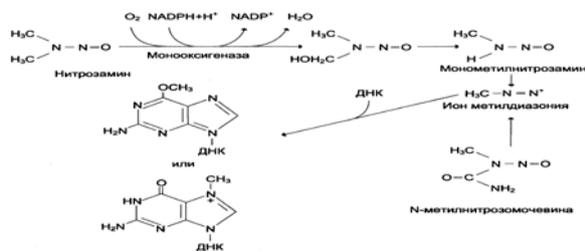


К ароматическим аминам (2-нафтиламин) относятся вещества, используемые в производстве анилиновых красителей и резиновой промышленности. Контакт с ними приводит к развитию рака мочевого пузыря у рабочих. Он метаболизируется в 2-амино-1-нафтол, который в печени быстро взаимодействует с ФАФС и экскретируется почками (рис.). В мочевом пузыре часть конъюгатов расщепляется гидролазами и вновь образуется канцерогенный 2-амино-1-нафтол.



Нитрозамины, обладающие канцерогенными свойствами, появляются в организме при взаимодействии вторичных алифатических аминов с нитритами. Вторичные амины и нитриты являются постоянными компонентами пищи (при запекании мяса, рыбы, образуются в зелёных растениях). Под действием микросомальных оксидаз из них образуются иона метилдiazония, способные метилировать ДНК клеток, индуцируя

возникновение злокачественных опухолей лёгких, желудка, пищевода, печени и почек (рис.).



Хотя основным продуктом взаимодействия нитрозаминов с ДНК клетки является N_7 -метилгуанин-ДНК, однако наибольшей канцерогенностью обладает O_6 -метилованный гуанин-ДНК.

Алкилирующие и ацилирующие агенты, взаимодействуя с нуклеофильными амино- и гидроксильными группами ДНК, могут повреждать структуру генов и индуцировать образование опухолей. Такие соединения, как винилхлорид, некоторые лекарства, применяемые в лечении опухолей или как иммуносупрессоры (циклофосфамид, бисульфат, диэтилстильбэстрол), можно рассматривать как факторы риска, так как они способны вызывать вторичные опухоли у небольшого процента больных.

ДНК- и РНК-содержащие вирусы

Доказана роль вирусов в развитии опухолей. Так, в 1908 году лейкоз у кур удалось вызвать введением бесклеточного экстракта из опухолевых клеток, в 1910 году Р. Раус описал первый онкогенный вирус, способный инициировать саркому у кур. В 1968 г. Л.А. Зильбером была сформулирована вирусно-генетическая теория возникновения опухолей. Вирусы могут участвовать в развитии некоторых опухолей у человека: ДНК-содержащий вирус Эпштейна-Барр вызывает развитие лимфомы Бёркитта, ДНК вируса папилломы - развитие рака кожи и гениталий, РНК-содержащий вирус иммунодефицита человека — возникновение сарком.

Доказано, что ДНК-содержащие вирусы способны частично или полностью встраиваются в клеточный геном человека, экспрессировать вирусные гены, а образуемые из них в ядре белки, нарушают регуляцию

клеточного цикла. К ДНК-содержащим онковирусам относятся вирус Эпштейна-Барр, вирус папилломы, вирус герпеса, аденовирус, папова-вирус, вирус ветряной оспы. Обычно они вызывают инфекционные болезни и лишь в одном из миллиона случаев - злокачественную трансформацию. ДНК-содержащий вирус гепатита В является причиной рака печени, длительность его развития составляет 20-25 лет. В геноме вируса саркомы Рауса наряду с тремя обычно встречающимися у всех вирусов генами был обнаружен онкоген *src*, ответственный за злокачественную трансформацию. Встраивание данного гена в геном нормальных культивируемых клеток приводит к потере контактного торможения и она приобретает все свойства трансформированных клеток (рис.).



РНК-содержащие вирусы, попадая в клетки человека, синтезируют ДНК с помощью обратной транскриптазы и частично или полностью включают её в геном эукариотов в виде провируса (латентного вируса).

НАСЛЕДСТВЕННАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ

Наследственные изменения в геноме играют важную роль в канцерогенезе. Так, например, у детей предрасположенность к ретинобластоме наследуется как аутосомно-доминантный признак. В 40% случаев заболевания имеют семейный характер. Также наследуется предрасположенность к множественному полипозу толстой кишки, и практически во всех случаях в зрелом возрасте у пациентов образуются аденокарциномы. Это связано с нестабильностью хромосомной ДНК в результате дефекта ферментов репарации. Например, у пациентов с

пигментной ксеродермой на участках кожи, подверженных действию УФО, часто развивается карциномы кожи.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Дифференцированные клетки обладают способностью контролировать деление клеток, не выходят за рамки границы ткани и не инвазируются, что связано с контактным торможением. У неоплазированных клеток эти свойства утрачиваются. Морфологически они несколько крупнее нормальных, ядерно-цитоплазматическое соотношение изменено, в основном имеется полиплоидия или анеуплоидия. У опухолевых клеток способность к адгезии снижена, что позволяет им расти не прикрепляясь к поверхности, и способны образовывать мультислой.

Метаболизм опухолевых клеток имеет свои особенности:

- активность рибонуклеотидредуктазы высокая, повышенный синтез ДНК и РНК, тогда как катаболизм пиримидинов и пуринов снижен;
- скорость аэробного и анаэробного гликолиза высокая, преобладает «эффект Варбурга», вследствие быстрого их роста при низкой обеспеченности сетью кровеносных сосудов;
- в изоферментном спектре различных белков и ферментов возрастает содержание фетальных форм (фосфофруктокиназа, не ингибирующая АТФ и цитратом, изофермент гексокиназы, характеризующийся чрезвычайно высоким сродством к глюкозе, и высокая активность лактатдегидрогеназы);
- аналогичные сдвиги в спектре изоферментов наблюдаются и в других видах обмена веществ, что обеспечивает высокое сродство опухолевых клеток к глюкозе и другим жизненно важным метаболитам;
- в отличие от нормальных клеток, опухолевых и эмбриональных тканях теломераза достраивает теломеры на 3'-концах ДНК хромосом и после репликации восстанавливает их исходную длину, прекращается старение клеток, и они становятся бессмертными;
- неопластическая трансформация клеток нарушает состав и структуру олигосахаридных цепей гликопротеинов и гликофинголипидов плазматической мембраны, изменяя её проницаемость и заряд, адгезивные свойства и интегриновые рецепторы;
- повышается секреция и активность коллагеназ и гликозидаз, которые разрушают коллаген, белки, гликозаминогликаны межклеточного матрикса и способствуют инвазии опухоли в соседние ткани и сосуды;
- усиливается синтез факторов ангиогенеза, стимулирующих развитие сосудов, которые должны снабжать раковые клетки питательными веществами;
- вследствие мутационных изменений, гены, кодирующие рецепторы, трансдукторы сигналов и транскрипционные факторы, экспрессируются постоянно и контролируемый рост заменяется неограниченной пролиферацией;

• опухолевые клетки приобретают способность к автономному росту за счёт перехода на паракринный или аутокринный механизмы регуляции клеточного роста.

ОНКОГЕНЫ, ПРОТООНКОГЕНЫ И ГЕНЫ-СУПРЕССОРЫ ОПУХОЛЕЙ

- Протоонкогены: гены, ответственные за развитие организма. Они кодируют белки, играющие центральную роль в регуляции процессов роста и развития организма (факторы роста (ФР), рецепторы ФР, транскрипционные факторы и белки, вовлечённые в трансдукцию сигналов).
- Онкогены: гены, ответственные за развитие опухолей (*jun*, *fos*, *myc*, *myb*, *erbA*). Онкогены записывают трёхзначным кодом из строчных латинских букв, который обычно указывает объект, из которого данный онкоген был выделен впервые. Проставление числа за обозначением гена часто отражает тот факт, что гены являются членами близко родственных семейств, а номер указывает место гена в данном семействе. Для обозначения вирусных онкогенов перед трёхбуквенным названием онкогена вводят строчную букву *V* (от англ. *virus* — вирус), а для обозначения клеточных онкогенов, образующихся в трансформированных клетках при мутациях, букву *c*.

- Гены супрессоры: гены, ингибирующие процессы деления и развития клеток (*rb1*, *p53*, *p21*, *p16*, *p15*, *wr1*). Наряду с двух- и трёхбуквенным кодом (ген *rb*) указывают размер белкового продукта. Ген ***p53*** так называют потому, что он кодирует синтез белка с молекулярной массой 53 кД.

Более 50% вирусных онкогенов кодируют тирозиновые протеинкиназы (тир-ПК), а остальные содержат информацию о различных функционально активных белках: укороченном ФР тромбоцитов, укороченном эпидермальном факторе роста (ЭФР) и рецепторе ЭФР (рЭФР), ДНК-связывающих, ГТФ-связывающих и некоторых других регуляторных белках.

К группе тир-ПК относят: онкоген *erb-B* вируса эритробластоэмии птиц, гомологи факторов роста тромбоцитов и рецепторов инсулиноподобных факторов I и II. В группу тир-ПК помимо онкогенов входят некоторые протоонкогены (рецептор инсулина, рЭФР, рФР тромбоцитов). Количество фосфотирозина в нормальных клетках очень низкое (не более 1% от всех фосфорилированных аминокислот). При опухолевом перерождении ткани активность тир-ПК сильно возрастает, и количество фосфотирозина в фонде аминокислот, входящих в белки, увеличивается.

Другую группу онкобелков кодирует семейство генов *ras*. Ras-белки представляют собой небольшие G-белки. В отличие от G-белков нормальных клеток, они являются мономерами, участвуют в трансдукции сигналов. Они участвуют в изменении структуры цитоскелета, регуляции экзо- и эндоцитоза, реализации митогенных сигналов и активации белков, участвующих в транскрипции генов. Ras-онкобелки обладают очень низкой ГТФ-азной активностью, в результате аденилатциклаза или фосфолипаза С

остаются в активированном состоянии дольше и обеспечивают проведение более длительного сигнала. Ras-онкобелки обнаружены в 25% всех опухолей человека: в 90% карцином поджелудочной железы и более чем в 50% карцином прямой кишки.

В семейство ядерных онкогенов входят гены *jun*, *fos*, *mye*, *myb* и *erb A*. Онкобелки, образующиеся при экспрессии этих генов, связываются со специфическими последовательностями на ДНК и функционируют как транскрипционные факторы.

При слиянии нормальных клеток с опухолевыми возникают гибридные клетки, не обладающие злокачественностью. Из этого был сделан вывод о том, что в нормальных клетках присутствуют гены, белковые продукты которых сдерживают репликативный потенциал клеток и предотвращают развитие опухолей. Эти гены получили название генов-супрессоров опухолей, или антионкогенов. В ходе злокачественной трансформации функции этих генов утрачиваются, нарушая контроль за клеточной пролиферацией. В настоящее время описано более 10 генов-супрессоров опухолей (*rbl*, *p53*, *p21*, *p16*, *p15*, *wil* и др.), которые кодируют регуляторные белки, ингибирующие аномальный рост и трансформацию клеток.

Продуктом гена *rbl* является ядерный белок, участвующий в регуляции вступления клетки из фазы покоя G_0 в фазу подготовки к синтезу ДНК G_1 , и прохождения проверочной точки G/S. В дефосфорилированной форме он может связываться и инактивировать транскрипционный фактор E2F, усиливающий экспрессию рост-стимулирующих белков и ферментов. В нормальных клетках при вступлении в S-фазу белок Rbl фосфорилируется и перестает тормозить продвижение клетки по клеточному циклу.

Ген *p53* кодирует ядерный фосфопротеин, который препятствует вхождению клеток в S-фазу, амплификации и мутациям ДНК. Основной его функцией является клеток, имеющих повреждения в ДНК, в фазах G_1 и G_2 , пока эти повреждения не будут устранены. Если репарирующие системы не способны устранить дефекты в структуре ДНК, то он обеспечивает включение механизма апоптоза, уничтожающего повреждённую клетку. P53 усиливает транскрипцию гена *p21*, кодирующего белок P21 (ингибитор большинства циклин-зависимых киназ), в результате которого продвижение по клеточному циклу, рост и деление клетки тормозятся. Наряду с этим P53 усиливает транскрипцию гена *gadd45*, белковый продукт которого стимулирует репаративные процессы.

К P53 чувствительны 2 гена *bcl2* и *bax*, кодирующие белки, регулирующие апоптоз. Присоединение P53 к регуляторным участкам генов *bcl2* и *bax* активирует апоптоз, при этом экспрессия антиапоптотического гена *bcl2* снижается, а проапоптотического гена *bax* увеличивается. При этом ускоряется разрушение потенциально опасных клеток, которые повреждены и способны трансформироваться. Наряду с этим P53 увеличивает экспрессию гена, кодирующего белок тромбоспондин, препятствующий ангиогенезу и метастазированию

опухолей. Поэтому Р53 называют «хранителем» здоровья клеток, или «молекулярным полицейским».

Механизмы неопластической трансформации

В регуляции роста и дифференцировки клеток принимают участие более 100 различных генов и около 10 генов-супрессоров опухолей. Злокачественная трансформация не является результатом единичного события, а является многоступенчатым процессом. В настоящее время выявлено пять основных механизмов превращения протоонкогенов в онкогены:

- **включение в геномную ДНК новых промоторов;**
- **появление новых энхансерных последовательностей;**
- **амплификация генов;**
- **точечные мутации;**
- **хромосомные транслокации.**

На основании сравнения характерных хромосомных кариотипов, онкогенов, генов-супрессоров опухолей и уровня метилирования ДНК в образцах неизменённой ткани прямой кишки, аденом разного размера, карцином и метастазов рака прямой кишки была предложена модель многоступенчатого канцерогенеза. Развитию рака предшествуют 5-7 мутаций в онкогенах и генах-супрессорах опухолей, гипометилирование ДНК и нарушения в работе ДНК-репарирующих систем. К ранним событиям этого процесса относят мутации в гене-супрессоре опухолей, локализованном в хромосоме 5. На ранних стадиях процесса происходит снижение уровня метилирования ДНК и активация *ras*-онкогена на хромосоме 12, которые способствуют росту аденом. Дефекты в работе репарирующих систем, утрата или инактивация генов-супрессоров опухолей вызывают появление генетической нестабильности и озлокачествление опухоли. При этом последовательность изменений не существенна, важнее общее накопление изменений в геноме. Дедифференцировка и продолжающееся накопление мутаций сообщают опухолевым клеткам способность к инвазии и метастазированию.

Доброкачественные опухоли иногда могут расти быстро и достигать больших размеров, но они не метастазируют. Первоначально опухолевые клетки образуют клон генетически идентичных (моноклональных) клеток. Потомки этих клеток начинают изменяться как генетически, так и фенотипически, увеличивая отклонений от нормы. При достижении массы опухолевых клеток 2 мм, клетки начинают секретировать белковые факторы, стимулирующие рост соединительной ткани (необходима для окружения опухоли) и васкулярные клетки, индуцирующие ангиогенез (ключ к прогрессированию опухоли), создавая условия для роста и инвазии.

В метастазирующих клетках изменяется состав мембранных белков. В связывании клеток с коллагеном участвуют **белки-интегрины**, а с другими компонентами межклеточного матрикса и базальными мембранами - **фибронектин и ламинины**. В большинстве опухолей снижено количество

фибронектина и синтезируются модифицированные интегрины, которые помогают инвазивным клеткам мигрировать через соединительную ткань и стенку капилляров.

Инвазия — активный процесс, включающий стадии, в которых опухолевая клетка:

- проходит через межклеточный матрикс, достигая кровеносного или лимфатического сосуда;
- преодолевает стенку сосуда и поступает в кровеносное русло или лимфу;
- циркулирует с током крови в виде надмолекулярных комплексов с белками и клетками крови;
- прикрепляется к стенке сосуда и повторяет процесс в обратном направлении, продвигаясь на 2—3 клеточных диаметра в инвазируемую ткань;
- закрепляется и начинает формировать новую опухоль.

Выполнение этих функций участвуют коллагеназы, гепаразы, катепсины, плазины, семейство протеиназ, синтезируемые метастазирующими клетками и окружающими опухолевую ткань фибробластами. Отделившиеся опухолевые клетки продвигаются к кровеносному сосуду, проталкиваются между эндотелиальными клетками и выходят в кровоток. Они транспортируются по крови в виде комплексов с тромбоцитами, миграционными факторами и фрагментами межклеточного матрикса, которые маскируют их от иммунологического надзора и обеспечивают прикрепление к базальной мембране в органах-мишенях. Углеводы, выступающие на поверхность опухолевых клеток, связываются с селектином рецепторов эндоте-лиальных клеток и клетка окончательно прикрепляется к стенке сосуда с помощью интегринов. Они обладают тропностью к тканям.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ И ЛЕЧЕНИЯ РАКА

Опухолевыми маркёрами (ОМ) называют соединения (белки, биологически активные пептиды, гормоны, ферменты и метаболиты), которые синтезируются раковыми клетками, либо клетками нормальных тканей в ответ на развитие рака. ОМ обнаруживают в крови или других биологических жидкостях организма и используют для скрининга населения на носительство опухоли, как прогностический фактор, для оценки состояния пациента в клинической стадии и мониторинга в ходе лечения, а также в целях обнаружения рецидивов болезни. Согласно современной классификации ОМ делят на три основные группы:

- первичные опухолево-ассоциированные;
- вторичные, продуцируемые опухолью (специфические и неспецифические);
- вторичные, индуцируемые опухолевым процессом.

Эта классификация не лишена недостатков, так как одно и то же соединение может синтезироваться клетками опухоли и вырабатываться нормальными клетками органа в ответ на опухолевую инвазию.

Онкофетальные белки. К ним относится карциноэмбриональный антиген (КЭА). Определение этого ОМ наиболее часто проводят для диагностики рака прямой кишки и в слежении за состоянием больного в постоперационном периоде. После полного и удачного удаления опухоли концентрация КЭА снижается. Последующее повышение значений этого показателя у оперированных больных указывает на рецидив болезни и высокую вероятность метастазов. **α -Фетопротеин (а-ФП).** У взрослого человека его концентрация составляет лишь 20 нг/мл. Концентрация а-ФП повышается в крови при развитии рака печени, поэтому его определение используют для диагностики и в дальнейшем для оценки эффективности лечения.

В качестве опухолевых маркёров часто используют хорионический гонадотропин, плацентарную щелочную фосфатазу и некоторые другие плацентарные белки. В норме они не обнаруживаются вовсе или содержатся в ничтожных концентрациях. При беременности гормон начинает синтезироваться и секретироваться в кровь, достигая максимальных значений к 12 нед (тест на беременность). Затем его содержание медленно снижается и остаётся на очень низком уровне до и после родов. При опухолях яичников и семенников концентрация гормона повышается.

В качестве ОМ используют также дифференцировочные антигены, которые представляют собой органо- или опухолеспецифические гликопротеины лимфоцитов (тканевый полипептидный антиген, тканевый полипептидный специфический антиген и другие), определяющиеся в крови с помощью моноклональных антител.

Для рака предстательной железы в качестве ОМ наиболее чувствителен простатоспецифический антиген PSA. Он практически не определяется у женщин, у мужчин в норме ниже 2 нг/мл, но существенно возрастает в злокачественных и доброкачественных опухолях предстательной железы.

Гормоны и их рецепторы (эстрогены и андрогены, паратгормон, кальцитонин, гормон роста, инсулин, глюкагон, АКТГ, катехоламины, серотонин) являются ОМ гормонпродуцирующих органов. Их определение широко используют в клинической практике. Также определяют рецепторы гормонов. Для больных раком молочной железы важнейшим фактором прогноза дальнейшего течения болезни является определение рецепторов эстрогенов и прогестерона. Присутствие рецепторов позволяет в большом проценте случаев (50-75%) получить положительные результаты при лечении антиэстрогеном тамоксифеном и увеличивает выживаемость.

Некоторые ферменты и белки используют для диагностики и контроля за эффективностью терапии. Так, при различных морфологических вариантах рака лёгкого наиболее перспективным является определение нейронспецифической енолазы и растворимого фрагмента цитокератина —

структурного компонента цитоскелета эпителия бронхов. Высокая активность в биопсийном материале катепсина D свидетельствует о высоком метастатическом потенциале опухоли и коррелирует с низкой выживаемостью онкологических больных. Другим ОМ, свидетельствующим о неблагоприятном течении болезни, является высокая активность сериновой протеазы — активатора плазминогена урокиназного типа. Этот фермент катализирует образование пламина, который участвует в активации металлопротеаз и способствует развитию инвазивных процессов и метастазирования.

К лечебным мероприятиям прибегают при обнаружении опухоли или на более поздних стадиях, используя химио-, радиотерапию и симптоматическое лечение. Важное условие успешного лечения — радикальное хирургическое удаление опухоли. Тактика лечения должна удовлетворять двум основным требованиям: оказывать **цитостатический** (предотвращающий пролиферацию) и **цитотоксический** (уничтожающий опухолевые клетки) **эффекты**. Однако химиотерапия прекращает синтез ДНК и клеточное деление по механизмам, общим для всех клеток, отсюда её токсичность и многочисленные побочные эффекты на здоровые, быстро пролиферирующие клетки: фолликулы волос, клетки кроветворной системы и кишечника. Успешность лечения связана с большей чувствительностью неопластических клеток к лекарствам по сравнению с нормальными, неизменёнными клетками и отражает компромисс между эффективностью в отношении опухоли и токсичностью для здоровых тканей. Лекарственные препараты, используемые в химиотерапии, включают ал-килирующие агенты (циклофосфан, цисплатин, карбоплатин и др.), повреждающие ДНК, антиметаболиты (метотрексат, 5-фторурацил и цитозинарабинозид), которые ингибируют синтез нуклеиновых кислот, антибиотики (доксорубин, карминомицин и рубомицин), гормоны (тамоксифен) и природные соединения (винкристин и винблестин), оказывающие разнообразные эффекты.

Несмотря на существенные успехи в области новых препаратов и подходов к лечению опухолей, химиотерапия во многих случаях остаётся малоэффективной. Главным фактором, ограничивающим успешность применения противоопухолевых средств, является лекарственная устойчивость, которая может быть:

- первичной и, следовательно, свойственной злокачественным клеткам до начала лечения определёнными препаратами;

- вторичной, которая развивается в ответ на введение лекарства.

Существуют разные механизмы возникновения МЛУ.

Некоторые биохимические механизмы лекарственной устойчивости, обнаруженные в опухолевых клетках, вызваны:

- снижением накопления препарата в клетках;
- появлением альтернативных путей метаболизма лекарства;
- изменением структуры клеток-мишеней для данного препарата;

•• **ослаблением апоптоза** — процесса запрограммированной гибели клеток, с помощью которого из организма удаляются изменённые клетки.

• **Мембранный транспорт и Р-гликопротеины**

Направленная доставка лекарств в клетки-мишени основана на разной экспрессии мембранных антигенов (рецепторов ФР, карциноэмбрионального антигена и антител) на поверхности опухолевых и нормальных клеток. Количество таких белков на плазматической мембране раковых клеток сильно увеличено по сравнению с нормальными клетками. Лиганды к этим белкам используют для доставки либо фермента, катализирующего превращение пролекарства на поверхности опухолевой клетки в активное лекарство, либо цитотоксического препарата, который благодаря этим белкам поступает в клетку-мишень по механизму эндо-цитоза, не вызывая эффекта МЛУ.

Подавление ангиогенеза или образования новых кровеносных сосудов приводит к нарушению роста опухоли. Пролиферацию эндотелиальных клеток капилляров можно ингибировать, воздействуя недавно открытыми ингибиторами ангиогенеза: ангиостатином или тромбоспондином.

Генная терапия представляет собой направление по использованию генов для лечения наследственных и опухолевых заболеваний. Такой способ лечения становится всё более реальным благодаря достижениям генной инженерии, которые позволяют получать рекомбинантные ДНК, содержащие «лечебный» ген. Основная трудность состоит в разработке метода транспорта импортируемых генов в организм больного.

Глава 8

БИОХИМИЯ КРОВИ

Кровь – подвижная жидкая ткань, циркулирующая в замкнутой системе кровеносных сосудов, осуществляющая транспорт химических веществ, благодаря чему координирует метаболические процессы в различных клетках и межклеточных пространствах. Кровь в организме выполняет различные важные функции.

Функции крови:

1. **Дыхательная.** Кровь переносит газы: O_2 от легких к органам и тканям, а обратно CO_2 ;
2. **Трофическая.** Кровь доставляет органам и тканям питательные вещества
3. **Экскреторная.** Кровь уносит из тканей конечные продукты метаболизма: мочевину, мочевую кислоту и другие вещества, удаляемые из организма органами выделения.

4. **Коммуникативная.** Кровь переносит гормоны от места их синтеза к органам-мишеням;
5. **Транспортная.** Кровь транспортирует по организму воду и ионы;
6. **Терморегуляторная.** Кровь перераспределяет в организме тепловую энергию;
7. **Поддержание кислотно-основного равновесия.** Кровь содержит различные буферные системы, которые участвуют в поддержании кислотно-основного равновесия
8. **Защитная.** Кровь, с помощью неспецифического и специфического иммунитета, защищает организм от внешних и внутренних вредных факторов. Таким образом, кровь обеспечивает поддержание в организме гомеостаза.

Кровь состоит из плазмы и взвешенных в ней форменных элементов. На долю плазмы приходится около 55% от объема крови. Эритроциты составляют основную массу форменных элементов – 44% от общего объема крови, в то время как на долю других клеток приходится лишь около 1%. К последним относятся эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. Если свежесвзятую кровь оставить в стеклянной посуде при комнатной температуре (20 °С), то через определенное время образуется кровяной сгусток (тромб), после формирования которого останется жидкость желтого цвета - сыворотка крови. Она отличается от плазмы крови тем, что в ней нет фибриногена и некоторых белков (факторов) системы свертывания крови. Объем крови в норме составляет в среднем у мужчин 5200 мл, у женщин – 3900 мл. В норме относительная плотность цельной крови 1,050–1,064, плазмы – 1,024–1,030, клеток – 1,080–1,097. Кровь обладает значительной вязкостью благодаря высокому содержанию белка и эритроцитов. Вязкость крови в 4–5 раз выше вязкости воды.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ

Химический состав крови в норме относительно постоянен. Это обеспечивается наличием в организме особых регулирующих механизмов (ЦНС, гормональная система и др.), обеспечивающих взаимосвязь в работе

таких важных для жизнедеятельности органов и тканей, как печень, почки, легкие и сердечнососудистая система.

Состав плазмы крови:

1) 90 % - вода;

2) 10% - растворенные в плазме крови вещества, в том числе: 6-8 % - белки; 2 % - органические небелковые соединения; 1 % - неорганические соли.

Химический состав растворимых в плазме крови веществ

Группа	Вещество	В плазме
<i>Растворитель</i>	Вода	90-91%
<i>Сухой остаток</i>	Органические и неорганические вещества	9-10%
<i>Углеводы</i>	Глюкоза	4,22-5,6 ммоль/л
<i>Липиды</i>	Общие липиды	4-8 г/л
	Общий холестерин	<5,2 ммоль/л
	ТГ	0,50-2,10 ммоль/л
	Свободные ЖК	400- 800 мкмоль/л
	ЛПВП	0,9-1,9 ммоль/л
	ЛПНП	<2,2 ммоль/л
	Коэфф. атерогенности	До 3 ед.
<i>Белки</i>	Общий белок	70-90 г/л, 7%
	альбумины	54-62 %
	глобулины	33,5-43,5%

	α 1-глобулины	2,5-5,0%
	α 2-глобулины	5,1-9,2%
	β -глобулины	8,1-12,2%
	γ -глобулины	12,8-19,0%
Ферменты	АСТ	до 40 МЕ
	АЛТ	до 30 МЕ
	Креатинкиназа	до 6 МЕ (по креатину)
	Липаза	0-28 МЕ
	Кислая фосфатаза	до 10 МЕ
	Щелочная фосфатаза	до 120 МЕ
	ЛДГ	до 460 МЕ
Низкомолекулярные органические вещества	Лактат	0,99-1,75 ммоль/л
	Креатинин	50-115 мкмоль/л
	Мочевина	2,5-6,4 ммоль/л
	Мочевая кислота	муж 214-458 мкмоль/л
		жен 149-404 мкмоль/л
	Аминокислоты	48-68мг/л
	Общий билирубин	8,5-20,5 мкмоль/л
	Прямой билирубин	0-5,1 мкмоль/л
	Непрямой билирубин	До 16,5 мкмоль/л
Минеральные вещества		0,9%

	Натрий	135-152 ммоль/л
	Калий	3,6-6,3 ммоль/л
	Кальций	2,2-2,75 ммоль/л
	Магний	0,7-1,2 ммоль/л
	Хлориды	95-110 ммоль/л
	Неорганич. Фосфаты	0,81-1,55 ммоль/л
	Общая углекислота	22,2-27,9 ммоль/л
	Железо	муж. 8,95-28,65 мкмоль/л
		жен 7,16-26,85 мкмоль/л
	Медь	муж 11-22 мкмоль/л
		жен 11-24,4 мкмоль/л
Гормоны и медиаторы	Гормоны и медиаторы	
Растворенные газы	Капиллярная кровь pCO ₂	
	Венозная кровь pCO ₂	
	Капиллярная кровь pO ₂	
	Венозная кровь pO ₂	

Возрастные особенности состава крови

Показатель	Возраст						
	1 день	1 мес.	6 мес.	1 год	1-6 л	12 л	13-15 л
Нб, г/л	180-240	115-	110-	110-	110-140	110-	115-

		175	140	135		145	150
Er*10 ¹² /л	4,3-7,6	3,8-5,6	3,5-4,8	3,6-4,9	3,5-4,5	3,5-4,7	3,6-5,1
Лейкоциты *10 ⁹ /л	8,5-24,5	6,5-13,5	5,5-12,5	6,0-12	5-12	4,5-10	4-15
Тромбоциты *10 ⁹ /л	180-490	180-400	180-400	180-400	160-390	160-380	160-360

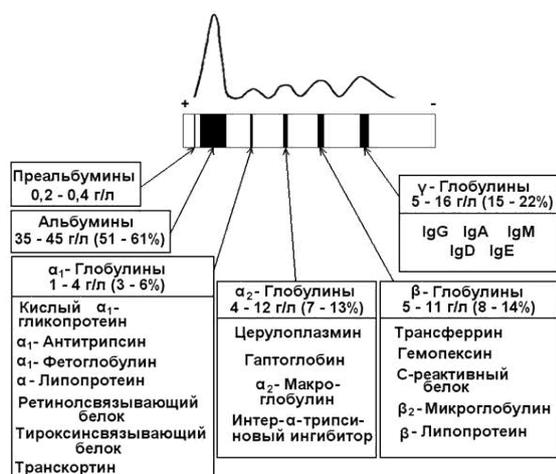
БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

В плазме крови открыто более 200 видов белков, которые составляют в среднем 7% объема плазмы. Белки плазмы крови синтезируются в основном в печени и макрофагах, а также в эндотелии сосудов, в кишечнике, лимфоцитах, почках, эндокринных железах. Разрушаются белки плазмы крови печенью, почками, мышцами и др. органами. Время полужизни белков плазмы крови составляет от нескольких часов до несколько недель.

Методом высаливания белки плазмы можно разделить на три фракции: альбумины, глобулины, фибриноген. Электрофорез на бумаге позволяет разделить белки плазмы крови на шесть фракций:

1. Альбумины - 54-62 %.
2. Глобулины: альфа₁-глобулины 2,5-5 %.
3. альфа₂-глобулины 5,1-9,2 %.
4. бетта-глобулины 8,1-12,2 %.
5. гамма-глобулины 12,8-19,0 %..
6. фибриноген (остается на старте) - от 2 до 4 %

Электрофорез – это метод, при котором вещества с различным зарядом и массой, разделяются в постоянном электрическом поле. Электрофорез проводят на различных носителях, при этом получают разное количество фракций. Современные методы позволяют получить свыше 60 индивидуальных белков плазмы крови.



Электрофореграмма белков сыворотки крови и состав белковых фракций.

- ФУНКЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ
-

Многообразие белков крови сводится к тому, что они обладают многочисленными функциями:

1. Поддерживают постоянство коллоидно-осмотического давления крови.
2. Участвуют в регуляции кислотно-основного состояния.
3. Удерживают в связанном состоянии и транспортируют катионы кальция, магния, железа, меди и другие ионы, препятствуя их потере с мочой.
4. Связывают и транспортируют углеводы, липиды, гормоны, лекарства, витамины, токсичные вещества.

5. Определяют вязкость крови и сохраняют устойчивость эритроцитов и лейкоцитов в кровотоке, обеспечивают нормальный кровоток в капиллярах (реологические свойства крови).
6. Специализированные белки участвуют в свертывании крови (фибриноген, протромбин, антигемофильный глобулин и др.).
7. Обеспечивают иммунную защиту организма (иммуноглобулины, факторы системы комплемента, трансферрин и пропердин).
8. Являются резервом аминокислот.

СТРОЕНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

По строению белки плазмы крови являются глобулярными, по составу они делятся на простые и сложные. Простые белки представлены альбуминами. Среди сложных, можно выделить липопротеины (ХМ, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП), гликопротеины и металлопротеины (трансферрин, церрулоплазмин).

Общее количество белка в плазме крови в норме составляет 70-90 (60-80) г/л. Повышение общего количества белка в плазме крови называется **гиперпротеинемия**, снижение – **гипопротеинемия**. Гиперпротеинемия возникает при дегидратации (относительная), травмах, ожогах, миеломной болезни (абсолютная). Гипопротеинемия наступает при спаде отеков (относительная), голодании, патологии печени, почек, кровопотере (абсолютная). **Диспротеинемия** – изменение процентного соотношения белковых фракций на фоне нормального содержания общего белка в плазме крови, например, снижение содержания альбуминов и увеличение содержания одной или нескольких глобулиновых фракций при различных воспалительных заболеваниях. **Парапротеинемия** – появление в плазме крови патологических иммуноглобулинов – парапротеинов. К таким белкам относятся, например, **криоглобулины**. Во фракции α -глобулинов может появиться α -фетоглобулин, карциноэмбриональный антиген.

α-Фетоглобулин — один из фетальных антигенов, которые циркулируют в крови примерно у 70% больных с первичной гепатомой. Этот антиген выявляется также у пациентов с раком желудка, предстательной железы и примитивными опухолями яичка. Исследование крови на наличие в ней α-фетопротеина полезно для диагностики гепатом.

Карциноэмбриональный антиген (КЭА) — гликопротеид, опухолевый антиген, характерный в норме для кишечника, печени и поджелудочной железы плода. Антиген появляется при аденокарциномах органов ЖКТ и поджелудочной железы, в саркомах и лимфомах, также обнаруживается при целом ряде неопухолевых состояний: при алкогольном циррозе печени, панкреатите, холецистите, дивертикулите и язвенном колите.

ФРАКЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

I. Альбумины— белки с молекулярной массой около 70000 Да. Основным белком этой фракции является альбумин. Значение альбумина в крови заключается: 1). ***Транспортная функция.*** Альбумин транспортирует свободные жирные кислоты, желчные кислоты, неконъюгированный билирубин, Ca^{2+} , Cu^{2+} , триптофан, гормоны (тироксин и трийодтиронин, альдостерон, прогестерон, гидрокортизон), витамины. Многие лекарства (дигоксин, барбитураты, пенициллин, ацетилсалициловая кислота, сердечные гликозиды, дикумарол, сульфаниламиды) связываются в крови с альбумином. Этот факт необходимо учитывать при лечении заболеваний, сопровождающихся гипоальбуминемией, так как в этих случаях повышается концентрация свободного лекарства в крови. Кроме того, следует помнить, что некоторые лекарства могут конкурировать за центры связывания в молекуле альбумина с билирубином и между собой.

2). ***Поддержание коллоидно-осмотического давления.*** Благодаря относительно небольшой молекулярной массе и высокой концентрации альбумин обеспечивает до 80% осмотического давления плазмы. Молекула альбумина содержит много дикарбоксильных аминокислот, благодаря этому

в плазме крови удерживаются положительно заряженные ионы Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , главным образом Na^+ , и таким способом создается значительная часть осмотического давления крови. Около 40% альбумина содержится в крови и остальные 60% в межклеточной жидкости, однако его концентрация в плазме выше, чем в межклеточной жидкости, поскольку объём последней превышает объём плазмы в 4 раза.

Альбумин из крови поступает в межклеточную жидкость, из которой по лимфатической системе вновь возвращается в кровь. При увеличении проницаемости капилляров альбумин в большем количестве выходит в межклеточную жидкость. Так как осмотическое давление не может быть разным в разных частях тела, вместе с альбумином и компенсирующими его заряд ионами Na^+ из крови в межклеточное пространство уходит вода. При уменьшении концентрации альбумина осмотическое давление плазмы крови снижается. Это приводит к нарушению равновесия в распределении внеклеточной жидкости между сосудистым руслом и межклеточным пространством. Клинически это проявляется как отёк. При нарушениях кровообращения, приводящим к замедлению тока крови, (болезни сердца, тромбозы, расширение вен) также усиливается выход альбумина в межклеточное пространство. Поскольку в этих случаях реакции происходят медленно, уменьшение объёма крови компенсируется действием ренин-ангиотензин-альдостероновой системы восстановления объёма крови. В этих случаях появляется жажда, однако потребляемая вода вновь уходит из крови в межклеточное пространство, что приводит к возникновению отеков. Концентрация альбумина в крови может снижаться и, следовательно, приводить к отекам также вследствие его выделения с мочой при заболевании почек (альбуминурия). Поскольку печень человека синтезирует и выделяет в кровь 10-15 г альбумина в сутки, то отеки могут происходить также при некоторых болезнях печени (например, при циррозе) когда нарушается синтез альбумина. Если увеличение проницаемости капилляров происходит быстро (тяжелые травмы и ожоги), то объём крови

резко уменьшается, кровяное давление также резко падает -развивается шоковое состояние.

3). Альбумины также служат богатым и быстро реализуемым резервом аминокислот.

II. α 1-Глобулины:

- **Кислый α 1-гликопротеин (орозомукоид)**– содержит до 40% углеводов, изоэлектрическая точка его находится в кислой среде (2,7). Функция этого белка до конца не установлена; известно, что на ранних стадиях воспалительного процесса орозомукоид способствует образованию коллагеновых волокон в очаге воспаления.
- **α 1-Антитрипсин** (α 1-протеиназный ингибитор), гликопротеин, образуется в печени, белок острой фазы, является ингибитором протеиназ (трипсина, химотрипсина, калликрейна, плазмина, эластазы лейкоцитов) и обуславливает 92-94% от общей антипротеолитической функции крови. Концентрация возрастает при воспалительных процессах, злокачественных образованиях, при действии гормонов (беременность, стероидная терапия), системной красной волчанке. Снижается количество белка при эмфиземе легких, хроническом аутоиммунном гепатите (ювенильный цирроз).
- **Ретинолсвязывающий белок** - осуществляет транспорт жирорастворимого витамина А.
- **Тироксинсвязывающий белок**– связывает и транспортирует йодсодержащие гормоны щитовидной железы.
- **Транскортин**– связывает и транспортирует глюкокортикоидные гормоны (кортизол, кортикостерон).
- **Орозомукоид** - (кислый α 1-гликопротеин) является белком острой фазы и синтезируется в печени. Функцией является связывание стероидов (прогестерон, тестостерон) и лекарств (пропранолол и лидокаин). Повышение уровня белка в крови отмечается при лихорадке, острых и хронических воспалительных процессах, ревматоидном артрите, злокачественных опухолях, травмах, инфаркте миокарда, беременности.

Вместе с гаптоглобином является хорошим индикатором гемолиза. Снижение уровня белка отмечается при нефротическом синдроме без воспаления.

III. α 2-Глобулины:

- **Гаптоглобины**(25% α 2-глобулинов) типичный представитель белков острой фазы, синтезируется в печени и в низких концентрациях присутствует во многих жидкостях организма – ликворе, лимфе, синовиальной жидкости, желчи. Образуют стабильный комплекс с гемоглобином, появляющимся в плазме в результате внутрисосудистого гемолиза эритроцитов. Комплексы гаптоглобин-гемоглобин поглощаются клетками РЭС, где гем и белковые цепи подвергаются распаду, а железо повторно используется для синтеза гемоглобина. Тем самым предотвращается потеря железа организмом и повреждение почек гемоглобином.

Церулоплазмин– белок, содержащий ионы меди (одна молекула церулоплазмينا содержит 6-8 ионов Cu^{2+}), которые придают ему голубую окраску. Это белок острой фазы, содержит 90% всей меди плазмы и способствует насыщению железом апотрансферрина, участвует в обмене биогенных аминов (адреналина, норадреналина, серотонина) и аскорбиновой кислоты. Является транспортной формой ионов меди в организме. Обеспечивает связывание железа трансферрином, окисляет ароматические амины, участвует в обмене адреналина, норадреналина, серотонина.

IV. β -Глобулины:

ЛПОНП - образуются в печени. Транспортируют ТГ, ХС.

ЛППП - образуются в крови из ЛПОНП. Транспортируют ТГ, ХС.

ЛПНП – образуются в гепатоцитах *de novo* и в сосудистой системе печени под воздействием печеночной ТАГ-липазы из ЛПОНП. В плазме 3,2-4,5 г/л. Транспортируют холестерол в клетки, использующие его для реакций синтеза половых гормонов (половые железы), глюко- и минералокортикоидов (кора надпочечников), холекальцеферола (кожа).

ЛПВП - Транспорт свободного ХС от тканей к печени. В плазме 0,5-1,5 г/л.

Фракция β -глобулинов содержит трансферрин, гемопексин, компоненты комплемента. **Трансферрин** – главный белок β -глобулиновой фракции, участвует в связывании и транспорте трёхвалентного железа в различные ткани, особенно в кроветворные. Трансферрин регулирует содержание Fe^{3+} в крови, предотвращает избыточное накопление и потерю с мочой.

Гемопексин – связывает гем и предотвращает его потерю почками.

С-реактивный белок (С-РБ – белок, способный преципитировать (в присутствии Ca^{2+}) С-полисахарид клеточной стенки пневмококка. Биологическая роль его определяется способностью активировать фагоцитоз и ингибировать процесс агрегации тромбоцитов. У здоровых людей концентрация С-РБ в плазме ничтожно мала и стандартными методами не определяется. При остром воспалительном процессе она увеличивается более чем в 20 раз, в этом случае С-РБ об-наруживается в крови.

V. γ -Глобулины:защитные белки плазмы крови.

К белкам, выполняющим защитную функцию, относятся иммуноглобулины и интерфероны. **Имуноглобулины**(антитела) - группа белков, вырабатываемых в ответ на попадание в организм чужеродных структур (антигенов). Они синтезируются в лимфоузлах и селезёнке лимфоцитами В. Выделяют 5 классов **иммуноглобулинов** - IgA, IgG, IgM, IgD, IgE.. .

- **Интерфероны** - это гликопротеины. Имеют молекулярную массу около 26 кДа. Обладают видовой специфичностью. Вырабатываются в клетках в ответ на внедрение в них вирусов. У здорового человека их концентрация в плазме мала. Но при вирусных заболеваниях концентрация увеличивается.Интерфероны синтезируются и секретируются одними клетками и проявляют свой эффект, воздействуя на другие клетки, в этом отношении они подобны гормонам.

БЕЛКИ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ.

Понятие "белки острой фазы" объединяет до 30 белков плазмы крови, участвующих в реакции воспалительного ответа организма на повреждение. Белки острой фазы синтезируются в печени, их концентрация существенно изменяется и зависит от стадии, течения заболевания и массивности повреждения. К белкам острой фазы относят С-реактивный белок, сывороточный амилоид А, гаптоглобин, α_2 -макроглобулин, церулоплазмин, α_1 -гликопротеин, α_1 -антитрипсин, орозомукоид, компоненты комплемента С1-С4, С9. Трансферрин также относят к белкам острой фазы, но его концентрация при воспалениях снижается – негативный белок. Увеличение концентрации белков острой фазы в крови является хорошим индикатором не только явного, но и скрытого воспаления (например, атеросклероз). Скорость синтеза этих белков увеличивается прежде всего за счёт снижения образования альбуминов, трансферрина, концентрация которых при остром воспалении снижается.

Биологическая роль белков острой фазы: а) все эти белки являются ингибиторами ферментов, освобождаемых при разрушении клеток, и предупреждают вторичное повреждение тканей; б) эти белки обладают иммуно-депрессорным действием. Выделяют 5 групп белков острой фазы:

1. К «главным» белкам острой фазы у человека относят **С-реактивный белок** (СРВ) и **амилоидный А белок** сыворотки крови. Уровень этих белков возрастает при повреждении очень быстро (в первые 6-8 часов) и значительно (в 20-100 раз, в отдельных случаях - в 1000 раз).

2. Белки, концентрация которых при воспалении может увеличиваться в 2-5 раз в течение 24 часов. Это **кислый α_1 -гликопротеид, α_1 -антитрипсин, фибриноген, гаптоглобин.**

3. Белки, концентрация которых при воспалении или не изменяется или повышается незначительно (на 20-60% от исходного). Это **церулоплазмин, С3-компонент комплемента.**

4. Белки, участвующие в острой фазе воспаления, концентрация которых, как правило, остается в пределах нормы. Это ***α 1-макроглобулин, гемопексин, амилоидный Р белок сыворотки крови, иммуноглобулины.***

5. Белки, концентрация которых при воспалении может снижаться на 30-60%. Это ***альбумин, трансферрин, ЛПВП, преальбумин.*** Уменьшение концентрации отдельных белков в острой фазе воспаления может быть обусловлено снижением синтеза, увеличением потребления, либо изменением их распределения в организме.

ОСОБЕННОСТИ КОЛИЧЕСТВА БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ У ДЕТЕЙ

У новорожденных содержание общего белка в сыворотке крови значительно ниже, чем у взрослых, и становится минимальной к концу первого месяца жизни (48 г/л). Ко второму третьему годам жизни общий белок повышается до уровня взрослых. В течение первых месяцев жизни концентрация глобулиновых фракций низка, что приводит к относительной гиперальбуминемии до 66-76%. Между вторым и двенадцатым месяцами возникает временное превышение концентрацией α 2-глобулинов до взрослого уровня. Количество фибриногена при рождении гораздо ниже, чем у взрослых (около 2,0 г/л), но к концу первого месяца достигает обычной нормы.

ФЕРМЕНТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Ферменты, находящиеся в плазме крови, можно разделить на 3 основные группы:

1. ***Секреторные -истинно плазменные ферменты.*** Они синтезируются в печени, эндотелии сосудов кишечника, поступают в кровь, где выполняют свои функции. Например, ферменты свертывающей и противосвертывающей системы крови (тромбин, плазмин), ферменты обмена липопротеинов

(ЛХАТ, ЛПЛ). Снижение активности этих ферментов в плазме будет свидетельствовать о снижении синтетической способности клеток или о накоплении ингибиторов в плазме крови.

2. Тканевые или индикаторные ферменты (ферменты клеточного метаболизма)- синтезируются в различных тканях и попадают в кровь при разрушении клеток этих тканей. В разных клетках преобладают различные ферменты, поэтому при повреждении того или иного органа в крови появляются характерные для него ферменты. Это может быть использовано в диагностике заболеваний. Например, при повреждении клеток печени (*гепатит*) в крови возрастает активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), изофермента лактатдегидрогеназы ЛДГ5, глутаматдегидрогеназы, орнитинкарбамоилтрансферазы. При повреждении клеток миокарда (*инфаркт*) в крови возрастает активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), изофермента лактатдегидрогеназы ЛДГ1, изофермента креатинкиназы МВ. При повреждении клеток поджелудочной железы (*панкреатит*) в крови возрастает активность трипсина, α -амилазы, липаз.

3. Экскреторные. Ферменты, секретируемые в выводные протоки желчных путей, панкреатические и слюнные протоки. В норме активность таких ферментов в плазме намного ниже, чем в клетках и имеет постоянное значение (α -амилаза, липаза поджелудочной железы, лейцинаминопептидаза, щелочная фосфатаза и др.). Изучение активности этих ферментов позволяет судить о функционировании соответствующего органа. К настоящему времени еще не полностью выяснены механизмы, регулирующие поступление данных ферментов в протоки.

ПРИЧИНЫ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В КРОВИ

Обычно, степень изменения активности ферментов клеточного метаболизма в сыворотке крови зависит от распределения ферментов между тканями, локализации ферментов во внутриклеточных органеллах и др.

Повышение активности в сыворотке крови может быть результатом ускорения процессов:

- *синтеза*– щелочная фосфатаза при рахите, гепатите,
- *некроза клеток*– АлАТ, АсАТ, ЛДГ, КК при инфаркте миокарда, кислая фосфатаза при аденоме простаты, липаза, амилаза при панкреатитах,
- *понижения выведения*– щелочная фосфатаза при желчнокаменной болезни,
- *повышения проницаемости клеточных мембран*– АлАТ, АсАТ, ЛДГ при гепатите.

Снижение активности вызывается:

- уменьшением числа клеток, секретирующих фермент(холинэстераза при циррозе печени),
- недостаточностью синтеза,
- увеличением выведения фермента,
- торможением активности в результате действия протеиназ.

Определенное диагностическое значение имеет выявление соотношений между изменением активности отдельных ферментов (ферментный спектр крови). При этом удается установить достоверные ферментные симптомы отдельных заболеваний.

Например:

- острые гепатиты характеризуются резким увеличением активности аланин- и аспаратаминотрансфераз и альдолазы,
- инфаркт миокарда сопровождается увеличением активности лактатдегидрогеназы, креатинкиназы, аспаратаминотрансферазы,

- при механических желтухах имеет местоповышение содержания щелочной фосфатазы без заметного увеличения активности аминотрансфераз и альдолазы.

НЕБЕЛКОВЫЕ АЗОТИСТЫЕ КОМПОНЕНТЫ КРОВИ (ОСТАТОЧНЫЙ АЗОТ).

К этой группе веществ относятся: мочевина, мочевая кислота, аминокислоты, креатин, креатинин, аммиак, индикан, билирубин и другие соединения (см. рисунок 5). Содержание остаточного азота в плазме крови здоровых людей - 15-25 ммоль/л. Повышение содержания остаточного азота в крови называется *азотемией*. В зависимости от причины, азотемия подразделяется на ретенционную и продукционную. **Продукционная азотемия** развивается при избыточном поступлении азотистых веществ в кровь вследствие усиленного распада тканевых белков (длительное голодание, сахарный диабет, тяжёлые ранения и ожоги, инфекционные заболевания). **Ретенционная азотемия** возникает при нарушении выведения продуктов азотистого обмена (в первую очередь мочевины) с мочой и характерна для недостаточности функции почек.

Мочевина - главный конечный продукт обмена белков в организме человека. Образуется в результате обезвреживания аммиака в печени, выводится из организма почками. Содержание мочевины в крови снижается при заболеваниях печени и возрастает при почечной недостаточности.

Аминокислоты - поступают в кровь при всасывании из желудочно-кишечного тракта или являются продуктами распада тканевых белков. В крови здоровых людей среди аминокислот преобладают аланин и глутамин.

Мочевая кислота - конечный продукт катаболизма пуриновых нуклеотидов. Содержание её в крови возрастает в результате усиленного образования (при подагре) или из-за недостаточного выведения (при нарушениях функции почек).

Креатин- синтезируется в почках и печени, в мышцах превращается в креатинфосфат. Это макроэргическое соединение, которое используется как источник энергии для процессов мышечного сокращения. При заболеваниях мышечной системы содержание креатина в крови значительно возрастает.

Креатинин- конечный продукт азотистого обмена, образуется в результате дефосфорилирования креатинфосфата в мышцах, выводится из организма почками. При заболеваниях мышечной системы снижается в крови, при почечной недостаточности – повышается.

Индикан -продукт обезвреживания индола, образуется в печени, выводится почками. Содержание его в крови снижается при заболеваниях печени, повышается - при усилении процессов гниения белков в кишечнике, при заболеваниях почек.

Билирубин (прямой и непрямой) - продукты катаболизма гемоглобина. Содержание билирубина в крови увеличивается при желтухах: гемолитической (за счёт непрямого билирубина), обтурационной (за счёт прямого билирубина), паренхиматозной (за счёт обеих фракций).

БЕАЗОТИСТЫЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ КРОВИ.

В эту группу веществ входят питательные вещества (углеводы, липиды) и продукты их метаболизма (органические кислоты).

Глюкоза- главный энергетический субстрат организма. Содержание её у здоровых людей в крови натощак - 3,3 - 5,5 ммоль/л. Повышение содержания глюкозы в крови (*гипергликемия*) наблюдается после приёма пищи, при эмоциональном стрессе, у больных сахарным диабетом, гипертиреозом, болезнью Иценко-Кушинга и др. Снижение содержания глюкозы в крови (*гипогликемия*) наблюдается при голодании, интенсивных физических нагрузках, остром алкогольном отравлении, передозировке инсулина и др.

Холестерол- обязательный липидный компонент биологических мембран, предшественник стероидных гормонов, витамина D3, желчных кислот. Содержание его в плазме крови здоровых людей - 3,9 - 5,5 ммоль/л. Повышение содержания холестерина в крови (*гиперхолестеролемиа*)

наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, микседеме, желчно-каменной болезни. Снижение уровня холестерина в крови (*гипохолестеремия*) обнаруживается при гипертиреозе, циррозе печени, заболеваниях кишечника, голодании, при приёме желчегонных препаратов.

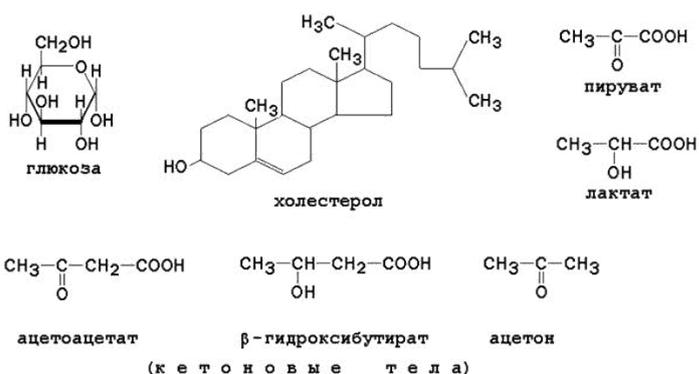
Свободные жирные кислоты (СЖК) используются тканями и органами в качестве энергетического материала. Содержание СЖК в крови повышается при голодании, сахарном диабете, после введения адреналина и глюкокортикоидов; снижается при гипотиреозе, после введения инсулина.

Кетоновые тела. К кетоновым телам относятся *ацетоацетат, β-гидроксибутират, ацетон*- продукты неполного окисления жирных кислот. Содержание кетоновых тел в крови повышается (*гиперкетонемия*) при голодании, лихорадке, сахарном диабете.

Молочная кислота (лактат)- конечный продукт анаэробного окисления углеводов. Содержание её в крови повышается при гипоксии (физические нагрузки, заболевания лёгких, сердца, крови).

Пировиноградная кислота (пируват)- промежуточный продукт катаболизма углеводов и некоторых аминокислот. Наиболее резкое повышение содержания пировиноградной кислоты в крови отмечается при мышечной работе и недостаточности витамина В1.

Безазотистые органические вещества плазмы крови.



МИНЕРАЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ.

Минеральные вещества являются необходимыми компонентами плазмы крови. Важнейшими катионами являются ионы натрия, калия, кальция и магния. Им соответствуют анионы: хлориды, бикарбонаты, фосфаты, сульфаты. Часть катионов в плазме крови связаны с органическими анионами и белками. Сумма всех катионов равна сумме анионов, так как плазма крови электронейтральна.

Натрий – основной катион внеклеточной жидкости. Его содержание в плазме крови 135 – 152 ммоль/л.

При *гипернатриемии*, как правило, развивается синдром, обусловленный гипергидратацией организма. Накопление натрия в плазме крови наблюдается при особом заболевании почек, так называемом паренхиматозном нефрите, у больных с врожденной сердечной недостаточностью, при первичном и вторичном гиперальдостеронизме.

Гипонатриемия сопровождается дегидратацией организма. Коррекция натриевого обмена достигается введением растворов хлорида натрия с расчетом дефицита его во внеклеточном пространстве и клетке.

Калий – является основным внутриклеточным катионом. В плазме крови он содержится в количестве 3,6-6,3 ммоль/л, а в эритроцитах – 73,5 – 112 ммоль/л. *Гиперкалиемия* наблюдается при острой почечной недостаточности и гипофункции коркового вещества надпочечников. Недостаток альдостерона приводит к усилению выделения с мочой натрия и воды и задержке в организме калия.

При усиленной продукции альдостерона корковым веществом надпочечников возникает *гипокалиемия*, при этом увеличивается выделение калия с мочой, которое сочетается с задержкой натрия в тканях. Развивающаяся гипокалиемия вызывает тяжелые нарушения в работе сердца, о чем свидетельствуют данные ЭКГ. Понижение содержания калия в сыворотке отмечается иногда при введении больших доз гормонов коркового вещества надпочечников с лечебной целью.

Кальций- в плазме крови содержится в виде связанного с белками (0,9 ммоль/л), ионизированного (1,25 ммоль/л) и неионизированного (0,35 ммоль/л). Отчетливое *повышение уровня кальция* в плазме крови наблюдается при развитии опухолей в костях, гиперплазии или аденоме паращитовидных желез. В таких случаях кальций поступает в плазму из костей, которые становятся ломкими.

Важное диагностическое значение имеет определение уровня кальция при *гипокальциемии*. Состояние гипокальциемии наблюдается при гипопаратиреозе, что может сопровождаться судорожными приступами (тетания). Понижение концентрации кальция в плазме отмечают также при рахите, обтурационной желтухе, нефрозах и гломерулонефритах.

Магний. В организме магний локализуется в основном внутри клетки – 15 ммоль/ на 1 кг массы тела; концентрация магния в плазме 0,7-1,2 ммоль/л, в эритроцитах – 2,4–2,8 ммоль/л. Мышечная ткань содержит магния в 10 раз больше, чем плазма крови. Уровень магния в плазме даже при значительных его потерях длительное время может оставаться стабильным, пополняясь из мышечного депо.

Фосфор. В клинике при исследовании крови различают следующие фракции фосфора: общий фосфат, кислоторастворимый фосфат, липоидный фосфат и неорганический фосфат. Для клинических целей чаще определяют содержание неорганического фосфата в плазме (сыворотке) крови. Уровень неорганического фосфата в плазме крови повышается при гипопаратиреозе, гипервитаминозе D, приеме тироксина, УФ-облучении организма, желтой дистрофии печени, миеломе, лейкозах и т.д.

Гипофосфатемия (снижение содержания фосфора в плазме) особенно характерна для рахита. Очень важно, что снижение уровня неорганического фосфата в плазме крови отмечается на ранних стадиях развития рахита, когда клинические симптомы недостаточно выражены. Гипофосфатемия наблюдается также при введении инсулина, гиперпаратиреозе, остеомалации, спру и некоторых других заболеваниях.

Железо. В цельной крови железо содержится в основном в эритроцитах (около 18,5 ммоль/л), в плазме концентрация его составляет: муж. 8,95-28,65 мкмоль/л; жен 7,16-26,85 мкмоль/л.

Хлориды содержатся в плазме крови в количестве 95 – 110 ммоль/л, участвуют в поддержании осмотического давления, кислотно-основного состояния внеклеточной жидкости.

Фосфаты в плазме крови являются компонентами буферной системы, их концентрация составляет 0,81 – 1,5 ммоль/л

Микроэлементы.

К ним относят йод, медь, цинк, кобальт, селен и др. Большинство микроэлементов в крови находится в связанном с белками состоянии. Так, медь плазмы входит в состав церрулоплазмина, цинк эритроцитов целиком связан с карбоангидразой (карбонатдегидратаза), 65–70% йода крови находится в органически связанной форме – в виде тироксина. В крови тироксин содержится главным образом в связанной с белками форме, белок носит название интеральфаглобулина. Кобальт, обнаруживаемый в крови, также находится в белково-связанной форме и лишь частично как структурный компонент витамина В₁₂. Значительная часть селена в крови входит в состав активного центра фермента глутатионпероксидазы, а также связана с другими белками.

ОБМЕН ЖЕЛЕЗА

Железо входит в состав гемсодержащих белков, а также металлофлавопротеинов, железосерных белков, трансферрина и ферритина. Железо, освобождающееся при постоянном распаде эритроцитов в клетках печени и селезенки, может повторно использоваться для синтеза железосодержащих белков. В организме человека содержится 3-4 г железа. Оно находится в 2х видах – клеточное железо и внеклеточное железо. Клеточное железо – входит в состав ферментных гемопротеидов (гемоглобин, миоглобин). Внеклеточное железо – это белки, которые

связывают железо и транспортируют его (трансферин, лактоферин).

Железо в организме находится в составе:

- примерно 70% всего железа (около 2/3 всего количества) в составе гемоглобина эритроцитов,
- примерно 20% всего железа в мышцах составе миоглобина,
- примерно 15% всего железа связанного с белком ферритином в селезенке, костном мозге, печени и селезенке,
- только около 1% железа находится в других внутриклеточных гемопroteинах (каталаза, цитохромы и др.) а также белках, содержащих негеминовое железое

Суточная потребность. Потребность организма в железе составляет в 5-6 раз больше необходимого количества для организма: чтобы всосалось 10 мг железа (это суточная потребность), нужно получить с пищей 50-60 мг железа в сутки. С пищей в сутки должно поступать для мужчин 10 мг, для женщин детородного возраста в связи с регулярной кровопотерей – 20 мг, у женщин при беременности 40-50 мг и при лактации – 30-40 мг.

Всасывание. Железо может всасываться в кишечнике в виде ионов Fe^{2+} , но они всасываются очень медленно. При попадании в желудок под действием HCl желудочного сока железо высвобождается из продуктов питания в форме трехвалентного железа. Всасывание происходит в тонком кишечнике в количестве около 1,0-2,0 мг/день (10-15% пищевого железа) в виде двухвалентного иона. Восстановление Fe^{3+} в Fe^{2+} происходит при участии аскорбиновой кислоты. Между организмом человека и микрофлорой кишечника существует конкуренция за Fe^{2+} . Только железо мясных продуктов находится в двухвалентной гемовой форме, и поэтому хорошо всасывается. Железо мясных продуктов усваивается на 20-30%, из яиц и рыбы – на 10-15%, из растительных продуктов – на 1-5%. Наличие в пище фитиновой кислоты (сухие завтраки, растительные продукты), кофеина и танина (чай, кофе, напитки), фосфатов, оксалатов (растительные продукты) ухудшает всасывание железа, т.к. образуются его нерастворимые комплексы.

Метаболизм железа. Поступление железа из энтероцитов в кровь зависит от скорости синтеза в них белка апоферритина. Апоферритин улавливает железо в клетках слизистой оболочки кишечника и превращается в ферритин, который остается в энтероцитах. Это снижает поступление железа в капилляры крови из клеток кишечника. Кроме того после всасывания железо сразу попадает в кровоток и в комплексе с трансферрином (Fe^{3+}) переносится в клетки печени, костного мозга или других тканей, где также связывается с ферритином. Вне связи с белками железо очень токсично, так как запускает свободно-радикальные реакции с образованием активных форм кислорода. Количество рецепторов трансферрина зависит от содержания железа в клетках и регулируется на уровне транскрипции гена белка-рецептора. При снижении содержания железа в клетках скорость синтеза рецепторов повышается, и наоборот .

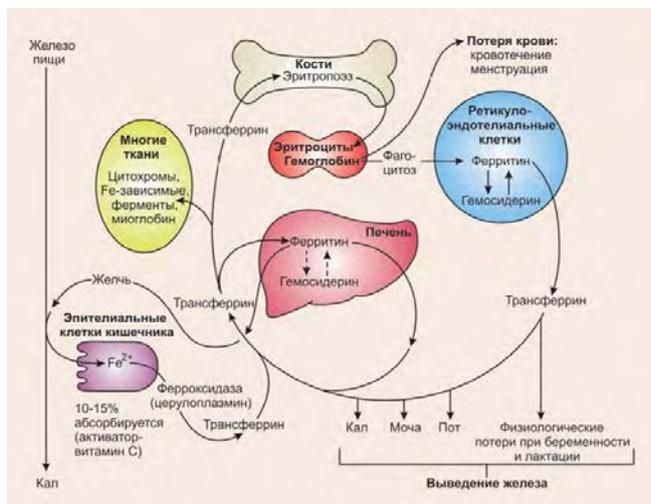


Рис Метаболизм железа.

Железо (Fe^{3+}) поступает в клетку и откладывается в форме ферритина – это не токсичное, хорошо растворимое в воде соединение, одна молекула ферритина может соединять до 4,5 тысяч атомов железа.

Выведение. Железо в организме совершает постоянный кругооборот. При распаде клеточных структур железо освобождается и 9/10 используется повторно, а 1/10 выводится из организма. В сутки обычно выводится 1-2 мг железа, оно выводится: с желчью; вместе со слущивающимся эпителием ЖКТ; у женщин детородного возраста – с месячными кровотечениями от 14 до 140 мг/месяц; с выпадающими волосами и срезанными ногтями.

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА

Существует аутосомно-рецессивное заболевание гемохроматоз, связанное с **избыточностью** всасывания железа в кишечнике. Для него характерны цирроз печени, поражение сердца и поджелудочной железы, паращитовидных желез.

Железодефицит. Железодефицитная анемия является проявлением крайнего дефицита железа и нормальная концентрация гемоглобина крови не должна быть критерием обеспеченности организма железом! **Причины:** Причинами железодефицита являются недостаток его в пище, заболевания ЖКТ со снижением всасывания (гастриты), потери железа с кровью при менструальных, кишечных или иных кровотечениях. У новорожденных и грудных детей недостаток железа связан в первую очередь с недополучением его при внутриутробном развитии, и также в связи с ускоренным ростом в первый год жизни (физиологическая анемия).

Симптомы: сниженный синтез цитохромов, железосодержащих белков и нарушение доставки кислорода к тканям (при снижении содержания гемоглобина) вызывает ряд специфических и неспецифических симптомов:

- ухудшение внимания и памяти у детей и взрослых,
- иногда детская гиперактивность,
- уплощение, неровность и ломкость ногтей, появление исчерченности, белых пятен и полосок на ногтях,
- мышечная слабость,

- неинфекционный ларингофаринготрахеит (гиперемия и охриплость), что дезориентирует врача,
- выпадающий и секущийся волос,
- общая утомляемость,
- недостаточное сокращение сфинктера мочевого пузыря, при этом характерным признаком является выделение нескольких капель мочи при резком кашле, смехе, чихании,
- изжога,
- атрофический гастрит – может быть как причиной, так и следствием железодефицита, половина больных гастритом имеет недостаток железа,
- обострение сердечно-сосудистых заболеваний, так как усиливает гипоэнергетическое состояние клеток,
- поражение эпителия, проявляющееся в сухости и трещинах кожи рук и ног,
- извращение обонятельных предпочтений – нравится запах краски, бензина, выхлопных газов, резины, мочи,
- извращение вкусовых предпочтений – больные едят мел, штукатурку, уголь, песок, мясной фарш, лед.

ЭРИТРОЦИТЫ И ГЕМОГЛОБИН.

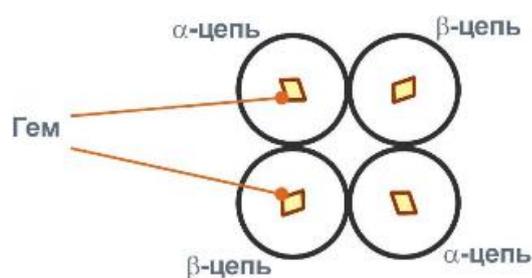
Эритроциты - высокоспециализированные клетки, основной функцией которых является транспорт кислорода из лёгких в ткани. Продолжительность жизни эритроцитов составляет в среднем 120 суток; разрушение их происходит в клетках ретикуло-эндотелиальной системы. В отличие от большинства клеток организма, у эритроцита отсутствуют клеточное ядро, рибосомы и митохондрии. Поэтому обмен эритроцитов имеет ряд особенностей:

1. В зрелых эритроцитах не идут реакции биосинтеза белков. 2. Около 90% используемой эритроцитом глюкозы подвергается **гликолизу** (анаэробному окислению) с образованием конечного продукта - молочной кислоты (лактата). В эритроцитах существуют механизмы предохранения гемоглобина от окисления: 1. Активно протекает пентозофосфатный путь распада глюкозы, дающий НАДФН₂; 2. Высока концентрация глутатиона - пептида, содержащего SH-группы. Примерно 95 % массы сухого вещества эритроцитов приходится на гемоглобин, благодаря которому эритроцит выполняет свою основную функцию транспорта кислорода. Общее содержание гемоглобина в крови составляет 16 г/л.

ГЕМОГЛОБИН - ОСНОВНОЙ БЕЛОК ЭРИТРОЦИТОВ

Гемоглобин входит в состав группы белков гемопротеинов. Небелковой частью их является гем – структура, включающая в себя порфириновое кольцо (состоящее из 4 пиррольных колец) и иона Fe²⁺. Железо связывается с порфириновым кольцом двумя координационными и двумя ковалентными связями.

Строение гемоглобина А



Гемоглобин содержит 4 белковые субъединицы. Между собой протомеры соединяются гидрофобными, ионными, водородными связями по принципу комплементарности. При этом они взаимодействуют не произвольно, а определенным участком - контактной поверхностью. Белковые субъединицы

в нормальном гемоглобине могут быть представлены различными типами полипептидных цепей: α , β , γ , δ , ϵ , ξ (соответственно, греч. - альфа, бета, гамма, дельта, эпсилон, кси). В состав молекулы гемоглобина входят подцепидвухразных типов. Гем располагается как бы "в кармане" своей цепи и формируется гемсодержащий протомер.

НОРМАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ГЕМОГЛОБИНА

Существует несколько нормальных вариантов гемоглобина:

HbP– примитивный гемоглобин, содержит 2 ξ - и 2 ϵ -цепи, встречается в эмбрионе между 7-12 неделями жизни,

- **HbF**– фетальный гемоглобин, содержит 2 α - и 2 γ -цепи, появляется через 12 недель внутриутробного развития и является основным после 3 месяцев,
- **HbA**– гемоглобин взрослых, доля составляет 98%, содержит 2 α - и 2 β -цепи, у плода появляется через 3 месяца жизни и к рождению составляет 80% всего гемоглобина,
- **HbA₂**– гемоглобин взрослых, доля составляет 2%, содержит 2 α - и 2 δ -цепи,
- **HbO₂**– оксигемоглобин, образуется при связывании кислорода в легких, в легочных венах его 94-98% от всего количества гемоглобина,
- **HbCO₂**– карбогемоглобин, образуется при связывании углекислого газа в тканях, в венозной крови составляет 15-20% от всего количества гемоглобина.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ГЕМОГЛОБИНА

HbS– гемоглобин серповидно-клеточной анемии.

MetHb– метгемоглобин, форма гемоглобина, включающая трехвалентный ион железа вместо двухвалентного. Такая форма обычно образуется спонтанно, в этом случае ферментативных мощностей клетки хватает на его восстановление. При использовании сульфаниламидов, употреблении нитрита натрия и нитратов пищевых продуктов, при недостаточности аскорбиновой кислоты ускоряется переход Fe^{2+} в Fe^{3+} . Образующийся metHb

не способен связывать кислород и возникает гипоксия тканей. Для восстановления ионов железа в клинике используют аскорбиновую кислоту и метиленовую синь.

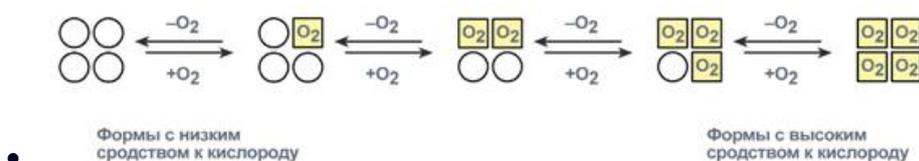
Hb-CO– карбоксигемоглобин, образуется при наличии CO (угарный газ) во вдыхаемом воздухе. Он постоянно присутствует в крови в малых концентрациях, но его доля может колебаться от условий и образа жизни.

HbA_{1c}– гликозилированный гемоглобин. Концентрация его нарастает при хронической гипергликемии и является хорошим скрининговым показателем уровня глюкозы крови за длительный период времени.

Кооперативное взаимодействие

Взаимовлияние протомеров олигомерного белка друг на друга называется **кооперативное взаимодействие**.

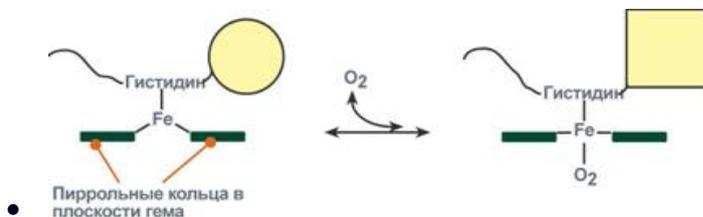
В **легких** такое взаимодействие субъединиц гемоглобина повышает его сродство к кислороду и ускоряет присоединение кислорода в 300 раз. В **тканях** идет обратный процесс, сродство снижается и ускорение отдачи кислорода также 300-кратное.



- Схема кооперативного взаимодействия субъединиц гемоглобин
-

Объясняется это тем, что в легких при присоединении первой молекулы кислорода к железу (за счет 6-й координационной связи) атом железа втягивается в плоскость гема, кислород остается вне плоскости. Это вызывает перемещение участка белковой цепи и изменение конформации первого протомера. Такой измененный протомер влияет на другие субъединицы и облегчает связывание кислорода со второй субъединицей.

Это меняет конформацию второй субъединицы, облегчая присоединение последующих молекул кислорода и изменение других протомеров.



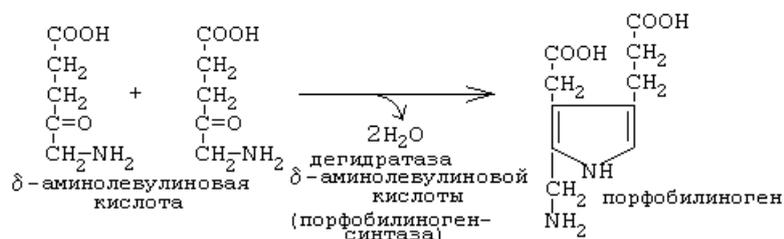
Изменение формы субъединиц гемоглобина при присоединении кислорода

СИНТЕЗ ГЕМА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

Гем в составе гемоглобина синтезируется клетками костного мозга на этапе преобразования эритробластов в ретикулоциты, а затем в эритроциты. Гем является простетической группой гемоглобина, миоглобина, цитохромов, каталазы и пероксидазы. Гем синтезируется во всех клетках, но наиболее активно синтез идет в печени и костном мозге. Ключевой реакцией синтеза порфиринов является реакция образования аминولهвулиновой кислоты. Эту реакцию катализирует пиридоксальфосфатзависимый фермент митохондрий эритробластов аминولهвулинатсинтаза

СИНТЕЗ ГЕМА





Активность аминولةвулинатсинтазы регулируется аллостерически. Гем и гемоглобин являются аллостерическими ингибиторами и репрессорами синтеза аминولةвулинатсинтазы. Стероидные гормоны и некоторые лекарства (барбитураты, диклофенак, сульфаниламиды, эстрогены, прогестины) являются индукторами синтеза аминولةвулинатсинтазы. Следующая реакция при участии аминولةвулинатдегидратазы или порфобилиногенсинтаза протекает в цитозоле. Фермент, катализирующий эту стадию также является регуляторным ферментом, подвергаясь ингибированию конечными продуктами синтеза. После синтеза порфобилиногена четыре его молекулы конденсируются в тетрапиррол. Различают два вида тетрапирролов – уропорфириноген типа I и уропорфириноген типа III. В синтезе обоих видов порфиринов принимает участие уропорфириноген I синтаза, в образования уропорфириногена III дополнительно принимает участие фермент уропорфириноген III косинтаза. Далее уропорфириногены превращаются в соответствующие

копропорфириногены. Копропорфириноген III переходит в протопорфириноген IX и далее в протопорфирин IX. Последний после связывания с железом образует гем, реакцию катализирует феррохелатаза (гемсинтаза).

НАРУШЕНИЕ СИНТЕЗА ГЕМОГЛОБИНА

Известны генетические дефекты ферментов, участвующих в синтезе гема. При этом происходит накопление в организме предшественников протопорфирина. Эти болезни называются "*порфирии*". Есть порфирии, при которых накапливается уропорфириноген. Моча у таких больных имеет красный цвет, а зубы при ультрафиолетовом облучении сильно флуоресцируют, кожа имеет повышенную чувствительность к солнечному свету. Порфириногены на свету превращаются в порфирины, которые при взаимодействии с кислородом образуют активные радикалы, повреждающие клетки кожи. При некоторых порфириях происходит накопление порфобилиногена, что сопровождается нервно-психическими расстройствами. Первичные порфирии обусловлены генетическими дефектами ферментов синтеза гема, вторичные связаны с нарушениями регуляции реакций синтеза гема. *Талассемии*. Для талассемий характерно снижение синтеза α -цепей гемоглобина (α -талассемия) или β -цепей (β -талассемия). Это приводит к нарушению эритропоэза, гемолизу и тяжелым анемиям.

СВЕРТЫВАЮЩАЯ СИСТЕМА КРОВИ.

Свёртывание крови- совокупность молекулярных процессов, приводящих к прекращению кровотечения из повреждённого сосуда в результате образования кровяного сгустка (тромба). Большинство факторов свёртывания присутствует в крови в виде неактивных предшественников - проферментов, активация которых осуществляется путём *частичного протеолиза*. Ряд факторов свёртывания крови являются витамин К-

зависимыми: протромбин (фактор II), проконвертин (фактор VII), факторы Крист-маса (IX) и Стюарта-Прауэра (X). Роль витамина К определяется участием в карбок-силировании остатков глутамата в N-концевом участке этих белков с образованием γ -карбоксихлутамата. Свертывание крови представляет собой каскад реакций, в котором активированная форма одного фактора свертывания катализирует активацию следующего до тех пор, пока конечный фактор, который является структурной основой тромба, не будет активирован.

ЭТАПЫ ОБРАЗОВАНИЯ ФИБРИНОВОГО СГУСТКА.

Свертывание крови (гемокоагуляция) — это жизненно важная защитная реакция, которая выполняет следующие функции:

1. Поддержание крови в сосудах в жидком состоянии;
2. Осуществление гемостаза (предотвращение больших кровопотерь).

Повреждение кровеносного сосуда вызывает каскад молекулярных процессов, в результате которых образуется сгусток крови — тромб, прекращающий вытекание крови. В остановке кровотечения участвуют: сосуды, окружающая сосуда ткань, физиологически активные вещества плазмы, форменные элементы крови и, главным образом, тромбоциты. Процессом гемокоагуляции управляет нейрогуморальный регуляторный механизм. Физиологически активные вещества, принимающие участие в свертывании крови и находящиеся в плазме, называются плазменными факторами свертывания крови. В ходе реакций свертывания крови все белки-ферменты сначала выступают в роли субстрата, а затем — в роли фермента. Плазменные факторы свертывания крови вырабатываются в неактивной форме - в виде проферментов. Активация их происходит каскадно и аутокаталитически при повреждении сосуда и повреждении эндотелия (механическом, под действием липидов, эндотоксинов, тромбина). Они обозначаются римскими цифрами в порядке их хронологического открытия.

Основные функции и содержание в плазме крови факторов свёртывания крови

Фактор	Тривиальноеназвание	Содержание в плазме крови, г/л	Функции
1	2	3	4
I	Фибриноген	2-4	Растворимыйбелок-предшественникфибрина
Ia	Фибрин		Образуетфибриновыйгель
II	Протромбин	0,1	Профермент*
IIa	Тромбин		Протеаза, превращающая фибриноген в фибрин и активирующая факторы V, VII, VIII, XIII, C
III	Тканевыйфактор		Белок-активатор мембранного комплекса VIIa-ТФ-Ca ²⁺
IV	Ca ²⁺	0,9-1,2 ммоль/л	Опосредует взаимодействие ферментов прокоагулянтного пути с фосфатидилсерином

V	Проакцелерин	0,01	Предшественник белка-активатора мембранного комплекса Xa-Va-Ca ²⁺
Va	Акцелерин		Белок-активатор мембранного комплекса Xa-Va-Ca ²⁺
VII	Проконвертин	0,005	Профермент *
VIIa	Конвертин		Протеаза *, активирующая факторы X и IX
VIII	Неактивный антигемофильный фактор А (неактивный антигемофильный глобулин)	0,01-0,02	Предшественник белка-активатора мембранного комплекса IXa-VIIIa-Ca ²⁺
VIIIa	Активный антигемофильный фактор А (активный антигемофильный глобулин)		Белок-активатор мембранного комплекса IXa-VIIIa-Ca ²⁺
IX	Неактивный антигемофильный фактор В (неактивный фактор Кристмаса)	0,003	Профермент *
IXa	Активный		Протеаза *

	антигемофильный фактор В (активный фактор Кристмаса)		активирующая фактор X
X	Неактивный фактор Стью арта-Прауэра	0,01	Профермент *
Xa	Активный фактор Стью арта-Прауэра		Протеаза *, активирующая фактор II
XI	Неактивный плазменны й предшественник тромб опластина	0,005	Профермент контактного пути свёртывания крови
XIa	Активный плазменный п редшественник тромбоп ластина		Протеаза, активирующая фактор IX
XII	Неактивный фактор Хаг мана	0,03	Профермент контактного пути свёртывания крови
XIIa	Активный фактор Хаг мана		Протеаза, активирующая фактор XI, прекалликреин, плазминоген
XIII	Неактивная трансглутамидаза (неактивный фибринста- билизирующий фактор)	0,01-0,02	Профермент
XIIIa	Активная		Катализирует

	трансглутамидаза (активный фибринстаби- лизирующий фактор)		образование амидных связей между молекулами фибрина- мономера, фибрином и фибронектином
	Прекашшкреин	0,05	Профермент контактного пути свёртывания крови
	Калликреин		Протеаза, активирующая фактор XII, плазминоген
	ВМК	0,06	Белок-активатор контактного пути свёртывания крови

* Содержит остатки карбоксиглутаминовой кислоты, необходимые для образования мембранных ферментных комплексов прокоагулянтного пути свёртывания крови.

Взаимодействие ферментных комплексов с клеточными мембранами происходит с участием ионов Ca^{2+} . Все проферменты прокоагулянтного пути (II, VII, IX, X) содержат остатки γ -карбоксиглутаминовой кислоты, образующиеся в результате посттрансляционной модификации этих белков в ЭР гепатоцитов.

Роль витамина К в карбоксилировании остатков глутаминовой кислоты в проферментах прокоагулянтного пути свёртывания крови. Витамин К способствует карбоксилированию остатков глутаминовой кислоты в гамма положении у этих белковых факторов - он входит в состав

фермента глутаматкарбоксилазы. Наличие гамма-карбоксильной группы в остатках глутаминовой кислоты придает этим белкам - II, VII, IX, X способность при посредстве ионов кальция связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами клеточных мембран или другими подобными белками. Именно такое связывание обеспечивает взаимодействие между молекулами в реакциях плазмокоагуляции. При недостатке или снижении активности факторов свертывания крови может наблюдаться патологическая кровоточивость. Это может происходить при тяжелых и дегенеративных заболеваниях печени, при недостаточности витамина К. Витамин К является жирорастворимым витамином, поэтому его дефицит может обнаружиться при угнетении всасывания жиров в кишечнике, например при снижении желчеобразования. Эндогенный дефицит витамина К наблюдается также при подавлении кишечной микро-флоры антибиотиками. В период Второй мировой войны группой ученых под руководством Палладина был синтезирован викасол — водорастворимый аналог витамина К. Некоторое время назад был синтезирован антивитамин К. Он используется для лечения больных со склонностью к тромбообразованию.

МЕХАНИЗМ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Свертывание крови обусловлено тем, что растворимый белок плазмы крови фибриноген превращается в нерастворимый фибрин. В остановке кровотечения различают 3 этапа.

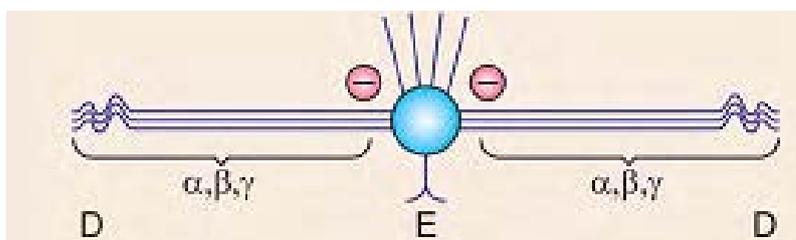
1. **На первом этапе** - первичный гемостаз (предфаза) происходит сокращение кровеносного сосуда.

2. **Затем на месте** травмы эндотелий сосуда меняет свой заряд. Тромбоциты, занимающие в сосуде краевое положение, начинают адгезировать (прилипать) к поврежденной поверхности сосуда и агглютинировать (склеиваться) между собой. Через 2—3 минуты образуется «тромбоцитарная белая пробка» которая может закупорить небольшой кровеносный сосуд.

3. *На третьем этапе* растворимый белок плазмы крови фибриноген превращается в нерастворимый белок фибрин, который откладывается между тромбоцитами, и формируется прочный фибриновый тромб. Такой тромб содержит эритроциты и поэтому называется красным тромбом. Образованию фибринового тромба предшествует каскад протеолитических реакций, приводящий к активации фермента тромбина, который и превращает фибриноген в фибрин.

Превращение фибриногена в фибрин

Фибриноген — это гликопротеин, который синтезируется в печени и содержится в плазме крови в концентрации 8,02–12,9 мкмоль/л (2-4 г/л). Молекула фибриногена состоит из шести полипептидных цепей, которые связаны друг с другом дисульфидными связями. Состав полипептидных цепей молекулы фибриногена обозначают $A\alpha_2$, $B\beta_2$, γ_2 . Заглавные буквы соответствуют тем участкам, которые отщепляются под действием тромбина при превращении фибриногена в фибрин. Фрагменты А в цепях $A\alpha$ и В в цепях $B\beta$ содержат большое количество остатков аспартата и глутамата. Это создаёт сильный отрицательный заряд на N-концах молекул фибриногена и препятствует их агрегации. Молекула фибриногена состоит из трех глобулярных доменов, по одному на каждом конце молекулы (домены Д) и один в середине (домен Е). Домены отделены друг от друга участками полипептидных цепей, имеющими стержнеобразную конфигурацию. Из центрального домена Е выступают N-концевые фрагменты А и В цепей $A\alpha$ и $B\beta$



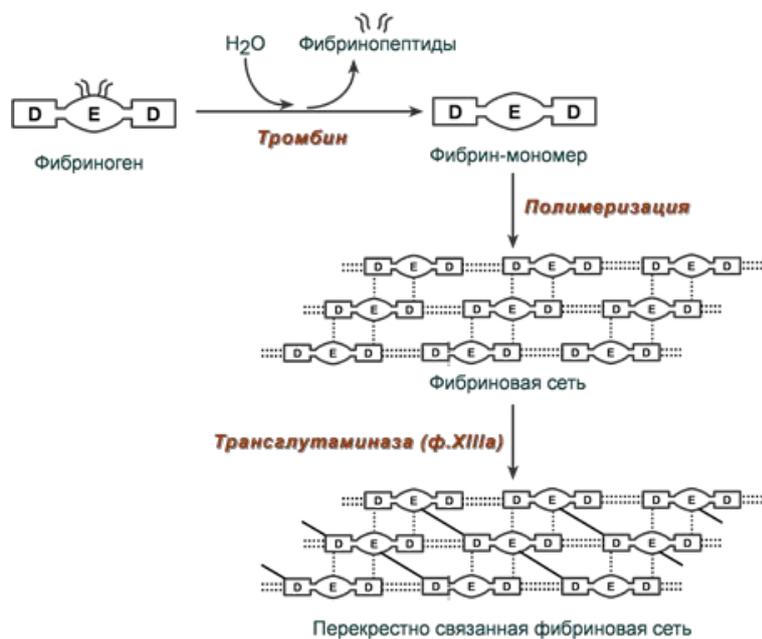
Строение фибриногена.

Фибриноген состоит из шести полипептидных цепей: $A\alpha_2$, $B\beta_2$ и γ_2 . А, В – отрицательнозаряженные фрагменты, благодаря которым молекулы фибриногена не агрегируют. Д, Е - глобулярные домены молекулы фибриногена. Домены отделены участками полипептидных цепей, имеющими стержнеобразную конфигурацию. Из центрального глобулярного домена Е выступают N-концевые участки фрагментов А и В цепей $A\alpha_2$ и $B\beta_2$.

В образовании фибринового тромба можно выделить 4 этапа.

1. Превращение фибриногена в мономер фибрина. При этом молекулы фибриногена освобождаются от отрицательно заряженных фрагментов А и В, в результате чего образуются мономеры фибрина. Превращение фибриногена (фактор I) в фибрин (фактор Ia) катализирует фермент тромбин (фактор IIa). Мономер фибрина, образующийся из фибриногена, имеет состав $(\alpha, \beta, \gamma)_2$.

2. Образование нерастворимого геля фибрина. На этом этапе образуется нерастворимый полимерный фибриновый сгусток - гель фибрина. В результате превращения фибриногена в фибрин-мономер в домене Е открываются центры связывания с доменами D. Причём домен Е содержит центры агрегации, формирующиеся только после частичного протеолиза фибриногена под действием тромбина, а домен D является носителем постоянных центров агрегации. Первичная агрегация молекул фибрина происходит в результате взаимодействия центров связывания домена Е одной молекулы с комплементарными им участками на доменах D других молекул.

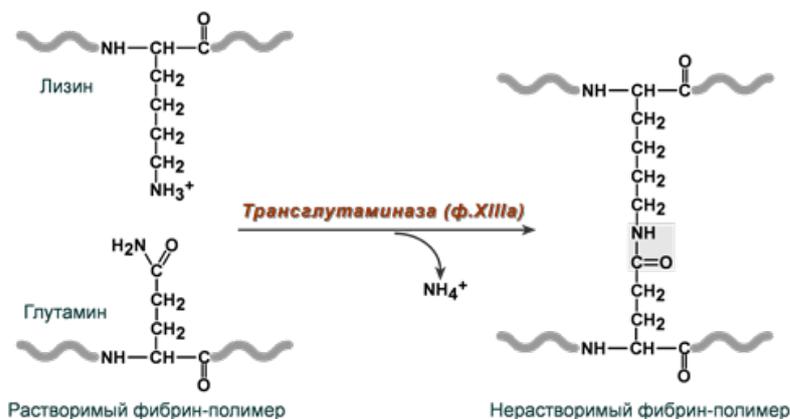


Образование геля фибрина. Фибриноген, освобождаясь под действием тромбина от отрицательно заряженных фрагментов (фибринопептидов 2А и 2В), превращается в фибрин-мономер. В результате взаимодействия комплементарных участков Е- и D-доменов фибрина-мономера происходит сначала линейная, а затем латеральная полимеризация молекул с образованием геля фибрина.

Таким образом, между доменами молекул фибрина-мономера образуются нековалентные связи. Самосборка фибрина включает два этапа. Сначала образуются двунитчатые протофибриллы, в которых молекулы фибрина смещены относительно друг друга на 1/2 длины. В образовании протофибрилл участвуют центры связывания в доменах Е и D. Происходит удлинение при сохранении поперечника, равного сумме поперечников 2 мономерных единиц. При достижении протофибриллами определенной критической длины начинается латеральная ассоциация протофибрилл, ведущая к образованию тол-стых фибриновых волокон. Образовавшийся

гель фибрина непрочен, так как молекулы фибрина в нём связаны между собой нековалентными связями.

3. Стабилизация геля фибрина. В результате образования амидных связей между остатками лизина одной молекулы фибрина и остатками глутамина другой молекулы в присутствии ионов Ca^{2+} гель фибрина стабилизируется. Реакцию трансамидирования катализирует фермент *трансглутаминаза* (или *трансглутамидаза*) (фактор XIIIа фибрин-стабилизирующий фактор). Фактор XIII активируется частичным протеолизом под действием тромбина. Трансглутаминаза также образует амидные связи между фибрином и *фибронектином* - гликопротеином межклеточного матрикса и плазмы крови. В результате тромб оказывается прикрепленным к матриксу в области поврежденной стенки сосуда. Ковалентно сшитые между собой нити фибрина образуют **прочную трехмерную сеть**, в которую включены тромбоциты, эритроциты и лейкоциты.



Образование амидной связи между молекулами фибрина.

4. Ретракция фибринового сгустка. Сжатие (ретракцию) геля обеспечивает актомиозин тромбоцитов - сократительный белок тромбостенин, обладающий АТФ-азной активностью. Тромбостенин

участвует также в активации и агрегации тромбоцитов. Сгусток крови уплотняется, из него выдавливается часть сыворотки. Формирование окончательного тромба наступает на 10-15-й минуте после полимеризации фибрина. Ретракция кровяного сгустка предупреждает полную закупорку сосудов, создавая возможность восстановления кровотока.

СУЩЕСТВУЮТ ДВА МЕХАНИЗМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ — ВНЕШНИЙ И ВНУТРЕННИЙ.

Внешний механизм запускается с участием внешних (тканевых) факторов, Внутренний — при участии факторов, источником которых служит сама кровь, плазма, собственно ферменты и форменные элементы крови. Различаются внешний и внутренний механизмы только начальными стадиями до активации протромбина (ф. II). Последующие стадии протекают одинаково и в том, и в другом случаях.

ТЕОРИЯ КОАГУЛЯЦИИ

При повреждении **крупных** кровеносных сосудов тромбоцитарная пробка не способна остановить кровотечение, она относительно рыхлая и непрочная. Только коагуляционный гемостаз способен остановить кровотечение из такого сосуда.

В классической теории коагуляции выделяют 2 пути активации факторов свертывания:

1. Активация **тканевым фактором**. Так как тканевой фактор не относится к плазменным факторам и контактирует с кровью только при повреждении сосуда, то активация с его участием обозначается как внешний путь свертывания.
2. Контактная активация – активация **фактора XII** при взаимодействии с отрицательно заряженной поверхностью (*in vitro*) или при воспалении (*in vivo*). Поскольку фактор XII в норме присутствует в плазме, активация с его участием обозначается как внутренний путь свертывания.

Внешний и внутренний пути сходятся на X факторе, активная форма которого Xa , вместе с фактором Va и Ca^{2+} формирует ферментативный комплекс $Xa-Va-Ca^{2+}$, иначе называемый **протромбиназа**, которая превращает протромбин в тромбин. Образовавшийся тромбин превращает фибриноген в фибрин-мономеры. Последние соединяются, образуя полимеры фибрина.

Реакции с участием VII, IX, X, XI, XII факторов происходят на фосфолипидной поверхности (**тромбопластине**).

ВНЕШНИЙ ПУТЬ СВЕРТЫВАНИЯ

После повреждения **сосудатканевой фактор**(TF), находящийся на клетках, связывает и активирует **фактор VII**. Образованный комплекс напрямую активирует фактор X. Далее ф.Xa при участии кофактора Va в присутствии ионов Ca^{2+} формирует комплекс $Xa-Va-Ca^{2+}$ – протромбиназу, превращающую протромбин в тромбин.

Активность внешнего пути поддерживается за счет механизма положительной обратной связи:

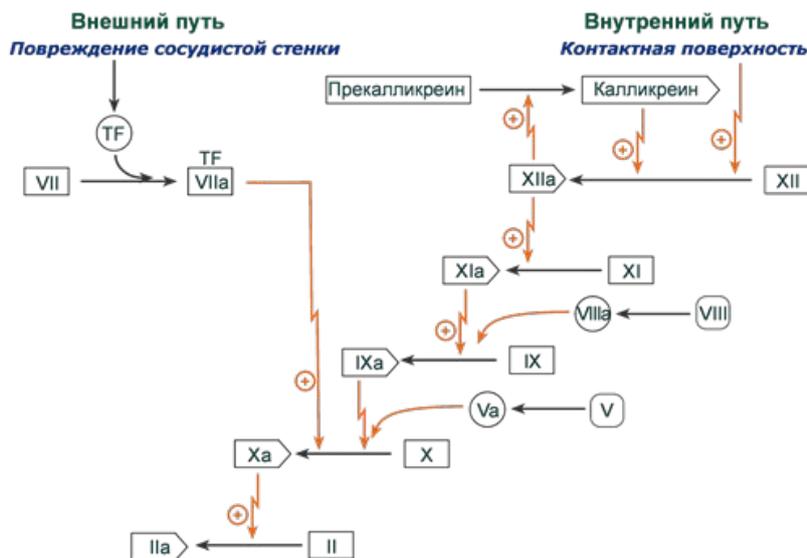
- образующийся тромбин активирует V и VIII фактор,
- фактор Xa в присутствии ионов Ca^{2+} активирует фактор VII.

ВНУТРЕННИЙ ПУТЬ СВЕРТЫВАНИЯ

Внутренний путь свертывания разворачивается на фосфолипидной поверхности тромбоцитов или иных клеток, где в первую очередь происходит сборка комплекса, состоящего из факторов XII, XI, прекалликреина и высокомолекулярного кининогена.

1. Связывание **фактора XIIc** тромбопластином (тканевым фактором) изменяет его конформацию и он приобретает небольшую активность. Это позволяет фактору XIIa начать превращение прекалликреина в **калликреин**. Затем, в результате действия калликреина накапливается фактор XIIa, и активация калликреина усиливается. Т.о. фактор XIIa и калликреин взаимно

активируют друг друга. Также фактор XII может активироваться фактором VIIa.



Внешний и внутренний пути свертывания крови

2. **Фактор XIIa** активирует фактор XI, который может также активироваться тромбином.

3. **Фактор Xa** в присутствии ионов Ca^{2+} локализуется на мембране и активирует фактор IX.

4. **Фактор IX** связывается со своим **кофактором VIIIa** (активируемый тромбином) и образует комплекс IXa-VIIIa- Ca^{2+} (теназный комплекс). Фактор IX может также активироваться фактором VIIa. Далее теназа активирует фактор X.

5. Активированный **фактор Xa** при помощи своего кофактора Va (активируемого тромбином) в присутствии ионов Ca^{2+} на фосфолипидной мембране формирует комплекс Xa-Va- Ca^{2+} – протромбиназу.

6. Протромбиназа присоединяет протромбин и последовательно расщепляет две связи в его молекуле, отделяя N-концевой фрагмент от молекулы активного тромбина.

7. Тромбин превращает фибриноген в фибрин и через обратные положительные связи поддерживает активность ферментативного каскада.

Скорость свертывания крови зависит не только от работы системы свертывания, но и от присутствия естественных антикоагулянтов — веществ, предотвращающих свертывание крови. Несмотря на наличие мощной свертывающей системы кровь находится в жидком состоянии.

ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩИЕ МЕХАНИЗМЫ

Наряду с веществами, способствующими свертыванию крови, в кровотоке находятся вещества, препятствующие гемокоагуляции. Они называются естественными антикоагулянтами. Одни антикоагулянты постоянно находятся в крови. Это первичные антикоагулянты. Вторичные антикоагулянты образуются в процессе свертывания крови и фибринолиза. Физиологические ингибиторы ферментов свертывания крови ограничивают

распространение тромба и сохраняют кровь в жидком состоянии. Естественные антикоагулянты синтезируются в тканях и поступают в кровь, и там препятствуют активации факторов свертывания крови. К ним относятся гепарин, антитромбин-III и α_2 -макроглобулин.

Гепарин преостанавливает активацию некоторых факторов, но непосредственно на сами факторы не действует. Гепарин вызывает активацию антитромбина-III, изменяя его конформацию, переводит его в антитромбин, обладающий способностью молниеносно связывать тромбин в крови, при этом антитромбин-III приобретает способность инактивировать сериновые протеиназы: тромбин, факторы IX α , X α , XII α , плазмин, урокиназу, калликреин. Факторы, не относящиеся к сериновым протеазам, не инактиви-

руются антитромбином. Гепарин применяют как антикоагулянт при лечении тромботических состояний.



Известен генетический дефект, при котором концентрация антитромбина в крови вдвое меньше, чем в норме; у таких людей часто наблюдаются тромбозы.

Антитромбин — главный компонент противосвертывающей системы: примерно $\frac{3}{4}$ всего тромбина удаляется этим ингибитором. В плазме крови имеются и другие ингибиторы протеиназ, которые также могут уменьшать вероятность внутрисосудистого свертывания крови. Один из них — α_2 -макроглобулин. Это крупный белок с молекулярной массой 720000 Да, построенный из четырех идентичных субъединиц. Он ингибирует большинство протеиназ, и не только те, которые участвуют в свертывании крови. Этот белок содержит участки пептидной цепи, которые являются субстратами для многих протеиназ; протеиназы присоединяются к этой «приманке», гидролизуют в ней некоторые пептидные связи, в результате чего изменяется конформация α_2 -макроглобулина, и он захватывает фермент, подобно «капкану» и инактивирует их. Для этого ингибитор должен иметь большие размеры. Комплекс α_2 -макроглобулина с ферментом быстро удаляется из крови: время его полужизни в крови — около 10 мин.

При массивном поступлении в кровоток активированных факторов свертывания крови мощность противосвертывающей системы может оказаться недостаточной, появляется опасность тромбозов. Такая ситуация возникает, в частности, при обширных травмах и больших хирургических операциях.

Антиконвертин специфически взаимодействует с ферментным

комплексом

тканевый фактор-VII α —Ca²⁺. Таким образом он ингибирует не отдельные ферменты, а образованный на мембране ферментный комплекс, поэтому его называют связанным с липопротеинами ингибитором коагуляции.

Благодаря тому, что одновременно происходят: как образование так и растворение фибриновых сгустков кровь остается в жидком состоянии и реакции свертывания крови уравниваются системой фибринолиза.

ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФИБРИНОЛИЗА

Фибринолиз — это процесс расщепления фибринового сгустка, в результате которого происходит восстановление просвета сосуда. Фибринолиз начинается одновременно с ретракцией сгустка, но идет медленнее. Это тоже ферментативный процесс, который осуществляется под влиянием плазмина (фибринолизина). Плазмин находится в плазме крови в неактивном состоянии в виде плазминогена. Под влиянием кровяных и тканевых активаторов плазминогена происходит его активация.

Система фибринолиза состоит из ферментов, неферментативных белковых кофакторов и ингибиторов фибринолиза. Конечной целью этой системы является образование фермента плазмина и растворение фибринового сгустка. Процесс в норме обладает строгим локальным действием. В нем участвуют 18 белков:

1. **Плазминоген** — профермент, из которого образуется белок плазмин, разрушающий фибрин. Его активирует активатор плазминогена и фактор XIIIa.

2. **Активаторы плазминогена тканевого типа (а) и урокиназный (б)** — ферменты (сериновые протеазы), превращающие плазминоген в плазмин.

а) *тканевой активатор плазминогена* выделяется эндотелием, моноцитами и мегакариоцитами,

б) урокиназный активатор плазминогена продуцируется эпителиальными клетками почечных протоков, юкстагломерулярными клетками, эндотелиоцитами, макрофагами, фибробластами.

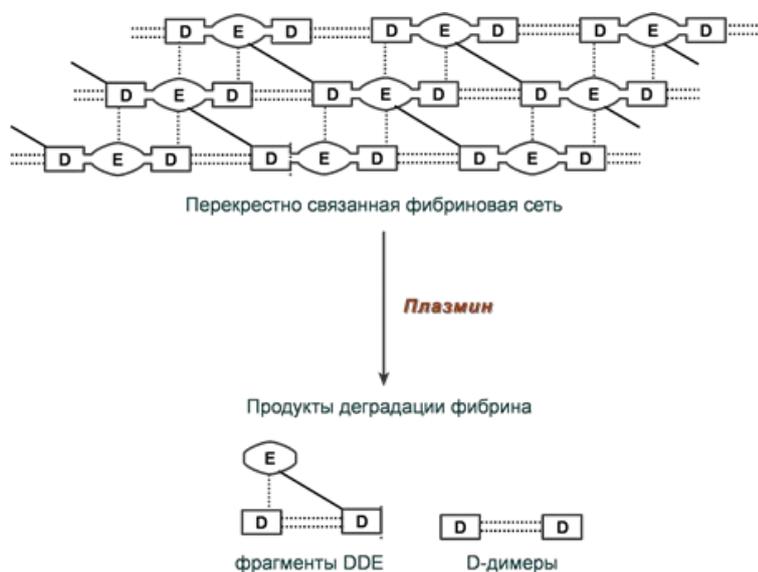
3. **Фактор XII** (фактор Хагемана) – контактный фактор, активатор плазминогена и прекалликреина.

4. **Прекалликреин** – контактный фактор, фактор Флетчера, профермент калликреина, катализирующего образование кининов, но для этого должен сначала активироваться фактором Хагемана (ф. XIIa).

5. **Высокомолекулярный кининоген** (ВМК, фактор Фитцджеральда) – в кровотоке находится в комплексе с фактором XII, является рецептором прекалликреина.

РАСПАД ФИБРИНА И ФИБРИНОГЕНА

Плазмин является очень активной и в то же время относительно неспецифичной сериновой протеазой, которая способна гидролизовать фибрин и фибриноген. Образующиеся вследствие этого молекулы гидролиза фибрина обозначаются как *комплексы DDEuD-димеры*. Когда фибрин будет гидролизован плазмином, активатор плазминогена теряет свою активность. Некоторые продукты гидролиза обладают выраженной физиологической активностью – они снижают агрегацию тромбоцитов и нарушают полимеризацию фибрин-мономеров, выполняя, в сущности, функцию антикоагулянта.



Превращение кровяного проактиватора в активатор плазминогена происходит под влиянием *тканевых лизокиназ*, а также *стрептокиназы*. Стрептокиназа вырабатывается гемолитическим стрептококком и в обычных условиях в крови отсутствует. Однако при стрептококковой инфекции возможно образование стрептокиназы в большом количестве, что в отдельных случаях приводит к усиленному фибринолизу и развитию геморрагического диатеза. В тоже время нужно учитывать, что наряду с фибринолитической системой крови человека имеется и система антифибринолитическая. Она состоит из различных антикиназ, антиплазмина и других антиактиваторов. В практической медицине в лечебных целях ферментные препараты и их ингибиторы широко используются при нарушении свертывающей и противосвертывающей системы крови. Поэтому, при тромбоэмболической болезни применяют ферменты, способствующие либо лизису образовавшегося тромба, либо снижению повышенной свертываемости крови. При состояниях, сопровождающихся развитием фибринолиза, используются ингибиторы ферментов.



Реакции фибринолиза

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ СВЕРТЫВАНИЯ И ПРОТИВОСВЕРТЫВАНИЯ.

Гемостаз и фибринолиз очень тесно взаимосвязаны и тонко регулируются. Регуляция осуществляется на 3 способами.

- Путем низкой субстратной специфичности ключевых ферментов: плазмин расщепляет не только фибриноген, но и факторы У и УШ, предотвращая излишнее свертывание; тромбин катализирует не только превращение фибриногена в фибрин, но и протеолиз фибрина.

- Путем одновременного ингибирования тромбина и плазмينا: антитромбин одновременно ингибирует как тромбин, так и плазмин; если он

связывается с тромбином, то не может действовать на плазмин, усиление процесса коагуляции приводит к активированию фибринолиза.

- Путем ингибирования ключевых ферментов по принципу отрицательной обратной связи: тромбин ингибируется продуктами своей деятельности - фибрин-мономером; фибрин-полимер ингибируется продуктами деградации фибрина, образующимися при фибринолизе.

ФАКТОРЫ, УСКОРЯЮЩИЕ ПРОЦЕСС СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ:

1. тепло, поскольку свертывание крови является ферментативным процессом;
2. ионы кальция, поскольку они участвуют во всех фазах гемокоагуляции;
3. соприкосновение крови с шероховатой поверхностью (поражение сосудов атеросклерозом, сосудистые швы в хирургии);
4. механические воздействия (давление, раздробление тканей, встряхивание емкостей с кровью, поскольку это приводит к разрушению форменных элементов крови и выходу факторов, участвующих в свертывании крови).

ФАКТОРЫ, ЗАМЕДЛЯЮЩИЕ И ПРЕДОТВРАЩАЮЩИЕ ГЕМОКОАГУЛЯЦИЮ:

1. понижение температуры;
2. цитрат и оксалат натрия (связывают ионы кальция);
3. гепарин (подавляет все фазы гемокоагуляции);
4. гладкая поверхность (гладкие швы при сшивании сосудов в хирургии, покрытие силиконом или парафинирование канюль и емкостей для донорской крови).

НАРУШЕНИЯ ПРОЦЕССОВ СВЕРТЫВАНИЯ

Гемофилия –наследственное заболевание, которое связано с нарушением свертывания крови. Из-за отсутствия VIII-го или IX-го факторов свертываемости отмечается повышенная кровоточивость. Болезнь наследуется по рецессивному типу, сцепленному с X-хромосомой. В связи с этим, болеют данным заболеванием только мужчины, в то время как женщины являются носителями гемофилии. Тем не менее, описаны случаи рождения девочек больных гемофилией. Родителями таких девочек является больной отец и женщина-носитель. Более чем в 70% случаев гемофилия приводит к инвалидизации больного. Данная патология встречается с частотой 1 раз на каждые 50 тысяч новорожденных.

РАЗЛИЧАЮТ ТРИ ВИДА ГЕМОФИЛИИ

- **Гемофилия А**– рецессивная мутация в X-хромосоме. При гемофилии А отмечается недостаточность фактора VIII (антигемофильного глобулина). Это наиболее распространенный тип гемофилии, который встречается в 80-85% случаев. При уровне фактора VIII 5-20% наблюдаются тяжелые кровотечения при травмах и оперативных вмешательствах.
- **Гемофилия В**– рецессивная мутация по X-хромосоме, характеризуется недостаточностью фактора IX (фактора Кристмаса). При таком типе гемофилии нарушается образование вторичной коагуляционной пробки.
- **Гемофилия С**(аутосомно-рецессивный, либо доминантный с неполной пенетрантностью тип наследования). Данный тип гемофилии может встречаться как у мужчин, так и у женщин. Отмечается недостаточность фактора XI. Данная форма гемофилии в основном распространена среди евреев-ашкенази.

Глава 9

БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

Функции и строение печени

Печень имеет чрезвычайно важное значение для промежуточного обмена веществ (углеводов, липидов, белков, витаминов); обезвреживания веществ (эндо-, экзотоксинов и ксенобиотиков); выполняет выделительную функцию (с желчью в кишечник выделяются билирубин, холестерин, некоторые лекарства и токсины). В печени происходит синтез веществ «на экспорт»: белки плазмы крови, глюкоза, кетоновые тела, липопротеины, а также обезвреживание аммиака и синтез мочевины как конечного продукта азотистого обмена.

Основные функции печени:

- значение в обмене углеводов: глюконеогенез; синтез и распад гликогена;
- значение в обмене липидов: синтез жирных кислот, кетогенез, синтез;
- липопротеинов, синтез и выведение холестерина, синтез желчных кислот из холестерина, гидроксилирование витамина Д;
- значение в обмене белков: синтез белков плазмы крови (альбумины, факторы свертывания крови), синтез мочевины;
- значение в пигментном обмене: метаболизм и экскреция конъюгированного билирубина;
- значение в обмене гормонов: метаболизм и выведение стероидных гормонов, метаболизм полипептидных гормонов;
- обезвреживающая функция печени: метаболизм и экскреция эндогенных субстратов, экзотоксинов и ксенобиотиков, в том числе лекарств, консервантов, бензпирена выхлопных газов и табачного дыма;
- депонирование веществ: гликоген, витамин А, витамин В₁₂, железо;
- участие в пищеварении: синтез желчи;

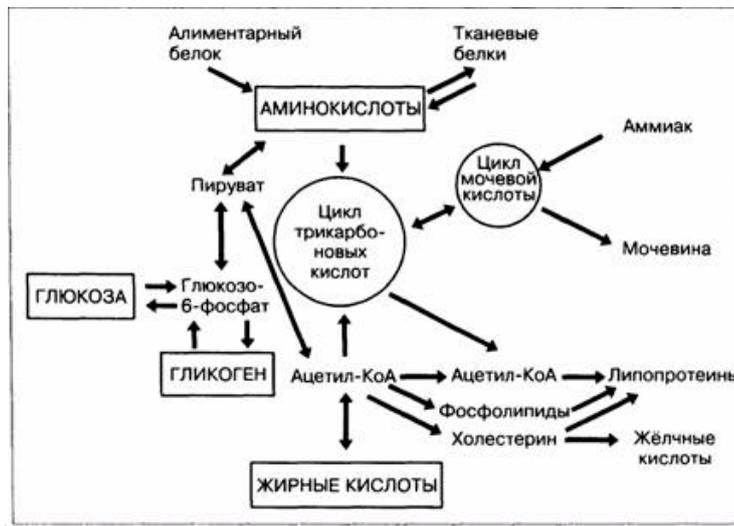
- гемопоз у плода.

Строение печени:

В печени гепатоциты составляют 80%, клетки Купфера (печеночные макрофаги) и эндотелиоциты - 15%, строма – 5%. Все функции печени выполняет гепатоцит. Гепатоцит одной частью поверхности прилежит к эндотелиоцитам синусоидов, а другой – к желчному канальцу. В синусоидах (видоизмененные капилляры) течет смешанная артериально-венозная кровь, поступающая из воротной вены и печеночной артерии; из синусоидов кровь собирается в ветви печеночной вены, впадающей в нижнюю полую вену.

9.2. Участие печени в обмене углеводов, липидов, белков.

Печень – уникальный орган в плане перераспределения нутриентов (углеводов, липидов, белков), что обусловлено особенностями её кровообращения. Венозная кровь, оттекающая от желудка, кишечника и поджелудочной железы, попадает в систему воротной вены печени, минуя общий кровоток. Таким образом, печень омывается кровью, обогащенной нутриентами и инсулином, активно поглощает их в абсорбтивный период и играет ключевую роль в запасании, перераспределении и доступности питательных веществ для периферических тканей (рис.).



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Другой цвет (RGB(21;21;21))

Рис. 9.1. Схема участия печени в промежуточном обмене.

Роль печени в обмене углеводов и поддержании уровня глюкозы крови.

Печень – депо гликогена, продуцент глюкозы за счет глюконеогенеза; активный участник регуляции глюкозы крови.

Существует три особенности обмена глюкозы в печени: глюкоза проникает в печень через ГЛЮТ-2, не нуждающийся в инсулине, что обеспечивает не лимитированный транспорт глюкозы в печень; в печени содержатся ферменты глюкокиназа и глюкозо-6-фосфатаза, обеспечивающие эффективную утилизацию глюкозы в периоде насыщения и распад гликогена до свободной глюкозы при голодании.

Глюкокиназа катализирует фосфорилирование глюкозы в глюкозо-6-фосфат; в отличие от гексокиназы, она не ингибируется глюкозо-6-фосфатом, имеет более высокую K_m и высокую V_{max} . Это обеспечивает активность фермента только при высоких концентрациях глюкозы и эффективный захват глюкозы из портального кровотока, предотвращая системную

гипергликемию. В поджелудочной железе глюкокиназа является сенсором глюкозы, и стимулятором секреции инсулина при гипергликемии.

Глюкозо-6-фосфатаза содержится исключительно в печени и катализирует образование свободной глюкозы из глюкозо-6-фосфата при распаде гликогена в печени, благодаря чему образуется свободная глюкоза, поступающая в общий кровоток и обеспечивающая поддержание энергетического обмена в периферических тканях.

Еще одним исключительным свойством печени является протекание реакций глюконеогенеза, утилизация лактата в цикле Кори и глюкозо-аланиновый цикл.

Особенности углеводного обмена в печени при насыщении и голодании.

Печень преимущественно относится к глюкозо-образующим тканям, нежели к глюкозо-потребляющим. В абсорбтивном периоде в печень поступает 60-100 грамм глюкозы, которые полностью утилизируются. Усиление обмена глюкозы при этом происходит за счет 5-ти механизмов:

1) усиление фосфорилирования глюкозы (глюкокиназа активируется высокой внутриклеточной концентрацией глюкозы в гепатоците);

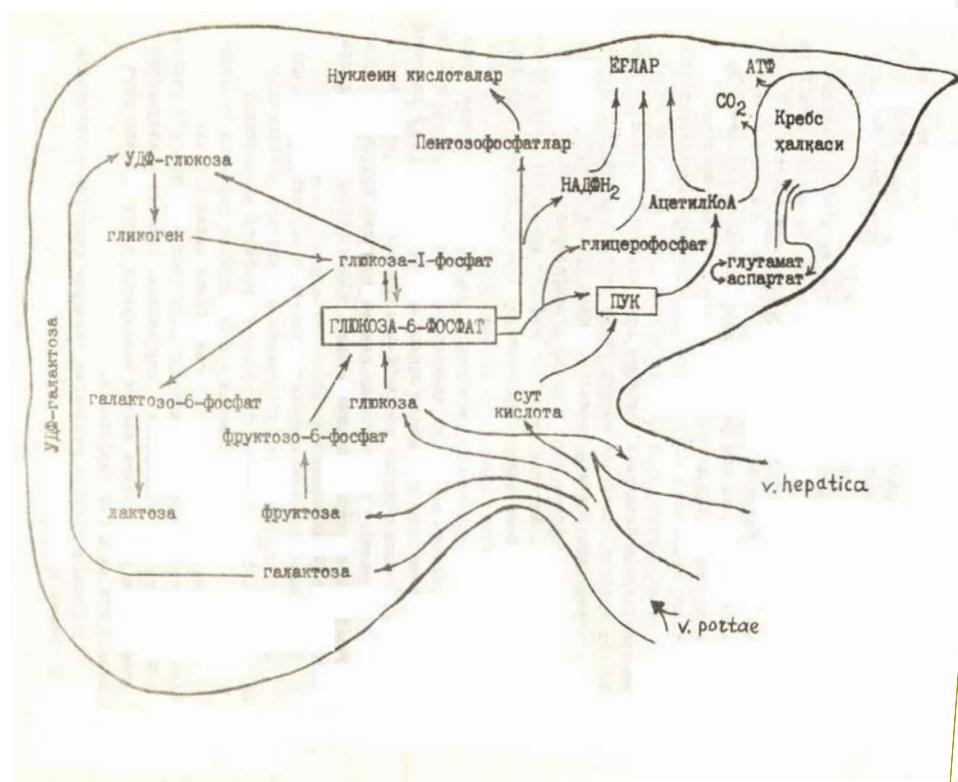
2) усиление синтеза гликогена (увеличивается соотношение инсулин/глюкагон, вследствие высокой концентрации инсулина активируется гликогенсинтаза, угнетается гликогенфосфорилаза);

3) увеличение активности гексозомонофосфатного пути;

4) усиление гликолиза (активация фосфофруктокиназы инсулином);

5) снижения глюконеогенеза (ключевой фермент процесса фруктозо-1,6-бисфосфатаза ингибируется инсулином; низкая активность пируваткарбоксилазы).

При голодании в печени в первую очередь происходит распад гликогена, затем глюконеогенез для поддержания уровня глюкозы крови и обеспечения энергетического метаболизма мозга и других глюкозозависимых тканей (рис.).



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt

Рис. Участие печени в обмене углеводов.

Особенности обмена фруктозы и галактозы в печени.

Печень – центральный орган обмена фруктозы. Кроме печени обмен фруктозы интенсивно протекает в почках, слизистой кишечника, т.к. эти ткани содержат фруктокиназу. Фруктокиназа превращает фруктозу во фруктозо-1-фосфат, которая далее под действием альдолазы В расщепляется

на дигидроксиацетонфосфат и глицеральдегид. Фруктоза и галактоза в печени могут метаболизироваться по пути гликолиза или глюконеогенеза. Поражение печени возникает при дефиците альдолазы В при врожденной непереносимости фруктозы.

Участие печени в обмене липидов.

Печень является важнейшей тканью, в которой синтезируются de novo жирные кислоты, кетоновые тела, холестерин, триглицериды, фосфолипиды. Исключительное значение имеет печень для синтеза липопротеинов – ЛПОНП, ЛПВП. В печени происходит катаболизм холестерина до желчных кислот; образуются активные метаболиты витамина Д – окси-холекальциферол; депонируется витамин А. Все эти процессы рассмотрены в предыдущих главах.

Состояние липидного обмена в печени при насыщении и голодании имеет следующие особенности. В абсорбтивном периоде в печени происходит 2 процесса:

1) усиливается синтез жирных кислот, т.к. увеличивается доступность субстратов – ацетил-КоА и НАДФН, получаемых как за счет метаболизма глюкозы, так и при активации ацетил-КоА-карбоксилазы, превращающей ацетил-КоА в малонил-КоА;

2) усиливается синтез триглицеридов (ТГ). ТГ затем в составе ЛПОНП выходят в кровоток и доставляются периферическим тканям, преимущественно в мышечную и жировую ткань.

При голодании в гепатоцитах усиливается окисление жирных кислот и кетогенез. Синтез кетоновых тел – 3-гидроксибутирата, ацетоацетата и ацетона происходит исключительно в печени, утилизация 3-гидроксибутирата и ацетоацетата происходит в периферических тканях (мышцы, мозг и др., кроме печени), ацетон, не расщепляясь, выводится

почками с мочой. Снижение способности периферических тканей окислять кетоновые тела и утилизировать ацетил-КоА в цикле Кребса в условиях дефицита углеводов (дефицит оксалоацетата) приводит к кетоацидозу и нейротоксичности ацетона.

Метионин, витамин В₁₂, холин являются липотропными веществами. В случае их дефицита наблюдается жировая дистрофия печени – накопление в печени нейтральных жиров, снижение синтеза фосфолипидов, снижение накопления гликогена. Жировая дистрофия печени наблюдается при алкоголизме, сахарном диабете.

Участие печени в обмене белков и аминокислот.

Значение печени в белковом обмене состоит в следующем: исключительно в печени происходит синтез мочевины; синтезируются белки плазмы крови (альбумин, гликопротеины, церулоплазмин, трансферрин, факторы свертывания крови - протромбин, фибриноген, проконвертин и проакцелерин); происходит промежуточный обмен аминокислот (общие пути катаболизма аминокислот – трансаминирование, дезаминирование (кроме лейцина, изолейцина, валина); специфические пути обмена отдельных аминокислот; синтез заменимых аминокислот); синтез холина. Также в печени синтезируется С-реактивный белок (СРБ) – маркер воспаления, коронарных событий, сепсиса.

Не останавливаясь подробно на общих и специфических путях обмена аминокислот, отметим, что печень не может катаболизировать аминокислоты с разветвленной цепью – лейцин, изолейцин, валин - они расщепляются в мышцах.

У новорожденных может иметь место преходящая недостаточность ферментов белкового обмена в печени, что приводит к следующим состояниям:

1) гипопроотеинемия, которая проходит на 2-3 году жизни;

2) гипопротромбинемия, нормализация происходит к 3-4 месяцам;

3) гиперфенилаланинемия и гипертирозинемия (дефицит фенилаланин гидроксилазы и тирозинтрансаминазы), к 2-4 месяцам жизни активность этих ферментов нормализуется;

4) гистидинемия (дефицит гистидин-аммиак-лиазы);

5) гипераммониемия (дефицит орнитинкарбамоилтрансферазы и карбамоилфосфатсинтазы).

В абсорбтивном периоде в печени усиливается синтез белков, в том числе и на экспорт, а при голодании, наоборот, усиливается катаболизм аминокислот для обеспечения глюконеогенеза.

9.3. Метаболизм и экскреция билирубина, синдром желтухи

Билирубин – продукт катаболизма гема, образующегося преимущественно при распаде эритроцитов, а также цитохромов и миоглобина. В крови билирубин присутствует в виде 2-х фракций: свободного и связанного билирубина.

Свободный билирубин составляет более 90% общего билирубина крови; не растворим в воде, поэтому в крови циркулирует в комплексе с альбумином; хорошо растворим в липидах, в связи с чем токсичен для ЦНС; не проходит через почечный барьер, поэтому в моче не определяется при повышении концентрации в крови; в печени он метаболизируется в связанный билирубин.

Связанный билирубин представляет собой билирубин-диглюкуронид, водорастворим, в норме выделяется с желчью в кишечник, в крови содержится в незначительном количестве, свободно проходит почечный

барьер, обнаруживается в моче при увеличении его концентрации в крови, придавая моче цвет пива.

Превращение свободного билирубина в связанный в печени происходит путем конъюгации с глюкуроновой кислотой в ее активной форме – УДФГК под действием фермента УДФГК-билирубин трансферазы (рис.).

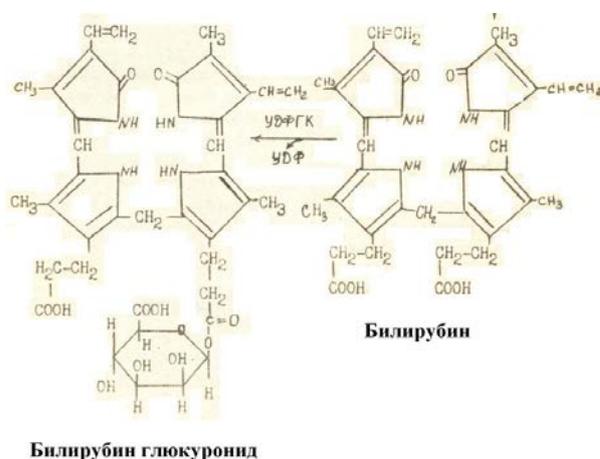
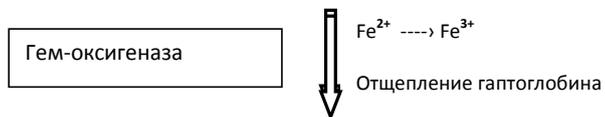


Рис. Конъюгация билирубина в печени.

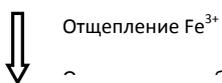
Ежедневно в печени образуется около 300 мг связанного билирубина, хотя здоровая печень способна экскретировать в 10 раз больше. Билирубин-диглюкуронид (связанный билирубин), попадая в кишечник, под действием ферментов бактерий превращается в уробилиноген и стеркобилиноген, которые в прямой кишке окисляются в уробилин и стеркобилин и выделяются с калом, придавая ему темный цвет. Частично уробилиноген всасывается в тонком кишечнике, с током крови через воротную вену попадает в печень и расщепляется там до ди- и трипирролов. Появление уробилина в моче свидетельствует о поражении печени. Стеркобилиноген всасывается в незначительном количестве через геморроидальные вены, попадает в общий кровоток и выделяется с мочой (рис.)

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt

НЬ-ГАПТОГЛОБИН



Вердохромальдегид



Биливердин

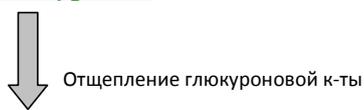
зеленого цвета



Билирубин

Билирубин → билирубин-диглюкуронид

УДФ-глюкуронил-трансфераза



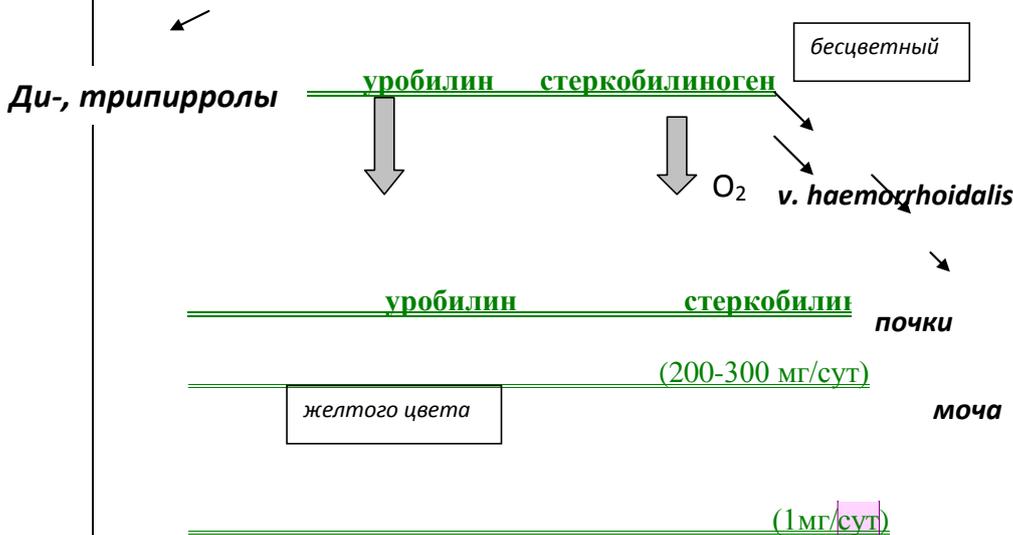
УРОБИНОГЕН

бесцветный

v. portae

Печень

Микрофлора толстого кишечника



Примечание [ПНЮ1]:

Рис. Катаболизм гема.

Увеличение концентрации общего билирубина в крови обуславливает развитие синдрома желтухи, т.к. билирубин способен окрашивать кожу и слизистые, склеры в желтый цвет.

По механизму развития выделяют 3 вида желтухи:

- надпеченочная (гемолитическая);
- печеночно-клеточная (при поражении гепатоцитов);
- подпеченочная (механическая, обтурационная – при нарушении оттока желчи).

Таблица.

Дифференциация вида желтухи осуществляется по следующим признакам

<u>Вид желтухи</u>	<u>Надпеченочная</u>	<u>Печеночно-клеточная</u>	<u>Подпеченочная</u>

<u>При</u> <u>чина</u>	<u>Гемолиз</u> эритроцитов, неэффективный эритропоэз	<u>Гепатит,</u> цирроз, амилоидоз	<u>Холестаз: желчные</u> камни, стеноз желчных протоков, карцинома желчных протоков и/или поджелудочной железы, холангит; атрезия желчных путей у новорожденных; ятрогенное (перевязка общего желчного протока или повреждение внутрипеченочных протоков при операциях на печени и удалении желчного пузыря).
<u>Сво</u> <u>бодный</u> <u>билируби</u> <u>н в крови</u>	<u>Увеличен до</u> 100 мкмоль/л	<u>Увеличен</u> за счет снижения конъюгации в печени	<u>Незначительно</u> увеличен
<u>Связ</u> <u>анный</u> <u>билируби</u> <u>н в крови</u>	<u>В норме</u>	<u>Увеличен</u> за счет увеличения проницаемости мембран гепатоцитов, когда компоненты желчи	<u>Резко увеличен до</u> 300 мкмоль/л

		<u>попадают в кровь</u>	
<u>При</u> <u>знаки в</u> <u>крови</u>	<u>Увеличивает</u> ся уробилиноген в крови. <u>Снижение</u> <u>гемоглобина,</u> <u>гаптоглобина.</u> <u>Умеренное</u> <u>повышение</u> <u>активности АСТ,</u> <u>гидроксibuтиратде</u> <u>гидрогеназы</u>	<u>Увеличен</u> <u>а активность</u> <u>АЛТ, АСТ,</u> <u>ГГТ.</u>	<u>Увеличена ЩФ, в</u> <u>крови присутствует особая</u> <u>фракция билирубина –</u> <u>конъюгированный</u> <u>билирубин, связанный</u> <u>ковалентно с альбумином;</u> <u>он появляется при</u> <u>длительной</u> <u>гипербилирубинемии</u>
<u>При</u> <u>знаки в</u> <u>моче</u>	<u>Увеличивает</u> ся уробилиноген	<u>Увеличив</u> <u>ается</u> <u>уробилиноген</u>	<u>Уробилина и</u> <u>стеркобилина в моче нет</u>
<u>Цве</u> <u>т мочи</u>	<u>Не изменен</u>	<u>Интенсив</u> <u>но желтый</u>	<u>Темно-коричневый</u> <u>(цвет пива)</u>
<u>Цве</u> <u>т кала</u>	<u>Темно</u> <u>коричневый</u>	<u>Коричнев</u> <u>ый</u>	<u>Бесцветный</u> <u>(«собачий»)</u>
<u>Цве</u> <u>т кожи</u>	<u>Зеленовато-</u> <u>желтый</u>	<u>Желтый</u>	<u>Шафраново-желтый</u>

Существуют также наследственные дефекты метаболизма билирубина, физиологическая желтуха новорожденных.

Физиологическая желтуха новорожденных развивается за счет сниженного синтеза активности глюкуронил трансферазы, а также в виду усиленного распада эритроцитов. Физиологическая желтуха самопроизвольно купируется к 10 дню жизни.

Синдром Жильбера – нарушен захват билирубина гепатоцитами из крови, сниженная конъюгация и экскреция билирубина, проявляется преходящей гипербилирубинемией за счет свободного билирубина (желтуха слабая, непостоянная, усиливается при голодании и инфекционных заболеваниях), биопсия печени нормальная, продолжительность жизни не нарушена.

Синдром Криглера-Найяра – дефект глюкуронил трансферазы. Характеризуется резким увеличением у новорожденного свободного билирубина (до 340 мкмоль/л) за счет:

1) отсутствия глюкуронил трансферазы (аутосомно-рецессивный тип), ранняя смерть от ядерной желтухи;

2) низкой активности глюкуронил трансферазы (частичная недостаточность фермента при аутосомно-доминантном типе), хорошо поддается лечению фенобарбиталом, фототерапией.

Синдром Дабина-Джонса – нарушено выделение (экскреция) билирубина в желчь, проявляется преходящей гипербилирубинемией за счет конъюгированного билирубина, отложение меланина в печени, продолжительность жизни нормальная.

Синдром Ротора – проявления сходны с таковыми при синдроме Дабина-Джонса, но отложения меланина в печени отсутствуют.

9.4. Обезвреживающая функция печени: детоксикация эндотоксинов и ксенобиотиков, химический канцерогенез.

Печень является важнейшим органом, обеспечивающим освобождение организма от «отработавших» биологически активных веществ эндогенного происхождения (стероидные гормоны, катехоламины, простагландины,

билирубин, продукты гниения белков в кишечнике) и от ксенобиотиков.
Ксенобиотики – вещества, поступающие в организм через ЖКТ, кожу,
легкие и не используемые для пластических и энергетических целей. К ним
относятся лекарства, консерванты, токсины.

Обезвреживание происходит в гладком эндоплазматическом
ретикулуме (ЭПР) гепатоцита. При центрифугировании ЭПР образует
пузырьки - микросомы, поэтому реакции, протекающие в гладком ЭПР,
получили название микросомального окисления.

Обезвреживание субстратов в гепатоцитах происходит в два этапа
(иногда состоит из одного этапа).

Первый этап – микросомальное окисление - заключается в
химической модификации гидрофобных веществ в гидрофильные путем
гидроксирования, окисления, восстановления.

Второй этап – реакции конъюгации с глюкуроновой, серной
кислотой, глицином, глутамином, ацетильным остатком, а также
метилование. Продукт этих реакций, как правило, хорошо растворим в
воде, легко удаляется из организма.

I этап. Микросомальное окисление. Компоненты цепи
микросомальной окислительной системы (МОС): цитохром P-450 (CYP),
цитохром-P-450 редуктаза (флавопротеин, имеет кофермент - ФАД или
ФМН); цитохром b5. Суть микросомального окисления состоит в том, что в
молекулу гидрофобного субстрата (R-H₂) внедряется атом кислорода, что
превращает субстрат в гидрофильное вещество (R-OH), чем значительно
облегчается его дальнейший метаболизм. Донором электронов для активации
кислорода служит НАДФН, он окисляется под действием цитохром-P-450-
редуктазы, электроны переносятся на цитохром b5, затем на цитохром-P-450.
Ключевой компонент цепи МОС – цитохром P-450: он непосредственно

активирует кислород, связывает субстрат и внедряет в него атом кислорода (рис.)

I стадия: микросомальное окисление

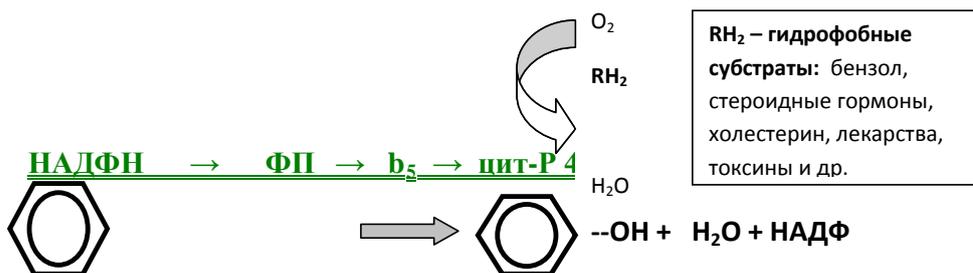


Рис. Схема цепи микросомального окисления.

Если в молекулу субстрата внедряется 1 атом кислорода, то реакция катализируется монооксигеназами; если – 2 атома кислорода – диоксигеназами. В монооксигеназных реакциях происходит образование тройного комплекса: *цитохром P-450 – субстрат – кислород* с последующей активацией кислорода и внедрением одного его атома в субстрат. Второй атом кислорода расходуется на образование воды. Донором электронов в

этих реакциях служит восстановленный НАДФН. Почти весь клеточный НАДФН окисляется в митохондриях, а скорость его окисления регулируется скоростью переноса электронов с НАДФН-цитохром Р-450-редуктазы на цитохром Р-450; активация кислорода на цитохроме Р-450 является лимитирующей стадией процесса.

В диоксигеназных реакциях (реакции перекисного окисления липидов – ПОЛ), когда в молекулу субстрата внедряется вся молекула кислорода, цитохром Р-450 может быть центром радикалообразования, благодаря инициации ПОЛ на SH-группах его апофермента при связывании Fe, а также в случаях, когда цитохром Р-450 выступает в роли гидроксипероксидазы при разрушении гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот.

В зависимости от типа субстрата в МСОС протекают реакции:

- гидроксилирования;
- эпоксилирования;
- N-окисления;
- N-, S-, O-деалкилирования;
- восстановление нитросоединений и др.

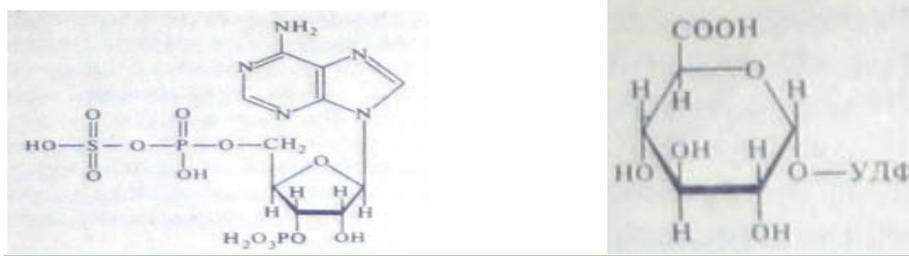
Благодаря реакциям митохондриального окисления происходит гидроксилирование биогенных аминов (адреналина, триптамина, серотонина), окисление холестерина и желчных кислот, синтезируются простагландины, стероидные гормоны. Многие ароматические углеводороды обезвреживаются путем окисления с образованием соответствующих карбоновых кислот, нитробензол превращается в парааминофенол.

Отдельного внимания заслуживает *цитохром Р-450*. Он обладает широчайшей субстратной специфичностью и может присоединять более 7000 различных субстратов. Существует более 70 изоформ цитохрома-Р-450, которые образуют 4 семейства: СYP 1-4. В печени наиболее широко представлено семейство СYP 3А, СYP2Е. Цитохром Р-450 может

индуцироваться или ингибироваться, превращаясь в неактивную форму – цитохром P-420. Учитывая, что большинство субстратов цитохрома P-450 – это лекарства и ксенобиотики, длительность терапевтического действия лекарств определяется скоростью их метаболизма в печени. При ингибировании цитохрома P-450 обезвреживание лекарств замедляется, длительность их действия и токсичность – возрастают. При беременности также меняется активность цитохромов P-450, что обуславливает особенности метаболизма лекарств и токсинов. В ряде случаев, после биотрансформации в МОС вещество становится еще более токсичным, что приводит к химическому канцерогенезу.

2 этап. Реакции конъюгации. В реакциях конъюгации участвуют различные вещества в активной форме: серная кислота в виде фосфоаденозилфосфосульфата (ФАФС), глюкуроновая кислота в виде УДФГК, метионин в виде S-аденозил-метионина; глицин, глутамин и др. (рис.)

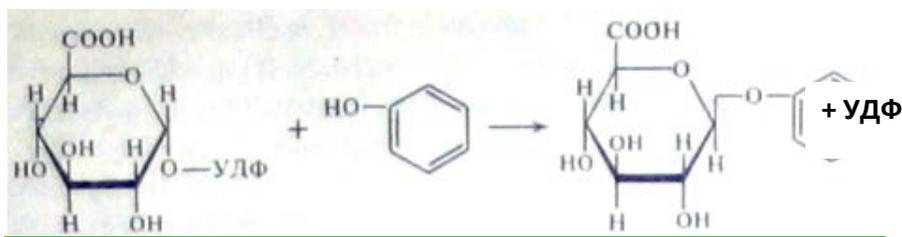
II стадия Реакции конъюгации



3'-фосфоаденозил-5'-фосфосульфат (ФАФС) УДФ-глюкуронат (УДФГК)

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

УДФ-глюкуронат + фенол → фенилглюкуронид + УДФ

Рис. Активная форма серной и глюкуроновой кислот, реакция конъюгации фенола.

В реакциях конъюгации обезвреживаются продукты гниения белков в кишечнике – фенол (образуется из тирозина), индол, скатол (образуются из триптофана). Индол, конъюгируя с ФАФС, превращается в индоксил, а затем, в животный индикан, который выводится с мочой. По количеству индикана в моче судят о скорости гниения белков в кишечнике и функциональном состоянии печени. Для оценки функционального состояния печени использовали пробу Квика: бензойная кислота конъюгирует с глицином, образуя гиппуровую кислоту, количество которой определяли в моче. Важное место в обезвреживании ксенобиотиков занимают глутатион-S-трансферазы (ГТ), они восстанавливают цитотоксичные органические пероксиды до спиртов, глутатион участвует в обезвреживании эпоксидов, органических фосфатов, тиоцианатов, гетероциклических соединений; отдельного внимания заслуживает глутатионовая система в антиоксидантной защите организма (см. далее гл.10).

Обезвреживание гормонов.

Гормоны, оказав свое действие, подвергаются катаболизму в печени. Стероидные гормоны: тестостерон, альдостерон, эстрадиол

гидроксилируются, а затем конъюгируют с ФАФС и УДФГК. Продукты гидроксилирования эстрадиола – 16-гидроксиэстрадиол и 4-гидроксиэстрадиол, особенно при избыточном образовании, в отличие от 2-гидроксиэстрадиола, обладают способностью провоцировать канцерогенез. При циррозе печени инактивация стероидных гормонов замедляется, что приводит к увеличению их концентрации в крови и последующей атрофии гонад, т.к. синтез гормонов регулируется по механизму отрицательной обратной связи. Тироксин обезвреживается трансаминированием в кетопроизводное, а также конъюгируя по фенольной группе с ФАФС или УДФГК. Адреналин и норадреналин последовательно дезаминируются, метилируются и конъюгируют с ФАФС или УДФГК.

Обезвреживание лекарств.

Как было уже сказано выше, длительность терапевтического действия лекарств определяется скоростью их метаболизма в печени. Гидрофильные вещества могут выводиться из организма в неизмененном виде, однако в большинстве случаев лекарства подвергаются биотрансформации в печени. Результат биотрансформации может быть разным: инактивация (нитриты, фенобарбитал, эфедрин); активация (норморфин, метиллофа, бутадиион); появление метаболитов, токсичных для организма (фенацетин, сульфаниламиды).

Примеры: **аспирин** конъюгирует с УДФГК или глицином, либо превращается в гентизиновую кислоту; **фенобарбитал** гидроксилируется, затем конъюгирует с УДФГК; **изониазид** ацетируется и выводится в виде ацетилизониозида и изоникотиновой кислоты. **Морфин** под действием цитохрома Р450 превращается в норморфин (в 6 раз токсичнее морфина), который далее в реакции конъюгации с УДФГК образует глюкуронид-норморфин. **Кодеин**, входящий в состав противокашлевых препаратов, под действием цитохрома Р450 превращается в морфин, который обезвреживается по ранее описанному механизму. **Фенацетин** под

действием цитохрома P450 - 1A2 превращается в ацетаминофен (парацетамол), который далее метаболизируется в 3 различных продукта в зависимости от фермента: под действием УДФ-глюкуронилтрансферазы – в глюкуронид-ацетаминофен; под действием сульфотрансферазы – в сульфат-аминофен; под действием цитохрома P-450 - 1A и P-450 - 3A – в N-ацетил-р-бензохинонимин (гепатотоксичное вещество). Также фенацетин под действием деацилазы превращается в парафенетидин, который является метгемоглобинообразователем и гепатотоксичен. Кофеин активирует цитохром P-450 - 3A, а на P-450 - 1A оказывает ингибирующее действие.

Метаболизм этанола. Превращение этанола в печени осуществляется тремя путями с образованием токсичного промежуточного продукта – ацетальдегида.

1) Этанол под действием НАД-зависимой алкогольдегидрогеназы (АДГ) превращается в ацетальдегид с образованием НАДН. АДГ – цинк зависимый фермент, локализуется в цитоплазме и митохондриях, не индуцируется, имеет 2 изоформы.

2) Этанол под действием цитохрома P450 - 2E1 и НАДФН образует ацетальдегид, при этом также образуется НАДФ. Этот путь протекает в ЭПР, фермент индуцируется, имеет значение при злоупотреблении алкоголем; сопровождается образованием активных форм кислорода.

3) Этанол при взаимодействии с перекисью водорода под действием каталазы превращается в ацетальдегид. Этот путь протекает в митохондриях.

Дальнейший метаболизм ацетальдегида происходит до образования уксусной кислоты 2 путями: под действием ФАД-зависимой альдегидоксидазы (с образованием перекиси водорода) и под действием НАД-зависимой ацетальдегиддегидрогеназы (с образованием НАДН). Альдегидоксидаза и ацетальдегиддегидрогеназа по-разному распределены в клетке: в цитозоле – 80/20%; в митохондриях – 20/80%.

Факторы, влияющие на детоксикационную функцию печени.

Интенсивность обезвреживания ксенобиотиков зависит от активности ферментов МОС и целостности мембран МОС. На активность МОС влияет содержание гликогена, фосфолипидов, белков, количество аскорбиновой кислоты в печени, а также дефицит селена, магния, железа. Снижение биотрансформации вследствие снижения активности МОС наблюдается у детей, стариков, при голодании, мембранодеструктивных процессах в МОС, окислительном стрессе. Увеличение активности ферментов МОС наблюдается под действием тестостерона и кортизола. Существуют вещества, оказывающие индуцирующее и ингибирующее действие на ферменты МОС. **Индукторы:** их 2 типа – фенобарбиталового типа (усиливают синтез ферментов МОС) и метилхолантренового типа (увеличивают каталитическую активность цитохрома Р-450). Пример: после введения фенобарбитала в 2 раза ускоряется биотрансформация нитроглицерина и исчезает его побочный эффект – головные боли. Введение фенобарбитала используют при лечении гемолитической болезни новорожденных для усиления конъюгации билирубина в печени. Фенобарбитал и бензонал используют при отравлении гепатотропными ядами. **Ингибиторы** МОС – гепатотропные яды, перекись водорода, алкоголь, ФОС, пестициды, гексахлоргексидин и др. Ингибиторы цитохрома Р-450: аминазин, аллопуринол, тетурам, оральные контрацептивы, циклосерин.

Химический канцерогенез.

При биотрансформации в МОС печени ряд соединений становятся еще более токсичными, превращаясь в канцерогены. Эти вещества называют проканцерогенами. К ним относятся следующие (таблица).

<u>Источник</u>	<u>Название</u>	<u>Название</u> <u>канцерогена,</u>	<u>Патологи</u> <u>ческое</u>
-----------------	-----------------	--	----------------------------------

<u>проканцерогена</u>	<u>проканцерогена</u>	<u>образующегося при</u> <u>«обезвреживании»</u>	<u>состояние,</u> <u>обусловленное</u> <u>действием</u> <u>канцерогена</u>
<u>Табачный</u> <u>дым</u>	<u>Бензпирен</u>	<u>оксибензпирен</u>	<u>Рак</u> <u>легких и др.</u>
<u>Продукты</u> <u>горения</u> <u>(каменноугольная</u> <u>сажа), табачный</u> <u>дым, выхлопные</u> <u>газы,</u> <u>коксохимическое</u> <u>производство</u>	<u>Полициклически</u> <u>е ароматические</u> <u>углеводороды:</u> <u>бензантрацен,</u> <u>метилхолантрен,</u> <u>бензол</u>	<u>Эпоксид</u> <u>бензантрацена</u> <u>способен алкилировать</u> <u>ДНК, РНК, белки</u>	<u>Рак кожи</u>
<u>Производст</u> <u>во анилиновых</u> <u>красителей</u>	<u>Ароматические</u> <u>амины: нафтиламин,</u> <u>метиламинобензол,</u>	<u>Повреждение</u> <u>ДНК</u>	<u>Рак</u> <u>мочевого</u> <u>пузыря</u>
<u>Производст</u> <u>во дефолиантов,</u> <u>целлюлозно-</u> <u>бумажная</u> <u>промышленность,</u> <u>горящие свалки,</u> <u>хлорирование</u> <u>воды</u>	<u>Диоксины:</u> <u>тетрахлорбензодиоксин</u>	<u>Повреждение</u> <u>ДНК</u>	<u>Поврежде</u> <u>ние ДНК</u>
<u>Инсектицид</u> <u>ы</u>	<u>Ацетиламинофл</u> <u>юорен</u>	<u>Ацетиламинофл</u> <u>юорен-сульфат</u>	<u>Рак</u> <u>печени</u>

<u>Плесневые грибы зерновых продуктов</u>	<u>Микотоксины:</u> <u>афлотоксин</u>	<u>Повреждение ДНК</u>	<u>Первичный рак печени</u>
<u>Консерванты рыбы и мясных продуктов - колбас</u>	<u>Нитрозамины:</u> <u>диметилнитрозамин,</u> <u>диэтилнитрозамин</u>	<u>Превращают цитозин в урацил в молекуле ДНК, обуславливая мутации; нитраты являются сильными окислителями</u>	<u>Рак печени, почек, легких, желудка, пищевода.</u>

Как видно из таблицы, химические канцерогены способны повреждать ДНК. Второй механизм развития химического канцерогенеза – это трансформация протоонкогенов в онкогены. Протоонкоген – нормальный ген, содержащий информацию о белке, регулирующем нормальную пролиферацию. Онкоген – ген, экспрессия которого приводит к неконтролируемой пролиферации клеток. Протоонкоген способен превратиться в онкоген при изменении регуляторных или структурных генов, входящих в состав его оперона.

9.5. Желчь и дисхолия

Желчь – жидкий секрет желтовато-коричневого цвета, вырабатывается в печени в количестве 10 мл/кг массы тела (примерно 500-700 мл/сут). Вне пищеварения печеночная желчь переходит в желчный пузырь, где происходит ее депонирование, сгущение (в 5-10 раз за счет всасывания воды и электролитов). Функции желчи: участие в переваривании липидов – эмульгирование жиров, активация панкреатической липазы, участие в образовании мицелл при всасывании компонентов гидролиза жиров. К основным компонентам желчи относят желчные кислоты,

холестерин, фосфолипиды, билирубин, соли, также желчь содержит муцин, ферменты, электролиты, продукты биодegradации лекарств. Основной компонент желчи – желчные кислоты. Синтез желчных кислот из холестерина описан в предыдущих главах. Нарушение состава желчи – дисхолия. Дисхолия наблюдается при изменении соотношения желчные кислоты/холестерин; при снижении содержания желчных кислот и увеличении концентрации холестерина, он начинает выпадать в осадок, что способствует образованию желчных камней, особенно при застое желчи и наличии инфекции.

Гепатотоксичность. Некоторые лекарства способны вызвать поражение печени: дозозависимая гепатотоксичность имеется у парацетамола, салицилатов, тетрациклинов, азатиоприна, метотрексата; идиосинкразическая гепатотоксичность – у изониазида, галотана, метил-ДОФА, рифампицина, дантролена, нитрофурантоина; дозозависимый холестаз вызывает метилтестостерон; идиосинкразический холестатический гепатит – хлопромазин, толбутамид, эритромицин. Гепатотропными ядами являются четыреххлористый углерод, пестициды, ФОС.

Глава 12.

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И АНТИОКСИДАНТЫ

Использование кислорода организмами в процессе жизнедеятельности началось около 1.4 миллиарда лет назад. Древнейшие организмы были анаэробами, но, когда за счет солнечной энергии возник фотосинтез и на Земле появился кислород, то представилась возможность из органических веществ и кислорода получить «биологическую энергию» – АТФ. Этот процесс и положил начало зарождению аэробных (кислород-потребляющих) форм живых существ, т.е. появлению более сложных форм жизни. Так кислород сыграл исключительно важную роль в эволюции живой материи и в регуляции клеточного деления. Современные организмы активно используют кислород для запасания энергии, в основном в форме АТФ, которая, в свою очередь, расходуется на все нужды клетки.

В то же время живым организмам пришлось приспосабливаться к «токсичности» кислорода. В виду особенностей климата, сильнейшей солнечной радиации, имевшихся в то время на Земле, и уникальности своей электронной структуры кислород оказался «губительным» для организмов, т.к. в этих условиях образовывались его свободные радикалы – **активные формы кислорода (АФК)** - промежуточные метаболиты в процессе ступенчатого восстановления кислорода. Они оказывали разрушительное действие на органические молекулы – повреждали липиды клеточных мембран, белки, ДНК. Более того, окисление органических молекул под действием АФК происходит по цепному механизму – т.е. лавинообразно, когда в процессе реакции образуется все большее и большее количество радикалов, разветвляющих цепи окисления. Чтобы выжить, организмам

необходимо было создать мощную систему защиты от АФК – антиоксидантную систему. Так появились ферменты, каталаза, супероксиддисмутаза и пероксидазы, составляющие основу антиоксидантной системы организма (АОС). Обитатели океанов, выжившие в палеозойскую эру, содержат огромное количество антиоксидантов в своем организме. В тоже время молекулярный кислород и продукт его полного восстановления – вода, не представляют никакой опасности для клеток.

Говоря об АФК и процессах свободно-радикального окисления (СРО) в клетках, необходимо подчеркнуть их удивительную распространенность и значимость для организма. В норме АФК необходимы для регуляции фосфолипидного состава мембран клеток, передачи сигнала в клетки, активации путей пролиферации и дифференциации клеток, однако избыток АФК оказывает мембранодеструктивное, цитопатическое и цитостатическое действие. АФК – сенсоры изменения концентрации кислорода в клетке, регуляторы апоптоза, сосудистого тонуса, клеточной пролиферации и роста, посредством АФК осуществляется интеграция между всеми типами клеточных элементов тканей, чувствительность этих клеток к действию стресс-фактора.

В норме в организме всегда имеется баланс АФК и антиоксидантов. За счет ограничивающего действия АОС синтез АФК поддерживается на постоянном низком уровне, необходимом для поддержания физиологических функций. Отклонение интенсивности СРО от стационарного уровня считается универсальным механизмом повреждения мембран клеток, ведет к увеличению их проницаемости и нарушению клеточного гомеостаза. Помимо этого, активные формы кислорода выполняют роль сигнальных молекул, инициируя апоптогенные сигналы и участвуя таким образом в программируемой гибели клеток.

Т.о., продукция АФК – постоянно происходящий в организме процесс, физиологически сбалансированный за счёт активности эндогенных

антиоксидантных систем. При чрезмерном увеличении продукции свободных радикалов вследствие прооксидантных воздействий и/или несостоятельности антиоксидантной защиты развивается **окислительный стресс**, сопровождающийся повреждением белков, липидов и ДНК. Эти процессы значительно усиливаются на фоне снижения активности антиоксидантных систем организма, защищающих клетки и ткани от губительного действия свободных радикалов. В дальнейшем это приводит к развитию главных болезней человечества: атеросклероза, ИБС, сахарного диабета, артериальной гипертензии, иммунодефицитных состояний, злокачественных новообразований и к преждевременному старению.

10.1. Активные формы кислорода в живых системах

В органических молекулах электроны на внешней электронной оболочке располагаются парами – одна пара на каждой орбитали. Свободные радикалы отличаются от обычных молекул тем, что у них на внешней электронной оболочке имеется **неспаренный** (одиночный) электрон. **Свободные радикалы** – это частицы с неспаренными электронами на внешних атомных орбиталях, отличающиеся высокой реакционной способностью. Неспаренный электрон в радикалах принято обозначать точкой (*). Свободный радикал всегда стремится «украсть» электрон у другой молекулы, окисляя её, чтобы стабилизировать свою собственную структуру. К свободным радикалам относятся активные формы кислорода (АФК, ROS) и азота (АФА, RNS).

К активным формам кислорода относятся 6 его производных: - атомарный кислород – O, озон – O₃, синглетный кислород – ¹O₂, супероксидный радикал – (*OO⁻), гидроксильный радикал – HO* и гидропероксидный (перекисный) радикал. Если атомарный кислород и озон не относятся к продуктам жизнедеятельности, то четыре другие активные формы O₂ непрерывно образуются в сложной цепи окислительных реакций живого организма.

Выделяют **природные и чужеродные радикалы кислорода.**
Чужеродные радикалы образуются при действии ионизирующей радиации, ультрафиолетового облучения (УФО), а также при обезвреживании ксенобиотиков. Природные радикалы образуются в организме ферментативным путем, их разделяют на **первичные и вторичные.**
Первичные: это прежде всего **супероксид-радикал, нитроксид, семихиноны,** они образуются в кислородтранспортных системах клетки – митохондриях, микросомах. Вторичные радикалы образуются в результате дальнейших превращений первичных радикалов, а также в ряде других реакций с участием металлов переменной валентности (Fe) из перекиси водорода, гипохлорита и гидроперекисей липидов. Вторичные радикалы – **гидроксил-радикал и радикалы липидов** – оказывают разрушительное действие на клеточные структуры. Существуют также **третичные** радикалы – это радикалы антиоксидантов (таблица).

Классификация свободных радикалов по Ю.А. Владимирову (2001)

<u>ПРИРОДНЫЕ</u>			<u>ЧУЖЕРОДНЫЕ</u>
<u>Первичные</u>	<u>Вторичные</u>	<u>Третичные</u>	
<u>Супероксид (*OO⁻)</u>	<u>Гидроксил (*OH)</u>	<u>Радикалы антиоксидантов</u>	<u>Радикалы воды и биомолекул (образуются под действием радиации)</u>
<u>Нитроксид (*NO)</u>	<u>Радикалы липидов: LO*, L*, LOO*</u>		<u>Радикалы молекул-хромофоров (образуются под действием УФО)</u>
<u>Семихиноны: коэнзим Q (HQ*),</u>			<u>Радикалы токсических веществ (образуются при</u>

<u>флавоксиминоны</u>		<u>обезвреживании ксенобиотиков)</u>
-----------------------	--	--------------------------------------

Физиологически свободные радикалы кислорода и азота образуются в результате естественных окислительно-восстановительных реакций в электрон-транспортных системах клетки: митохондриях (супероксид-радикал и перекись водорода), микросомах (супероксид-радикал), пероксисомах (перекись водорода), а также в результате активации НАДФН-оксидазы фагоцитов, Т-лимфоцитов (оксид азота, гипохлорит) при иммунном ответе и метаболизме арахидоновой кислоты. Превращения веществ с участием цитохрома Р-450 также сопровождаются генерацией АФК (перекисей, гидроксил-радикала, супероксид-аниона, окиси углерода), образующихся при переносе электронов от НАДФН на кислород. Гемоксигеназа-1 – фермент, обеспечивающий цитопротекцию от АФК: она конкурирует с цитохромом Р-450 за связывание НАДФН-цитохром - Р450-редуктазой, снижая таким образом цитохром Р450-ассоциированную продукцию АФК. Механизмы контроля гена изоформ цитохрома Р-450 СYP3A4 и СYP3A7 зависят от экспрессии гена гипоксия-индуцибельного фактора альфа (HIF-1 α), они ингибированы при гипоксии, менее выражены у плодов относительно взрослых и различны у взрослых и новорожденных.

Таким образом, в результате потребления клетками молекулярного кислорода в ходе реакций неизбежно синтезируются его активные формы. Как в митохондриальной, так и в микросомальной системах происходит взаимодействие кислорода с восстановителями, в результате которого образуются свободные радикалы. Физиологический баланс регулируется эндогенной АОС; также имеет значение уровень транскрипции генов: гемоксигеназы-1, тиоредоксина, сульфоредаксина, ферритина Н, каталитической субъединицы глутаматцистеиниллигазы, глутатионсинтазы.

10.2. Механизмы образования и обезвреживания АФК, цепной механизм реакций свободно-радикального окисления

Супероксид-радикал и продукты его метаболизма. Супероксидные радикалы ($\cdot\text{O}_2^-$, либо *OO^\ominus) образуются при восстановлении молекулярного кислорода ферментом НАДФН-оксидазой: $\text{НАДФН} + 2\text{O}=\text{O} \text{---->} \text{НАД} + 2$ (*OO^\ominus). Схематически это уравнение выглядит так: $\text{O}_2 + \text{e}^- \text{---->} \text{*OO}^\ominus$

Основным продуцентом супероксидрадикала являются клетки фагоциты: в крови это нейтрофилы и моноциты, в тканях – макрофаги. Все эти клетки, соприкасаясь с поверхностью клеток бактерий, начинают энергично выделять свободные радикалы, выполняющие антимикробную функцию. Уничтожая микробы, супероксид-радикалы могут нанести вред, как самим фагоцитам, так и другим клеткам крови. Естественно, что все эти клетки стараются избавиться от супероксид-радикалов, для чего они вырабатывают ферменты, называемые супероксиддисмутазами (СОД). Различаясь по строению активного центра и структуре полипептидной цепи, все СОД катализируют одну и ту же реакцию дисмутации супероксидного радикала:



Продуктами метаболизма супероксид-радикала являются: H_2O_2 – перекись водорода, HO^\bullet – гидроксил-радикал, ClO^\ominus – гипохлорит. В норме фагоциты используют перекись водорода для синтеза гипохлорита, выделяя специальный фермент – миелопероксидазу (МПО). Миелопероксидаза катализирует реакцию: $\text{НООН} + \text{Cl}^- \text{---->} \text{H}_2\text{O} + \text{ClO}^\ominus$ (гипохлорит). Гипохлорит разрушает стенку бактериальной клетки и тем самым убивает бактерии. Также под действием миелопероксидазы из H_2O_2 в присутствии хлорид-ионов образуется мощнейший окислитель – хлорноватистая кислота HOCl . Перекись водорода также способна продуцироваться пероксисомальными уратоксидазой, гликолатоксидазой, L-α-гидроксилой оксидазой, D-оксидазой аминокислот. Она диффундирует в клетки, свободно проникая через клеточные мембраны, участвует в регуляции дыхательной

цепи митохондрий. H_2O_2 является слабым окислителем и обычно легко обезвреживается *глутатионпероксидазой* и *каталазой*, которые катализируют соответственно такие реакции:



Источниками супероксидных радикалов и H_2O_2 могут быть ксантиноксидаза цитозоля, альдегидоксидаза, L-гулонолактонооксидаза пероксисом, дегидрооротатдегидрогеназа, пиридоксаминооксидаза митохондрий, диаминооксидаза, НАДФН-цитохром C редуктаза, НАДН-цитохром C редуктаза эндоплазматического ретикулума. Наиболее изученным ферментом, продуцирующим супероксид-радикал, является ксантиноксидаза, содержащая в активном центре Mo^{5+} . В здоровых клетках она представлена в основном в виде НАДН-зависимой ксантиндегидрогеназы, которая при различных патологических процессах превращается в оксидантпродуцирующую форму.

Участие супероксидных радикалов в процессе повреждения биологических структур: инициация перекисного окисления липидов, повреждение молекул ДНК, окисление SH-групп белков, инактивация ферментов, деполимеризация полисахаридов не вызывает сомнения. Однако непосредственный повреждающий эффект в большинстве случаев обусловлен значительно более активным *гидроксильным радикалом* и *синглетным кислородом*, образующимися при взаимодействии супероксидных радикалов и перекиси водорода в ходе реакции Габера-Вейса:



Образование гидроксильных радикалов происходит также в реакции Фентона из H_2O_2 в присутствии ионов металлов переменной валентности: $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\ominus} + HO^{\bullet}$. Синтез гидроксильных радикалов приводит к печальным последствиям для окружающих клеток, т.к. HO^{\bullet} по праву считается наиболее агрессивным и опасным врагом для органических молекул. Радикал гидроксила чрезвычайно активен химически и разрушает почти любую, встретившуюся ему молекулу. Он почти мгновенно (в течение

$7 \cdot 10^{-10}$ с) вступает в реакции с белками, нуклеиновыми кислотами, липидами, разрушая клеточные структуры и способствуя образованию продуктов свободно-радикального окисления – перекисей, альдегидов, кетонов, представляющих собой высокотоксичные соединения. Действуя на SH-группы, гистидиновые и другие аминокислотные остатки белков, HO^* вызывает денатурацию последних и инактивирует ферменты. В нуклеиновых кислотах HO^* разрушает углеводные мостики между нуклеотидами и, таким образом, разрывает цепи ДНК и РНК, в результате чего происходят мутации и гибель клеток. Внедряясь в липидный слой клеточных мембран, радикал гидроксила запускает реакции цепного окисления липидов, что приводит к повреждению мембран, нарушению их функций и гибели клеток. Окисление Fe^{2+} гемоглобина гидроксил радикалом интенсифицирует процессы СРО, в результате чего образуется метгемоглобин. Таким образом, радикал HO^* – это радикал-разрушитель, радикал-убийца. До сих пор не обнаружено компонента антиоксидантной системы, который бы специфически обезвреживал гидроксил-радикал. Гидроксильный радикал образуется не только в реакциях Габера-Вейса и Фентона. Показано, что радикалы гидроксила образуются также при взаимодействии ионов железа (Fe^{2+}) с гипохлоритом. При этом радикал гидроксила выделяется даже с более высоким выходом, чем в реакции Фентона:



Обобщая, укажем реакции образования гидроксил-радикала:



Генерация супероксидных радикалов усиливается в очагах воспаления при контакте макрофагов с антигеном. Находясь в избытке, супероксидные

радикалы могут давать неблагоприятные эффекты, главным образом в результате двух реакций: образования ионов двухвалентного железа (из трехвалентного) и связывание оксида азота. Оксид азота (NO) – относится к активным формам азота, ещё один тип свободных радикалов, который наиболее интенсивно изучается в последнее время. NO образуется эндотелиальными и гладкомышечными клетками стенок кровеносных сосудов, фагоцитами, нервными и многими другими клетками. Реакция катализируется гемсодержащими ферментами – **NO-синтазами.** **Существуют 3 изоформы NO-синтазы:** nNOS – нейронная – регулирует синаптогенез и ремоделирование, ее активность зависит от ионов Ca^{2+} ; e-NOS – эндотелиальная, также кальций-зависимая, – регулирует сосудистый тонус, вазодилатацию; i-NOS – индуцибельная – присутствует в макрофагах и астроцитах, она индуцируется цитокинами, независима от Ca^{2+} . Оксид азота относительно стабилен (время жизни составляет несколько секунд) и способен проникать через клеточные мембраны, выступая в качестве вторичного посредника в передаче сигналов. Природный свободный радикал (*NO), выполняет в организме несколько функций. Во-первых, в присутствии соединений, содержащих SH-группы, из NO образуется предшественник выделяемого клетками эндотелия стенок кровеносных сосудов «**фактор расслабления**» (EDRF - Endothelium derived relaxing factor), играющий ведущую роль в регуляции тонуса сосудов и кровяного давления. Недостаток «фактора расслабления» приводит к гипертонии, избыток – к гипотонии. Во-вторых, NO выделяется макрофагами крови и тканей и играет роль **противогрибкового фактора.** Полагают, что цитотоксическое действие NO обусловлено его реакцией с супероксидом. Окись азота - весьма реактивное соединение, легко образующее комплексы с окружающими молекулами, например, сывороточным альбумином и гемоглобином. В присутствии кислорода как сама NO, так и ее комплексы постепенно окисляются с образованием нитратов и других соединений. Имеются данные о том, что светочувствительные комплексы NO существуют в тканях и распадаются при

освещении. Это приводит к феномену фоторелаксации – расслаблению стенок кровеносных сосудов при освещении в ближней ультрафиолетовой области. Однако какие именно соединения могут распадаться в живой ткани с образованием окиси азота, остается загадкой. При повышении уровня супероксид-радикалов NO входит в реакцию с ними и образует цитотоксический **пероксинитрит**, который вызывает повреждение тканей воспалительного характера:



Пероксинитрит, образующийся в этой реакции, может разлагаться с образованием *OH:



Образование пероксинитрита и радикала гидроксила приводит к повреждению клеток. Хорошо, если повреждающее действие системы (*NO + супероксид) направлено на болезнетворные микроорганизмы. Плохо, если оно направлено на свои собственные клетки и ткани. Поэтому в тех участках кровяного русла, где выделяется NO* (как необходимый регулятор кровяного давления), не должно быть супероксидных радикалов. Для этого, в частности, в этих местах синтезируется фермент СОД, который удаляет супероксид. В частности, при гипоксии и при возбуждении N-метил-D-аспартат (NMDA)-рецепторов в мозге продукция NO под действием nNOS усиливается, при этом NO-радикал оказывает повреждающее действие на нейронную ДНК, а взаимодействие его с супероксид-радикалом приводит к образованию пероксинитрита и гидроксил-аниона. Супероксид-анион связывает NO-радикал, обладающий сосудорасширяющим действием, а образовавшийся в ходе реакции пероксинитрит вызывает вазоспазм. Использование статинов способствует увеличению биодоступности оксида азота и его вазодилатирующего действия, что позволяет снизить периферическую вазоконстрикцию и «обкрадывание» мозга у плода и новорожденных. Некоторые авторы предполагают, что потеря барорефлекторной чувствительности в регуляции сердечного ритма при

гипоксии обусловлена избирательной гибелью клеток Nucleus ambiguus под действием пероксинитрита, чем и обусловлена тахикардия.

Железо и многие другие биологически-значимые металлы обладают способностью связывать непарный электрон NO-молекулы. Связывание металлосодержащих белков с NO приводит к ингибированию ферментов, содержащих гемовое и негемовое железо. При этом угнетение активности цитохромоксидазы, цитохрома P-450, оксидоредуктаз, нитроредуктазы, NOS и других может быть, как обратимым, так и необратимым. Длительная продукция NO, обусловленная скоплением супрессора опухолевого роста-53, приводит к индукции апоптоза. Несмотря на то, что супероксиданион также вызывает индукцию апоптоза, одновременное существование этих двух радикалов в сбалансированной пропорции оказывает перекрестный защитный эффект и апоптоз значительно тормозится. Оксид азота – регулятор дыхания в митохондриях – конкурирует с кислородом за связывание с цитохромом a_3 ; ионами меди в активном центре цитохромоксидазы. Таким образом NO ингибирует дыхание в митохондриях и, разумеется, синтез АТФ, вызывая потерю мембранного потенциала. Будучи конкурентным ингибитором цитохромоксидазы, конкурируя с кислородом, NO проявляет тем большую токсичность, чем меньше давление кислорода, что имеет место при гипоксии.

Семихиноны. Важными источниками АФК являются радикал коэнзима Q (*семиубихинон, *QH*) под действием НАДН-убихинонредуктазы и убихинон-цитохром C редуктазы, либо при одноэлектронном окислении убихинола - QH₂, (гидрохинона), либо при одноэлектронном восстановлении убихинона (Q). В норме этот радикал не более, чем рядовой участник процесса переноса электронов митохондриях, но может стать источником других, менее безобидных вторичных радикалов, а именно радикалов кислорода – супероксида-радикала и гидроксил-радикала. Общая схема образования и взаимодействия важнейших АФК представлена на рис

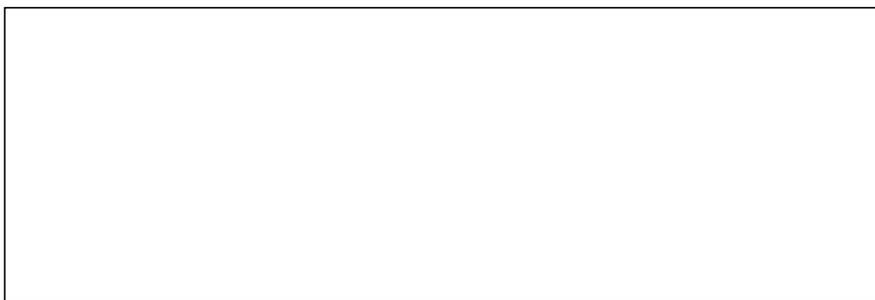


Рис. Механизм синтеза и взаимодействия АФК.

Вторичные радикалы. Классическим путем образования вторичных свободных радикалов является образование **радикалов липидов** в результате перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот (ЛН), входящих в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. Также вторичными могут быть **гидроксил-радикал и супероксид-радикал. Радикалы липидов: липидный радикал жирной кислоты – L***, **перекисный радикал – LO***, **радикал липоперекиси – LOO***, образуются в результате следующих реакций:



где ЛН – полиненасыщенная жирная кислота. Липидный радикал (L*) вступает в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом, при этом образуется радикал липоперекиси (LOO*): $\text{L}^* + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^*$. Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида LOOH и нового радикала L*: $\text{LOO}^* + \text{LH} \rightarrow \text{LOOH} + \text{L}^*$. Существенное ускорение пероксидации липидов наблюдается в присутствии небольших количеств ионов двухвалентного железа. В этом случае происходит разветвление цепей в результате взаимодействия Fe^{2+} с гидроперекисями липидов: $\text{Fe}^{2+} + \text{LOOH} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^- + \text{LO}^*$. Образующиеся радикалы LO* инициируют новые цепи окисления липидов: $\text{LO}^* + \text{LH} \rightarrow \text{LOH} + \text{L}^*$; $\text{L}^* + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^*$ и так далее. Реакции свободно-радикального окисления липидов протекают по цепному механизму, т.е. характеризуются лавинообразным усилением процесса за счет увеличения количества (разветвления) цепей окисления. Выделяют 4

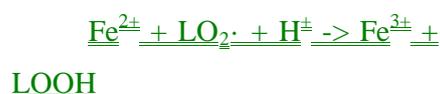
стадии реакции перекисного окисления липидов: инициирование цепи, продолжение цепи, разветвление и обрыв цепи (рис.)



Рис. Схема цепных реакций СРОЛ.

Высокая уязвимость ненасыщенных жирных кислот в отношении свободных радикалов обусловлена наличием в их составе двойных связей. Энергия разрыва С - Н связи в молекуле жирной кислоты наименьшая у альфа углеродного атома по отношению к двойной связи. Этим объясняется увеличение перекисного окисления жирных кислот с увеличением в них числа двойных связей. Дивинилметановая структура, имеющаяся во всех полиненасыщенных жирных кислотах (линолевой, линоленовой, арахидоновой, эйкозопентаеновой и др.), легко вступает в реакцию отрыва атома водорода, что приводит к образованию довольно стойких свободных радикалов, а в присутствии кислорода - к инициированию радикальных цепей, т. е. к протеканию типичных реакций аутоокисления. На первой стадии процесса гидроксильный радикал выбивает протон из $-CH_2-$ группы, располагающейся между $-CH=CH-$ группами полиненасыщенных жирных кислот (LH). При этом молекула полиненасыщенной жирной кислоты превращается в алкил-радикал жирной кислоты (L^*), в молекуле происходит делокализация двойной связи и появляется система сопряженных двойных связей. Молекулы с двумя сопряженными двойными связями называют диеновыми конъюгатами: $R-CH=CH-CH_2-CH=CH_2$. Из диеновых конъюгатов при дальнейшем воздействии на них гидроксильных радикалов образуются гидроперекиси жирных кислот мембранных липидов: $ROOH$ ($LOOH$), способствующие появлению в гидрофобном слое мембран

гидрофильных «дыр». Реакция диспропорционирования радикалов LO_2^* интересна тем, что она сопровождается свечением – *хемилюминесценцией*: $LO_2^* + LO_2^* \rightarrow L=O + LOH + \text{фотон}$. Обрыв цепей происходит также при наличии в системе «перехватчиков» свободных радикалов (InH): $L^* + InH \rightarrow LH + In^*$. К числу молекул-перехватчиков радикалов относятся витамин E, женские половые гормоны, убихинон, многие другие соединения. Радикалы этих соединений – ингибиторов недостаточно активны, чтобы оторвать атом водорода от молекул жирных кислот, и поэтому не инициируют новых цепей окисления. Образующиеся в реакции радикалы антиоксидантов (In^*) обычно не токсичны и быстро исчезают, например, вследствие взаимодействия друг с другом: $In^* + In^* \rightarrow In-In$. Антиоксидантными свойствами в определённых условиях обладают ионы металлов переменной валентности в восстановленной форме, в частности, ионы Fe^{2+} . Они также способны перехватывать свободные радикалы в одной из следующих реакций:



Скорость перекисного окисления определяется соотношением основных участников реакции: свободных радикалов, гидроперекисей, ионов железа. В местах присоединения перекисных радикалов жирные кислоты разрываются на фрагменты, на краях которых расположены альдегидные группы, обладающие высокой реакционной способностью. Если разрыв произошел с двух сторон, то образуется *малоновый диальдегид*: $O=CH-CH_2-CH=O$. Имеются данные, что перекисное окисление различных жирных кислот может протекать с разным соотношением между отдельными путями развития ПОЛ и с образованием разных продуктов. Например, большая часть

арахидоновой кислоты окисляется до *малонового диальдегида*, а продуктом перекисного окисления линоленовой кислоты является главным образом *4-гидрокси-2-ноненаль*. Карбонильные продукты ПОЛ легко образуют *аддукты с нуклеиновыми кислотами* и многими белками (в том числе с ферментами антиоксидантной системы), вызывая их инактивацию. Обезвреживание карбонильных продуктов ПОЛ происходит в цитозоле, а конъюгированные диены, триены и продукты рекомбинации липидных радикалов, по-видимому, не утилизируются, а накапливаются в клетках вместе с окисленными белками в виде *липофусциновых гранул*. Ацилгидроперекиси разрушаются при участии низкоспецифичной глутатионпероксидазы, а МДА метаболизируется в тканях до CO_2 и ацетата под действием неспецифической альдегиддегидрогеназы, а также глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы.

10.3. Антиоксиданты

Наиболее широко используемая классификация антиоксидантов предусматривает их деление на первичные (обрывающие цепи окисления) и вторичные (предотвращающие инициацию новых цепей). Механизм антиоксидантного действия состоит в удалении свободных радикалов, разрушении гидроперекисей, связывании ионов металлов переменной валентности. Как правило, в действительности имеет место сочетание нескольких механизмов действия, чем и обусловлен эффект антиоксиданта.

Принято выделять антирадикальную и антиоксидантную активность, которые не являются синонимами. *Антирадикальная активность индивидуального антиоксиданта* (антипероксидальная активность) – свойство, постоянное для каждого антиоксиданта, характеризуемое константой скорости k_7 элементарной реакции взаимодействия пероксильных радикалов с ингибитором при отсутствии побочных реакций радикалов ингибитора. Наибольший вклад в скорость окисления вносят пероксильные радикалы, с которыми ферменты антиоксидантного действия

не реагируют и с которыми взаимодействуют только ингибиторы свободно радикальных процессов окисления.

Антиоксидантная система организма предотвращает окислительное повреждение и контролирует его распространение, она включает механизмы, направленные на репарацию, удаление, замещение поврежденных молекул. АОС представлена *ферментативным* (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, церулоплазмин) и *неферментативными* (тиоредоксины, убихинон, α -токоферол и др.) компонентами. Существуют *природные (биологические) и синтетические антиоксиданты*. *Биоантиоксидантами* являются α -токоферол (наиболее мощный антиоксидант), убихинон, биофлавоноиды, стероидные гормоны, витамины А, К, β -каротин, аскорбиновая кислота, серосодержащие соединения – цистеин, глутатион; тироксин, а также белки, связывающие железо: церулоплазмин, гаптоглобин, гемопексин. В группу *синтетических антиоксидантов* входят дибунол, фенозаны, оксипиридины. В зависимости от химических свойств различают *водорастворимые* (гидрофильные) и *жирорастворимые* (гидрофобные) антиоксиданты. Жирорастворимые антиоксиданты (α -токоферол, каротиноиды) играют главную роль в защите основных структурных компонентов биомембран, таких, как фосфолипиды и погруженные в липидный слой белки. Водорастворимые антиоксиданты (тиоловые соединения, аскорбиновая кислота), в свою очередь, проявляют защитное действие в водной среде - цитоплазме клетки или плазме крови, инактивируя попадающие туда свободные радикалы. В число *микроэлементов*, обладающих антиоксидантными свойствами, входят селен, цинк, медь, магний и кобальт. Функционирование различных компонентов АОС требует тесного взаимодействия. Суммарное действие всех компонентов антиоксидантной системы получило название суммарной антиокислительной активности организма. Суммарная антиокислительная активность присуща плазме крови и отдельным тканям организма. В

зависимости от степени ее выраженности все органы человека можно разделить на 3 группы. I группа – ткани с высоким содержанием фосфолипидов и высокой концентрацией антиоксидантов. В эту группу входит нервная ткань: кора головного мозга, мозжечок, эпифиз, гипофиз, зрительный бугор, спинной мозг, а также легкие. II группа – ткани со средним содержанием фосфолипидов и умеренной концентрацией антиоксидантов. В эту группу входят печень, селезенка, сердце, почки, желудок, щитовидная железа, простата. III группа – ткани с низкой антиоксидантной активностью и низким содержанием фосфолипидов: подкожная жировая клетчатка, мышцы, вилочковая железа, поджелудочная железа.

Ферменты антиоксидантной защиты. Супероксиддисмутаза. – СОД катализирует реакцию дисмутации – взаимодействия двух супероксидных радикалов друг с другом, превращая токсичный =OO^* в менее токсичную перекись водорода. Более 80% активности СОД определяется в цитозоле, а остальные 20% - в органоидах, главным образом, в митохондриях. Активный центр СОД может содержать медь, цинк и марганец, в зависимости выделяют 3 изоформы СОД. Цинк-, медьсодержащая форма фермента состоит из двух идентичных субъединиц, каждая из которых имеет внутри полипептидной цепи сульфгидрильный мостик, одну сульфгидрильную группу и ацетилированную концевую аминокислоту. Марганецзависимая СОД состоит из четырех субъединиц. Полагают, что атомы цинка служат для стабилизации белковой молекулы, а атомы меди непосредственно участвуют в катализе, попеременно восстанавливаясь одним супероксидным радикалом. Самая высокая активность цинк-, медь- и марганецзависимой СОД обнаружена в печени, значительно превышающая активность этого фермента в других органах, в частности, в головном мозге. Резкое снижение активности СОД отмечено в процессе развития гипоксии печени крыс. Возможно, угнетение активности

происходит вследствие механизма обратной связи в результате ингибирования фермента избытком субстрата (супероксид-аниона). Поскольку увеличение в клетке концентрации H_2O_2 , образовавшейся в результате супероксиддисмутазной и ряда других реакций, представляет для клетки не меньшую опасность, чем увеличение супероксид-анионов из-за возможности образования гидроксильных радикалов, необходима ее постоянная инактивация в реакции, катализируемой **каталазой**. Каталаза содержится преимущественно в пероксисомах, а также в цитозоле и митохондриях. Особенностью фермента является то, что он обладает как каталазной, так и пероксидазной активностью, часть H_2O_2 в клетке разлагается **глутатионпероксидазой**. Каталаза, как и СОД, относится к числу очень активных ферментов. Она фактически не требует никакой энергии активации и скорость катализируемой ею реакции определяется диффузией H_2O_2 . Одна молекула каталазы способна разложить 44000 молекул H_2O_2 в минуту. *Пара супероксиддисмутаза и каталаза - это очень мощный антиокислительный тандем, который теоретически исключает возможность протекания свободнорадикальных реакций.*

Важную роль во внутриклеточной регуляции уровня промежуточных продуктов восстановления кислорода играет **глутатионовая система: восстановленный глутатион (G-SH), глутатионпероксидаза (ГП) и глутатионредуктаза (ГР)**. Эта мощная система непосредственно обезвреживает активные формы кислорода, либо, как вторая линия обороны организма (после микросомальных ферментов и СОД), дополняет и завершает работу первой линии или исправляет ее ошибки. **Восстановленный глутатион (G-SH)** – является трипептидом γ -глутамилцистеинилглицином. Он содержит в своем составе активную SH-группу, способную отщеплять атом водорода. Эффект G-SH может быть опосредован восстановлением некоторых «тушителей» активных форм кислорода, в частности аскорбата и токоферола, а также клеточных белков, являющихся основной мишенью для активных форм кислорода. SH-группы

глутатиона окисляются гораздо легче, чем SH-группы в белковых молекулах, защищая тем самым белки от окислительной модификации. Глутатион способен также с высокой скоростью реагировать со свободными радикалами, превращаясь при этом в присутствии кислорода в окисленную форму.

Поскольку концентрация кислорода в клетках сопоставима с содержанием G-SH, имеет место быстрое образование пероксирадикалов. В этом случае функция G-SH сводится к участию в реакции инактивации перекисных соединений, катализируемой глутатионпероксидазой:



Глутатионпероксидаза способна восстанавливать перекись водорода, гидроперекиси ненасыщенных жирных кислот, холестерина, кортикостероидных гормонов, перекисленную ДНК, промежуточные продукты биосинтеза простагландинов. Биосинтез ГП в тканях зависит от наличия селена, входящего в активный центр фермента. Наибольшая активность ГП обнаружена в печени. При этом 60% активности приходится на цитозольную фракцию энзима, 28% - на митохондриальную, а на микросомальную и лизосомальную – лишь 2%. В механизме антиокислительного действия фермента лежит ее строгая специфичность к восстановленному глутатиону и отсутствие специфичности к перекисным субстратам. Присоединение восстановленного глутатиона к некоторым экзогенным и эндогенным веществам, в частности, к гидроперекисям ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов мембранных структур, в результате реакции, катализируемой глутатион-S-трансферазой, приводит к детоксикации их с последующим выведением из организма. Образующийся при окислении G-SH глутатиондисульфид, обычно присутствует в клетках в гораздо более низких концентрациях ($6 \cdot 10^{-6}$ - $200 \cdot 10^{-6}$ М), чем восстановленный глутатион ($1 \cdot 10^{-4}$ - $50 \cdot 10^{-4}$ М), однако колебание его концентрации может оказаться критическим для регуляции некоторых

физиологических процессов. Поэтому происходит непрерывное восстановление его в результате реакции, катализируемой глутатионредуктазой:



Глутатионредуктаза (ГР) представляет собой флавопротеид с молекулярной массой 102000-250000 (в зависимости от источника выделения). Молекула фермента состоит из 2 субъединиц с молекулярной массой 44000 и 60000, содержащих по одной молекуле ФАД. Активность энзима снижается при недостаточном поступлении рибофлавина с пищей. Несмотря на то, что ГР не является лимитирующим звеном в цепи ферментов, поддерживающих глутатиондисульфидное равновесие, торможение ее in vivo может оказать влияние на эффективность инактивации перекисных соединений. Восстановленный глутатион играет важную роль в детоксикационных механизмах, происходящих в печени, изменение уровня его в эритроцитах обладает высокой информативностью при оценке активности патологического процесса и может служить критерием эффективности фармакотерапии. Примечательно, что эффективность реакции восстановления глутатиондисульфида в значительной мере зависит от скорости восстановления образующегося НАДФ. Этот процесс осуществляется в результате реакций, катализируемых ферментами **гексозомонофосфатного шунта (пентозофосфатного) пути обмена углеводов.** Скорость реакций окислительной ветви последнего, ответственных за генерацию НАДФН, лимитируется активностью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (Г-6-ФДГ), а реакции пентозного цикла в целом являются лимитирующим звеном в цепи процессов, поддерживающих глутатиондисульфидное равновесие. Интенсификация СРО приводит к активации в клетке не только ферментов АОС, но и ферментов пентозофосфатного пути.

Функционирование различных компонентов АОС требует тесного взаимодействия с другими системами клеточного метаболизма. Для работы

системы репарации липидов требуется постоянное наличие в клетке резервного пула жирных кислот, связанных с коферментом А. Важную роль играет также микросомальная система регенерации токоферолов.

Биоантиоксиданты. α -Токоферол (витамин E) – важнейший жирорастворимый антиоксидант, расположенный в клеточной мембране. α -Токоферол содержит фенольное кольцо с системой сопряженных двойных связей, поэтому он легко отдает электрон свободным радикалам, восстанавливая их до стабильных продуктов. Феноксил-радикал, который при этом образуется, сам по себе достаточно стабилен и в продолжении цепи не участвует. Преимущества витамина E перед другими антиоксидантами состоят в том, что он обладает наибольшей мощностью антиоксидантного действия. Эффективность действия α -токоферола обусловлена, во-первых, его исключительно высокой антирадикальной активностью за счет способности вступать в непосредственное взаимодействие со свободными радикалами и, во-вторых, способностью стабилизировать липидный бислой мембран путем образования прочных комплексов с полиненасыщенными жирными кислотами мембранных липидов. Взаимодействие альфа-токоферола со свободными радикалами осуществляется по уравнению $ROO^{\bullet} + InH \rightarrow ROOH + In^{\bullet}$, где витамин E (In) выступает в качестве донора водорода. Константа скорости этой реакции имеет порядок 10^6 л/моль•с, что на 1-2 порядка выше, чем для других антиоксидантов. Это придает токоферолам определенную уникальность в процессах регуляции ПОЛ, т.к. при столь высокой эффективности их взаимодействия с перекисными радикалами даже незначительное количество ингибитора (т.е. токоферола) будет оказывать существенное влияние на скорость окисления. С синглетным кислородом α -токоферол реагирует двумя путями: физически (тушение) и химически с образованием очень нестабильного гидропероксиданиона. Тушение синглетного кислорода α -токоферолом является доминирующим процессом. Взаимодействие с супероксид-радикалом приводит к образованию хроманоксильных радикалов, протекает

медленно и в живых системах лимитируется малой доступностью витамина E в липидном бислое для супероксид-радикала. Образующиеся в результате взаимодействия α -токоферола с активными формами кислорода продукты хиноновой структуры могут осуществлять акцептирование избыточного числа электронов с компонентов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). В этом случае ингибирующее действие токоферола может реализоваться как вследствие конкуренции за восстановленные эквиваленты ЭТЦ – генераторы активных форм кислорода, так и за счет собственно антирадикального действия, что особенно существенно для клеточных структур, лишенных ферментных систем защиты от O_2 .

Примечательно, что токоферолы, обладающие максимальной антирадикальной активностью, нередко имеют низкие антиоксидантные свойства, вследствие высокой реакционной способности образующихся хроманоксильных *радикалов*. Однако при наличии в системе веществ, способных выводить токоферил-радикалы из сферы реакции или восстанавливать окисленные формы токоферола, наблюдается увеличение антиоксидантной активности. Например, *в присутствии аскорбиновой или лимонной кислот хроманоксильные радикалы восстанавливаются в исходный токоферол*, что поддерживает его стационарный уровень, предотвращает образование токсического токоферилхинона, обладающего повреждающим действием на белки. Окисленная аскорбиновая или лимонная кислота далее восстанавливается под действием глутатиона, который переходит в окисленную форму, но быстро регенерируется под влиянием глутатионредуктазы с участием восстановленного НАДФН. Такая система циклов регенерации исключает побочные реакции токоферил-радикала, обуславливая не только высокую антирадикальную, но и антиоксидантную активность α -токоферола. Регенерация токоферил-радикалов и токоферилхинона в токоферолы и токотриенолы происходит также с участием биофлавоноидов, глутатиона, восстановленной липоевой кислоты, убихинона, лецитина и других фосфолипидов, карнозина, ансерина, β -

каротина, витамина К. Использование витамина Е с указанными восстановителями обладает выраженным синергизмом действия. Важную роль играет также микросомальная система регенерации токоферолов.

Стабилизация липидной структуры мембранного бислоя под действием витамина Е достигается за счет того, что он способен специфически физико-химически взаимодействовать своей фитильной боковой цепью с жирными кислотами. Результатом такого взаимодействия является упорядочение жидкокристаллической структуры липидного матрикса мембран и более плотная упаковка углеводородных цепей, что ведет к изменению микровязкости гидрофобной зоны мембраны. В случае дефицита витамина Е микровязкость мембран достоверно снижается.

При введении α -токоферола происходит изменение проницаемости мембран клеток для определенных субстратов, следствием чего является изменение окислительно-восстановительного потенциала клетки. Так, под влиянием витамина Е увеличивается содержание НАДФН и уменьшается отношение НАДН/НАДФН и $\text{НАД}^{\pm}/\text{НАДН}$. Возможно, это обусловлено изменением активности глутаматдегидрогеназы (ГДГ), АЛТ и АСТ, регулирующих соотношение $\text{НАД}^{\pm}/\text{НАДН}$, а также активацией НАД-киназы, катализирующей синтез НАДФН. Кроме того, витамин Е стимулирует синтез убихинонзависимых ферментов, основная роль которых – «разгрузка» клеток от H^{\pm} и e^{\pm} . Дефицит α -токоферола сопровождается ростом активности ферментов гликолиза с увеличением образования H^{\pm} и e^{\pm} , что морфологически выражается гипертрофией митохондрий при уменьшении саркоплазматического ретикулума, а также уменьшением микровязкости мембран и активацией процессов ПОЛ в клетке, что приводит к дезинтеграции метаболических процессов. Мембранотропные эффекты витамина Е не только поддерживают необходимую плотность упаковки фосфолипидов, ограничивают доступ кислорода к ацильным цепям, препятствуют синтезу перекисных радикалов, но и обеспечивают условия

для выполнения в биомембранах антиоксидантной функции. Как антиоксидант витамин Е действует наиболее эффективно вместе с другими компонентами.

К числу основных направлений исследования эффектов α -токоферола и других компонентов витамина Е относятся: а) изучение способности альфа-токоферола и других компонентов витамина Е прерывать свободнорадикальные цепи, непосредственно реагировать со свободными радикалами, превращая их в более стабильные соединения, лишенные неспаренного электрона, что приводит к снижению интенсивности окислительного стресса в клетках и к предотвращению окислительных повреждений молекул; б) изучение модуляции альфа-токоферолом и другими компонентами витамина Е процессов трансдукции сигналов в клетках и генной экспрессии, их не-антиоксидантных и антиоксидантных эффектов, связанных с модуляцией сигнальных систем.

Т.о., благодаря своей липофильности, локализуясь во всех биологических мембранах, α -токоферол оказывает влияние как на антиокислительную активность липидов, так и на их структурное состояние, являющиеся центральными звеньями в цикле липопероксидации. Обнаружено ингибирующее влияние α -токоферола на процессы апоптоза, рассматриваемого как механизм поддержания гомеостаза. Исследуется участие α -токоферола в реализации клеточного иммунитета, процессах канцерогенеза. Всё чаще обсуждается вопрос о его неантиоксидантных свойствах: показано участие α -токоферола и его комплекса с токоферол-связывающими белками на синтез РНК в изолированных ядрах и субъядерных структурах аналогично действию стероидных гормонов. Установлена способность α -токоферола влиять на активность ферментов, связанных с обменом арахидоновой кислоты, синтезом простагландинов и лейкотриенов. Сочетание витаминов Е и С позволяет осуществить защиту клетки по аддитивному механизму: аскорбиновая кислота – в водной среде,

примыкающей к биомембране, а токоферол – в липидном бислое. Показано положительное влияние этого комплекса на толерантность к алло- и аутоантигенам. Синергизм прослеживается также в тройных и более сложных системах: витамин Е - витамин С - селен; витамин Е - витамин А - селен; убихинон - витамин Е - витамин А – биофлавоноиды. В многокомпонентных природных антиоксидантных системах скорость расходования компонентов различна и зависит от условий.

Биофлавоноиды - большая группа полифенолов, которые содержатся в водных экстрактах различных растений. Некоторые биофлавоноиды действуют как ловушки гидроксил-радикала (катехин, эпикатехин, рутин). Другие (кверцетин) не снижают содержание гидроксила, зато ингибируют продукцию супероксиданион-радикала (СОД-подобная активность). Третьи (морин) не влияют ни на гидроксил, ни на супероксиданион-радикал, но, тем не менее, проявляют высокую антиоксидантную активность.

Каротиноиды - красные и оранжевые растительные пигменты. Относятся к жирорастворимым антиоксидантам. Наиболее известен β-каротин, который является предшественником витамина А. Все каротиноиды в той или иной степени являются ловушками синглетного кислорода. Каротиноиды содержатся в красных и оранжевых фруктах и овощах, а также, соответственно, в их масляных экстрактах и некоторых маслах. Наиболее богато каротиноидами масло облепихи, шиповника, пальмовое масло.

Убихинон (коэнзим Q) - фенол, по химической структуре близок к токоферолам. Присутствие высоких концентраций убихинона в мембранах обеспечивает антиоксидантное действие CoQ10, прямую реакцию с радикалами и регенерацию токоферола. Убихинон обладает высокой антиоксидантной активностью, причем его эффективность в пять раз выше, чем у витамина Е. Это весьма существенно для митохондрий, где идут активные окислительные процессы и постоянно образуются свободные формы кислорода. Показано, что коэнзим Q10 не обладает собственным

мутагенным эффектом, не потенцирует действие ряда мутагенов – ксенобиотиков, в реализации цитогенетических эффектов которых ведущая роль связана с процессами свободно радикального окисления. Антимутагенная активность коэнзима Q10 проявляется в широком диапазоне концентраций, для данного антиоксиданта отсутствует возможность инверсии защитного действия, что составляет его очевидные преимущества по сравнению с другими антиоксидантами.

Порфирины – билирубин проявляет антиоксидантные свойства за счет способности выступать в роли комплексообразователя, ингибирующего металло-зависимые реакции СРО за счет связывания катионов металлов переходной валентности, а также донора протона.

Церулоплазмин - является белком плазмы крови (гликопротеин α -глобулиновой фракции), выполняющий в организме ряд важных биологических функций: повышает стабильность клеточных мембран, участвует в иммунологических реакциях, ионном обмене, оказывает антиоксидантное действие, стимулирует гемопоэз.

Микроэлементы, обладающие антиоксидантными свойствами, представлены селеном, цинком, медью, магнием и кобальтом. Селен играет исключительную роль в антиоксидантной системе, т.к. он входит в активный центр глутатионпероксидазы и участвует в биосинтезе глутатиона. Установлено, что селеноаминокислоты селенметионин, селенистеин обладают радиопротекторным действием, уменьшая число свободных радикалов, нарушающих активность и свойства ферментов и аминокислот, возникающие при действии ионизирующей радиации. Селен, вводимый в организм перед облучением, благодаря обрыву цепи неуправляемых окислительных реакций, предотвращает разрушение лизосом и выход из них протеолитических ферментов. Среди главных биохимических функций селена в организме выделяют следующие: 1) участие в функционировании системы оксидазы α -кетоглутаровой кислоты; 2) катализ окисления α -кетоглутаровой и пировиноградной кислот в цикле Кребса; 3) связь с

процессами фосфорилирования путем влияния на активность неспецифических фосфатаз и АТФ-азы; 4) антиоксидантная активность.

Фундаментальное понимание проблемы окислительного стресса послужило основой для разработки широкого спектра антиоксидантных препаратов.

Синтетические антиоксиданты.

Ионол (2,6-дитретбутил-4-метилфенол, бутилгидрокситолуол, дибунол) является жирорастворимым экранированным фенолом. Его окисленная форма представляет радикал, стабилизированный двумя боковыми третбутильными группировками, а поэтому более стабильный, чем у токоферолов. Ионол успешно применяется для профилактики острых ишемических повреждений органов и постишемических расстройств. Он высоко эффективен при лечении лучевых и трофических поражений кожи и слизистых оболочек, успешно используется в терапии больных дерматозами, способствует быстрому заживлению язвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки. При дозировках 20–50 мг/кг показано его достаточно выраженное противоишемическое, противогипоксическое и ангиопротекторное действие.

Механизм действия другого экранированного фенола – **пробукола** – обусловлен торможением перекисного окисления липопротеидов низкой плотности, что значительно снижает их атерогенность. Показано антиатерогенное действие пробукола у больных сахарным диабетом.

Фенольным АО последнего поколения является препарат **олифен**, в молекуле которого представлены более 10 фенольных гидроксильных групп, способных обеспечить связывание большого числа АФК. Препарат обладает выраженным пролонгированным антиоксидантным действием, способствуя активации микроциркуляции и обменных процессов в организме, в том числе в тканях мозга, в том числе за счет своего выраженного мембранопротекторного действия.

Фенозаны (K^{\pm} - или Li^{\pm} -соли 4-гидрокси-3,5-дитретбутилфенилпропионовой кислоты) синтезированы в ИХФ РАН, являются водорастворимыми производными ионола. Фенозан калия – пространственно экранированный фенол – сильный антиоксидант, влияющий на структуру и функции мембран.

10.4. Токсическое действие продуктов пероксидации биомолекул

Избыточная генерация АФК и АФА вызывает окислительный стресс (ОС) и накопление таких токсичных веществ, как ацилгидроперекиси липидов (первичные продукты), окисленные фосфолипиды, малоновый диальдегид, 4-гидрокси-2-ноненаль (продукт окисления омега-6 жирных кислот), 4-гидрокси-2-гексеналь (продукт окисления омега-3 жирных кислот), акролеин, альдегид фосфатидилхолина (1-пальмитоил-2-(9-оксононаноил)-фосфатидилхолин), гидроперекиси фосфолипидов, способных мигрировать через мембраны с высокой скоростью и оказывать повреждающий эффект. Триеновые конъюгаты, шиффовы основания и продукты рекомбинации липидных радикалов способны откладываться в клетках в виде липофусцинового пигмента.

Образование 1-пальмитоил-2-(9-оксононаноил)-фосфатидилхолина происходит под действием липооксигеназ в присутствии гемопротейнов – метгемоглобина, цитохрома с. При этом гемопротейны участвуют как в образовании ноненалей и альдегидов фосфатидилхолина (ФХ), так и в их распаде.

В настоящее время получены данные, свидетельствующие о том, что при повреждении белков под действием АФК возникает ряд окисленных продуктов - образуются долгоживущие радикалы белков (ДЖРБ), время полужизни которых достигают свыше 20 ч., они могут длительное время генерировать АФК в водном окружении *in vitro*. Наличие ДЖРБ может быть причиной длительного протекания окислительного стресса и повреждений

ДНК *in vivo* с образованием микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга у крыс и мышей.

АФК также способны модифицировать углеводы – глюкозу с образованием альдегидов: глиоксаля, метилглиоксаля, глюкозона, сходных по строению с малоновым диальдегидом и 4-гидрокси-2-алкеналем. Обнаружено, что при автоокислении глюкозы образуется супероксид-радикал.

МДА вступает во взаимодействие с молекулами нуклеиновых кислот – пуриновыми основаниями, индуцируя образование различных аддуктов – пиримидино-1,2- α -пурин -10(3Н) – деоксирибозы (М1Г). Этот опасный метаболит способен вызывать мутации со сдвигом рамки в микробных и животных клетках. МДА способен реагировать с Г, А, Ц основаниями в составе ДНК с образованием аддуктов М1Г, М1А, М1Ц, которые можно обнаружить с частотой 1,2 аддукта на 10^6 нуклеозидов – т.е. 6000 аддуктов на 1 клетку. В составе ДНК можно обнаружить гидроксипропан-деоксигуанозин, образующийся в результате реакции ДНК с акролеином и кротондиальдегидом, генерируемых в результате липопероксидации.

Есть сведения о способности МДА инициировать образование ДНК-белковых сшивок (между ДНК и гистонами), при этом МДА сначала связывается с белком. МДА реагирует *in vitro* с первичными аминами с образованием ϵ -N-2-пропеналь-лизина и может генерировать лизин-лизиновые мостики. Эта реакция наблюдается в апо-В-фракции окисленных липопротеинов и имеет значение для их атерогенности.

МДА взаимодействует с коллагеном, образуя внутримолекулярные сшивки, что нарушает структуру коллагена сосудистой стенки.

Гидроксиноненаль способен взаимодействовать с сульфгидрильными группами цистеина, имидазольным кольцом гистидина, ϵ -аминогруппой лизина, восстанавливать остатки липоевой кислоты в составе белков, образуя

ковалентно-модифицированные белки с нарушенной функцией. Гидроксиноненаль реагирует с первичными аминами и сульфгидрильными группами, модифицируя белки, в том числе ковалентно модифицирует интегральные мембранные протеины. Инкубация МХ с 4-гидрокси-2-ноненалем вызывает быстрое снижение интенсивности дыхания в 3-ем комплексе дыхательной цепи. ГНЕ оказывает сильное влияние на пути сигнальной трансдукции.

Перекись водорода вовлечена в активацию как ядерных, так и митохондриальных генов, в том числе, контролирующих биогенез МХ, транскрипцию и репликацию митохондриального генома. Мутации МХ генов, кодирующих I, III, IV, V ферментативные комплексы способствуют развитию рака, включение фрагментов МХ ДНК в состав ядерной ДНК – один из возможных механизмов онкогенеза.

4.5. Окислительный стресс в патогенезе заболеваний

Патогенетически значимый окислительный стресс установлен при заболеваниях сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, ишемия/реперфузия; рестеноз, гипертензия); злокачественных и воспалительных заболеваниях (синдром острой дыхательной недостаточности, астма, воспалительные заболевания кишечника, глаз, кожи, артриты); при метаболических заболеваниях (сахарный диабет); патологии центральной нервной системы (боковой амиотрофический склероз, болезнь Альцгеймера, Паркинсонизм, инсульт, хроническая ишемия мозга); при эндотоксикозах, нарушениях иммунной системы, катаракте, дегенеративных поражениях сетчатки, раке, старении, гломерулонефрите, трансплантации почек.

Окислительный стресс составляет основу патогенеза микробного поражения, воспаления, гипоксии, а также ряда неотложных состояний – сепсис, острый респираторный дистресс синдром, ДВС, синдром полиорганной недостаточности.

Интенсивность окислительного стресса в организме может быть оценена по следующим параметрам:

- 1) уровню окисления ДНК (8-гидрокси-2-дезоксигуанозин);
- 2) уровню активности антиоксидантных ферментов – СОД, каталазы, глутатионпероксидазы.
- 3) по уровню низкомолекулярных антиоксидантов – мочевой кислоты, глутатиона, флавоноидов, катехинов, витамина С, Е, β-каротина.
- 4) по количеству ТБК-АП (продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой) и модифицированных остатков тирозина в белках.

Глава 12

ПОЧКИ И МОЧА

В организме взрослого человека содержится около 65% воды. Она находится как внутри клеток (внутриклеточная вода), так и в межклеточном пространстве (внечклеточная вода). Вода для организма – это не просто растворитель, она структурообразующее вещество. Без воды белковые молекулы не смогли бы удержать свою структуру. Вода и есть основа, на которой происходят все биохимические реакции. Именно вода обеспечивает динамизм живой системы, являясь основой внутренней среды организма.

В поддержании постоянства внутренней среды организма основную роль играют почки – парный орган с массой около 300 г. Почки, являясь секреторным органом, вырабатывает из компонентов плазмы кровимочу. В общем, можно различить 3 функции почек:

- 1) Экскреторная;
- 2) Регуляторная;
- 3) Метаболическая.

Экскреторная функция почек заключается в выведении из организма конечных продуктов азотистого обмена (мочевина, креатинин, мочевая

кислота); продуктов обезвреживания эндогенных токсичных веществ (гиппуровая кислота, билирубинглиукуронид, индикан); избыточных или ненужных веществ (витамины, гормоны, органические кислоты, вода); ксенобиотиков и продуктов их детоксикации (лекарственные препараты, никотин и т.п.).

Регуляторная функция почек заключается в обеспечении водно-солевой и кислотно-основного гомеостаза, а также нормального осмотического и кровяного давления организма.

Метаболическая функция почек заключается в осуществлении ряда биохимических синтезов: синтез эритропоэтина, стимулирующего продукцию эритроцитов; синтез урокиназы, активатора плазминогена; гидроксилирование 25-оксикальциферола и превращение его в 1,25-дигидрокси-25-оксикальциферол, регулирующий кальциевый обмен, синтез глюкозы из органических кислот (лактата, пирувата).

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ПОЧЕК

Ткань почки разделяется на два слоя:

- внешний слой – корковое вещество;
- внутренний слой - мозговое вещество.

Основной структурно-функциональной единицей почечной паренхимы является нефрон. Его количество различно у разных видов млекопитающих. Так, если у собаки их 816000, то у крысы – 62000, а у человека их около 2 млн (рис. 18.1 [Березов 609 стр.](#)).

Рис. 18.1

Нефрон состоит из почечного (мальпигиевого) тельца и системы канальцев. Почечное тельце состоит из состоящее из сосудистого клубочка и двухслойной капсулы клубочка (капсула Боумена). От капсулы клубочка отходит почечный каналец, который в корковом веществе образует проксимальную часть канальца нефрона. Она переходит в петлю нефрона (петля Генле). В петле выделяют нисходящую и восходящую части. Последняя переходит в дистальную часть канальца нефрона, впадающего в

собираемые почечные трубочки. По несколько собираемых трубочек впадают в сосочковые протоки, открывающиеся в почечные чашки.

МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ МОЧИ

Моча в почках образуется благодаря следующим трём процессам:

- фильтрация в клубочках;
- реабсорбция в канальцах;
- секреция в канальцах.

Клубочковая фильтрация. Эта начальная фаза образования мочи. Она представляет собой фильтрация жидкой части крови из капиллярного клубочка в полость капсулы. Клубочковая фильтрация – пассивный процесс, она протекает за счёт гидростатического давления жидкости.

В условиях покоя у взрослого человека около $\frac{1}{4}$ часть крови, выбрасываемой в аорту левым желудочком сердца, поступает в почечные артерии. Это означает, что через обе почки у взрослого мужчины проходит около 1300 мл крови в минуту, а у женщин несколько меньше. При этом общая фильтрационная поверхность клубочков почек составляет примерно $1,5 \text{ м}^2$. В клубочках из кровеносных капилляров в просвет капсулы почечного клубочка происходит ультрафильтрация плазмы крови, в результате чего образуется первичная моча. Белки как коллоидные вещества не проходят через стенку капилляров в полость капсулы почечного клубочка, поэтому в первичной моче белок практически отсутствует. Однако при ряде патологических состояний проницаемость мембраны почечного фильтра повышается, что ведет к изменению состава ультрафильтрата, т.е. в моче появляется белок. Именно повышение проницаемости является главной причиной протеинурии, прежде всего альбуминурии. В норме объемная скорость фильтрации в среднем составляет 125 мл/мин, что в 100 раз превышает продукцию конечной мочи. Скорость фильтрации обеспечивается фильтрационным давлением, которое можно выразить следующей формулой:

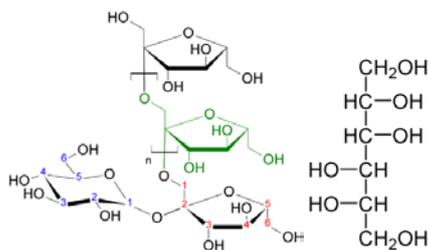
$$\text{ФД} = \text{КД} - (\text{ОД} + \text{КапсД}),$$

где ФД – фильтрационное давление; КД – капиллярное давление; ОД – онкотическое давление; КапсД – внутрикапсулярное давление.

По формуле ясно, что фильтрации возможна, когда гидростатическое давление крови в капиллярах выше суммы онкотического и внутрикапсулярного давления. В норме эта величина составляет около 40 гПа (30 мм рт. ст.). В связи с этим, можно понять, что вещества, усиливающие кровообращение в почках или увеличивающие количество функционирующих клубочков (теобромин, теofilлин, плоды можжевельника, листья толокнянки и др.), усиливают мочеобразование, т.е. такие вещества будут обладать мочегонными свойствами.

Капиллярное давление в почках зависит не столько от артериального давления, сколько от соотношения просвета «приносящей» и «выносящей» артериол клубочка. «Выносящая» артериола примерно на 30% меньше в диаметре, чем «приносящая», регуляция их просвета осуществляется прежде всего кининовой системой. Сужение «выносящей» артериолы увеличивает фильтрацию. Напротив, сужение «приносящей» артериолы снижает фильтрацию.

По величине клубочковой фильтрации можно судить о фильтрационной способности почек. На практике это можно осуществить таким образом: ввести в кровяное русло вещество, которое фильтруется в клубочках, но не реабсорбируется и не секретизируется канальцами нефронов. В этом случае его клиренс будет численно равен объёмной скорости клубочковой фильтрации. Клиренс (т.е. очищение) любого соединения выражают количеством миллилитров плазмы, которое в 1 мин полностью освобождается от определенного вещества при прохождении ее через почки. Веществами, по которым чаще определяют клубочковую фильтрацию, являются инулин и маннитол:



Инулинманнитол

Для расчёта клиренса (например, инулина) необходимо величину минутного диуреза умножить на $K_M/K_{кр}$ (отношение концентраций данного вещества в моче и плазме крови):

$$C = K_M/K_{кр} \cdot V$$

где C – клиренс; K_M – концентрация данного соединения в моче; $K_{кр}$ – концентрация в плазме крови; V – количество мочи в 1 мин, мл.

В норме у человека с массой 70 кг величина клубочковой фильтрации составляет 125 мл/мин, или 180 л/сут.

Реабсорбция и секреция. По величине клубочковой фильтрации видно, что через почки за сутки проходит огромное количество жидкости: суточное количество ультрафильтрата в 3 раза превышает общее количество жидкости, содержащейся в организме. Естественно, что первичная моча во время движения по почечным канальцам отдает большую часть своих составных частей, особенно воду, обратно в кровь. Лишь 1% жидкости, профильтрованной клубочками, превращается в мочу. В канальцах реабсорбируется 99% воды, натрия, хлора, гидрокарбоната, аминокислот, 93% калия, 45% мочевины и т.д. Из первичной мочи в результате реабсорбции образуется вторичная, или окончательная, моча, которая затем поступает в почечные чашки, лоханку и по мочеточникам попадает в мочевой пузырь. Выявлено, что функциональное значение отдельных почечных канальцев в процессе мочеобразования неодинаково. Так, клетки проксимального сегмента нефрона реабсорбируют глюкозу, аминокислоты, витамины, электролиты; 6/7 жидкости, составляющей первичную мочу. Вода первичной мочи частично (парциально) реабсорбируется в дистальных

канальцах. В этих же канальцах происходит дополнительная реабсорбция натрия, могут секретироваться в просвет нефрона ионы калия, аммония, водорода и др.

Молекулярные механизмы реабсорбции и секреции. При реабсорбции натрия пассивно поступает из просвета канальца внутрь клетки, движется по ней к области базальной плазматической мембраны и с помощью «натриевого насоса» поступает во внеклеточную жидкость. До 80% энергии АТФ в клетках канальцев почек расходуется на «натриевый насос». Направление движения натрия и определяет движение воды: вода «следует» за натрием. Следовательно, реабсорбция воды в проксимальном отделе процесс пассивный. В дистальном сегменте всасывание воды происходит вне зависимости от всасывания ионов натрия и процесс регулируется антидиуретическим гормоном.

Калий не только реабсорбируется, но и секретировается. При секреции калий из межклеточной жидкости поступает через базальную плазматическую мембрану в клетку канальца за счет работы «натрий-калиевого насоса», а затем выделяется в просвет нефрона через апикальную клеточную мембрану пассивно. Секреция, как и реабсорбция, является активным процессом, связанным с функцией клеток канальцев. Механизмы секреции те же, что и механизмы реабсорбции, но только процессы протекают в обратном направлении – от крови к канальцу. Вещества, которые не только фильтруются через клубочки, но и реабсорбируются или секретированы в канальцах, имеют клиренс, который показывает целостную работу почек (смешанный клиренс). В зависимости от комбинации фильтрация с реабсорбцией или секрецией, смешанный клиренс делится на:

- фильтрационно-реабсорбционный;
- фильтрационно-секреционный.

Величина смешанного фильтрационно-реабсорбционного клиренса меньше величины клубочкового клиренса, так как часть вещества реабсорбируется из первичной мочи в канальцах. Значение этого показателя

тем меньше, чем эффективнее реабсорбция в канальцах. Так, для глюкозы в норме он равен 0. Максимальное всасывание глюкозы в канальцах составляет 350 мг/мин. Для мочевины величина смешанного фильтрационно-реабсорбционного клиренса составляет 70. Это значит, что из каждых 125 мл ультрафильтрата или плазмы крови за минуту от мочевины полностью освобождаются 70 мл. Мочевина, содержащая в 55 мл ультрафильтрата или плазмы, всасывается обратно.

Максимальную способность канальцев к обратному всасыванию принято обозначать T_m (транспорт максимум). Иногда встречаются пациенты с заболеванием почек, которые, несмотря на высокое содержание глюкозы в плазме крови, не выделяют глюкозу с мочой, так как фильтруемое количество глюкозы ниже значения T_m . Наоборот, при врожденном заболевании почечная глюкозурия может быть основана на снижении значения T_m .

Величина смешанного фильтрационно-секреторного клиренса может быть больше клубочкового клиренса, так как к первичной моче прибавляется дополнительное количество вещества, которое секретируется в канальцах. Этот клиренс тем больше, чем сильнее секреция канальцев. Существуют секретруемые канальцами вещества с клиренсом (диодраст, парааминогиппуровая кислота), приближающаяся к величине почечного кровотока (количество крови, которое за минуту проходит через почки). Исходя из этого, можно заключить, что по клиренсу этих веществ можно определить величину кровотока. Реабсорбция и секреция регулируются ЦНС и гормональными факторами. Например, при сильных болевых раздражениях или отрицательных эмоциях может возникнуть анурия. Антидиуретический гормон вазопрессин увеличивает всасывание. Альдостерон увеличивает реабсорбцию натрия в канальцах, а вместе с ним и воды. Паратиреоидный гормон изменяет всасывание кальция и фосфата. Паратгормон стимулирует секрецию фосфата, а витамин D задерживает ее. Регуляция реабсорбции натрия и воды в почке представлена на [рис. 18.2](#).

Рис. 18.2. Регуляция реабсорбции в почке (схема по А.П. Зильберу)

При недостаточном поступлении крови к почечным клубочкам, сопровождающемся небольшим растяжением стенок артериол (снижение давления), происходит возбуждение заложенных в стенках артериол клеток юкстагломерулярного аппарата (ЮГА). Они начинают усиленно секретировать протеолитический фермент ренин, катализирующий начальный этап образования ангиотензина. Субстратом ферментативного действия ренина является ангиотензиноген (гликопротеин), относящийся к α 2-глобулинам и содержащийся в плазме крови и лимфе. Ангиотензиноген состоит из 453 аминокислот.

Ренин разрывает в молекуле ангиотензиногена пептидную связь, образованную двумя остатками лейцина, в результате чего освобождается декапептидангиотензин I:

Асп-Арг-Вал-Тир-Иле-Гис-Про-Фен-Гис-Лей

Биологическая активность ангиотензина I незначительна в среде, близкой к нейтральной. Он с помощью ангиотензин I превращающего фермента (дипептидил-карбоксипептидаза I) превращается в октапептидангиотензин II:

Асп-Арг-Вал-Тир-Иле-Гис-Про-Фен

Превращение ангиотензина I в ангиотензин II происходит, хотя и не одинаковой скоростью, практически во всех тканях.

Ангиотензин II обладает очень высокой биологической активностью: он способен стимулировать секрецию надпочечниками альдостерона, который увеличивает реабсорбцию натрия в канальцах, а вместе с ним и воды. Объем циркулирующей крови возрастает, давление в артериоле повышается и восстанавливается равновесие системы. При снижении кровенаполнения предсердий и, возможно, каротидных сосудов реагируют объёмные рецепторы (волюморцепторы); их импульс передаётся на гипоталамус, где образуется АДГ (вазопрессин). По портальной системе гипофиза этот гормон попадает в заднюю долю гипофиза, концентрируется там и выделяется в

кровь. Основной точкой приложения действия АДГ является, по-видимому, стенка дистальных канальцев нефрона, где он повышает уровень активности гиалуронидазы. Последняя, деполимеризуя гиалуроновую кислоту, повышает проницаемость стенок канальцев. Вода пассивно диффундирует через мембраны клетки вследствие осмотического градиента между гиперосмотической жидкостью организма и гипоосмотической мочой, т.е. АДГ регулирует реабсорбцию свободной воды. Таким образом, АДГ понижает осмотическое давление в тканях организма, а альдостерон повышает его.

Почки имеют также важное значение как инкреторный (внутрисекреторный) орган. Как отмечалось выше, в клетках ЮГА образуется ренин, который через ангиотензин влияет на кровяное давление организма. В настоящее время ряд исследователей считают, что повышенное образование ренина является одной из главных причин развития определенных форм гипертонической болезни. В почках также вырабатывается эритропоэтин, стимулирующий эритропоэз. Эритропоэтин – вещество белковой природы с молекулярной массой ~ 34 кДа. Его синтез почками активно происходит при различных стрессовых состояниях: гипоксии, кровопотере, шоке и т.д. В почках осуществляется также синтез простагландинов, которые способны менять чувствительность почечной клетки к действию некоторых гормонов.

РОЛЬ ПОЧЕК В ПОДДЕРЖАНИИ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО РАВНОВЕСИЯ

Почки оказывают на кислотно-основное равновесие замедленное действие, в отличие от крови и лёгких, которые оказывают немедленное действие. Так, влияние буферных систем крови обнаруживается в течение 30 с, лёгких через 1-3 мин. Для восстановления нарушенного кислотно-основного равновесия почкам необходимо около 10-20 ч.

Основным механизмом поддержания концентрации водородных ионов в организме, реализуемым в клетках почечных канальцев, являются процессы

реабсорбции натрия и секреции ионов водорода. Этот механизм осуществляется с помощью нескольких химических процессов.

Первый из них – реабсорбция натрия при превращении двузамещённых фосфатов в однозамещённые. Почечный фильтрат, формирующийся в клубочках, содержит достаточное количество солей, в том числе и фосфатов. Концентрация двузамещённых фосфатов убывает по мере продвижения первичной мочи по почечным канальцам. Так, в крови отношение однозамещённого фосфата к двузамещённому составляет 1:4, в клубочковом фильтрате – 9:1, в моче, которая проходит через дистальный сегмент нефрона – 50:1. Это результат избирательного всасывания канальцевыми клетками Na^+ . Вместо них из канальцевых клеток в просвет почечного канальца выделяется H^+ . Таким образом, двузамещённый фосфат Na_2HPO_4 превращается в однозамещённый NaH_2PO_4 и в таком виде выделяется с мочой.

Второй процесс – это превращение в просвете канальцев бикарбонатов в угольную кислоту. В клетках канальцев при взаимодействии воды с углекислым газом под влиянием карбоангидразы образуется угольная кислота. Водородные ионы угольной кислоты выделяются в просвет канальца и соединяются там с анионами бикарбоната; эквивалентный этим анионам натрий поступает в клетки почечных канальцев. Образовавшаяся в просвете канальца H_2CO_3 легко распадается на CO_2 и H_2O и в таком виде покидает организм.

Третий процесс – образование в почках аммиака, который используется вместо других катионов для нейтрализации и выведения кислых эквивалентов с мочой. Основным источником этого служат процессы дезаминирования глутамина, а также окислительного дезаминирования аминокислот, главным образом глутаминовой кислоты. Распад глутамина происходит под влиянием глутаминазы, при этом образуются глутаминовая кислота и свободный аммиак. Наибольшая активность глутаминазы отмечается в почках.

В общем итоге соотношение концентрации водородных ионов в моче и крови может составить 800:1 – настолько велика способность почек выводить из организма ионы водорода. Процессы усиливаются в тех случаях, когда возникает тенденция к накоплению ионов водорода в организме.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В ПОЧЕЧНОЙ ТКАНИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Почки потребляют самое большое количество кислорода, так как сложные физиологические процессы в почечной ткани протекают с постоянным потреблением большого количества энергии. Так, не менее 8-10% всего поглощаемого человеком в покое кислорода используется на окислительные процессы в почках.

В корковом веществе почки ярко выражен аэробный тип обмена веществ, а в мозговом – преобладают анаэробные процессы. В почках кроме таких ферментов как ЛДГ, АсАТ, АлАТ, глутаматдегидрогеназа, имеются ферменты, которые в значительной степени специфичны для почечной ткани. К таким ферментам прежде всего относится глицин-амидинотрансфераза (трансамидиназа). Он кроме ткани почек, содержится в поджелудочной железе и практически отсутствует в других тканях. Глицин-амидинотрансфераза осуществляет перенос амидиновой группы с L-аргинина на глицин с образованием L-орнитина и гликоциамин:



Эта реакция является начальным этапом синтеза креатина.

Появление данного фермента в крови может быть связано либо с поражением почек, либо с начинающимся или развившимся некрозом поджелудочной железы. Наивысшая активность глицин-амидинотрансферазы в сыворотке крови наблюдается при хроническом пиелонефрите в фазе нарушения азотовыделительной функции почек, а далее в убывающем порядке следуют хронический нефрит с гипертензионным и отечно-гипертензионным синдромами и умеренным нарушением азотовыделительной способности, хронический нефрит с изолированным

мочевым синдромом без нарушения азотовыделительной функции, остаточные явления острого диффузного гломерулонефрита.

Для ткани почек обнаруживается чёткая дифференциация изоферментных спектров ЛДГ: в корковом веществе преобладает активность ЛДГ1 и ЛДГ2, а в мозговом – ЛДГ5 и ЛДГ4. При острой почечной недостаточности в сыворотке крови повышается активность анодных изоферментов ЛДГ (ЛДГ1 и ЛДГ2).

Интерес представляют также изоферменты аланинаминопептидазы (ААП). Известны 5 изоферментов ААП, и они определяются в различных органах не в виде полного спектра (5 изоферментов), а чаще как один изофермент. Так, изофермент ААП1 представлен главным образом в ткани печени, ААП2 – в поджелудочной железе, ААП3 – в почках, ААП4 и ААП5 – в различных отделах стенки кишки. При повреждении ткани почек изофермент ААП3 обнаруживается в крови и моче, что является специфическим признаком поражения почечной ткани.

При диагностике заболеваний почек имеет значение также исследование активности ферментов мочи. Острые воспалительные процессы в почках характеризуются повышенной проницаемостью клубочковых мембран, что обуславливает выделение белка, в том числе ферментов, с мочой. В целом сдвиги в обмене веществ почечной ткани могут быть вызваны блокадой клубочкового кровотока, нарушением фильтрации и реабсорбции, блокадой оттока мочи, поражением юкстагломерулярного аппарата, нарушением секреции и т.д.

ОБЩИЕ СВОЙСТВА И СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ МОЧИ

Общие свойства мочи. За сутки взрослый человек выделяет мочу от 1000 до 2000 мл и это составляет в среднем 50–80% от объёма принятой жидкости.

Суточное количество мочи ниже 500 и выше 2000 мл у взрослых считается патологическим. Увеличение объёма мочи (полиурия) наблюдается при приеме большого количества жидкости, употреблении пищевых веществ,

повышающих диурез (арбуз, тыква и др.). При патологии полиурия отмечается при заболеваниях почек (хронические нефриты и пиелонефриты), сахарном диабете и других патологических состояниях. Большое количество мочи выделяется при несахарном диабете (diabetes insipidus) – 15 л в сутки и более. Уменьшение суточного количества мочи (олигурия) наблюдается при недостаточном приёме жидкости, лихорадочных состояниях, рвоте, поносе, токсикозах, остром нефрите и т.д.

В случае тяжёлых поражений почечной паренхимы (при острых диффузных нефритах), мочекаменной болезни (закупорка мочеточников), отравлениях свинцом, ртутью, мышьяком, при сильных нервных потрясениях возможно почти полное прекращение выделения мочи (анурия). Длительная анурия ведёт к уремии- аутоинтоксикации, развивающийся при выраженной почечной недостаточности.

В норме днём выделяется больше мочи, чем ночью, соотношение составляет от 4:1 до 3:1. Однако, при некоторых патологических состояниях (начальные формы сердечной декомпенсации, цистопиелиты и т.д.) моча в большем количестве выделяется ночью, чем днём. Это состояние называется никтурией.

Цвет мочи в норме колеблется от соломенно-желтого до насыщенного желтого. Окраска мочи зависит от содержания в ней пигментов: урохрома, уробилина, уроэритрина, урозеина и др. Однако нормальная окраска мочи на 95% обусловлена присутствием урохрома.

Интенсивный цвет обычно характерно концентрированной моче с высокой плотностью, тогда как бледная (соломенного цвета) моча чаще имеет низкую относительную плотность и выделяется в большом количестве. При патологии цвет мочи может меняться. К примеру, красный или розово-красный цвет мочи наблюдается при гематурии и гемоглобинурии, после приёма антипирина, амидопирина, сантонина и др. лекарственных средств. Коричневый или красно-бурый цвет встречается при высокой концентрации в моче уробилина и билирубина. У здорового человека в моче определяется

также бесцветный стеркобилиноген, всасывающийся по системе геморроидальных вен. На свету и на воздухе он окисляется в окрашенный пигмент – стеркобилин, который в клинике уробилином. При заболеваниях печени, когда она теряет способность разрушать всосавшийся из тонкой кишки мезобилиноген (уробилиноген) до ди- и трипирролов, в моче в большом количестве появляется уробилиноген, который на свету и на воздухе превращается в уробилин. В таких случаях моча приобретает темный цвет. Зеленый или синий цвет мочи отмечается при введении в организм метиленового синего, а также усилении процессов гниения белков в кишечнике. В последнем случае в моче появляется повышенное количество индоксилсерных кислот, которые могут разлагаться с образованием индиго. Нормальная моча прозрачна. Мутность мочи может быть вызвана солями, клеточными элементами, бактериями, слизью, жиром (липурия). Причину помутнения мочи можно определить либо под микроскопом (исследование осадка мочи), либо путем химического анализа. Относительная плотность мочи у взрослого человека в течение суток колеблется в довольно широких пределах (от 1,002 до 1,035), что связано с периодическим приемом пищи, воды и потерей жидкости организмом (потоотделение и др.). Чаще она равна 1,012–1,020. В сутки с мочой выделяется 50-75 г плотных веществ. Приближенный расчет содержания плотного остатка в моче (в граммах на 1 л) можно произвести, умножив две последние цифры относительной плотности на коэффициент 2,6. При тяжелой недостаточности почек выделяется моча с одинаковой относительной плотностью (~ 1,010), равной плотности первичной мочи. Это состояние носит название изостенурии. Постоянно низкое значение плотности мочи указывает на нарушение концентрационной функции почек при хроническом нефрите, первично или вторично сморщенной почке. При несахарном диабете также выделяется моча низкой плотности (1,001–1,004), что связано с нарушением обратной реабсорбции воды в канальцах.

При олигурии (понижение суточного количества мочи), например, при остром нефрите, моча имеет высокую плотность. Высокая плотность характерна для сахарного диабета при полиурии, в этом случае она обусловлена содержанием в моче большого количества глюкозы. рН мочи в норме при смешанной пище кислая или слабокислая (рН 5,3–6,5). Обычно за сутки с мочой выводится от 40 до 75 мэкв кислот. На величину рН мочи влияет характер пищи: при мясной пищереакция мочи – кислая, при овощной диете – щелочная. Кислая реакция мочи зависит от присутствия в ней главным образом однозамещённых фосфатов (KH_2PO_4 или NaH_2PO_4). В щелочной моче преобладают двузамещённые фосфаты (K_2HPO_4 или Na_2HPO_4) или бикарбонаты (KHCO_3 или NaHCO_3). Резко кислая реакция мочи наблюдается при лихорадочных состояниях, сахарном диабете (особенно при наличии кетоновых тел в моче), голодании и т.д. Щелочная реакция мочи отмечается при циститах и пиелитах (микроорганизмы способны разлагать мочевины с образованием аммиака уже в полости мочевого пузыря), после сильной рвоты, приеме некоторых лекарственных средств (например, бикарбоната натрия), употреблении щелочных минеральных вод и т.д.

Химический состав мочи. Плотные вещества мочи (около 60 г в суточном количестве) представлены органическими и неорганическими веществами (табл. 18.1).

Березов 618 стр. Таблица 18.1.

В моче обнаружено более 150 химических ингредиентов.

Органические вещества мочи. Мочевина составляет большую часть органических веществ, входящих в состав мочи. В среднем за сутки с мочой взрослого человека выводится около 30 г мочевины (от 12 до 36 г). Количество мочевины в моче обычно повышается при употреблении пищи, богатой белками, при всех заболеваниях, сопровождающихся усиленным распадом белков тканей (лихорадочные состояния, опухоли, гипертиреоз, диабет и т.д.), а также при приеме некоторых лекарственных средств

(например, ряда гормонов). Содержание выделяемой с мочой мочевины уменьшается при тяжелых поражениях печени (печень является основным местом синтеза мочевины в организме), заболеваниях почек (особенно при нарушенной фильтрационной способности почек), а также при приеме инсулина и др.

Креатинин – конечный продукт азотистого обмена и он образуется в мышечной ткани из фосфокреатина. Суточное выделение креатинина у конкретного человека – величина довольно постоянная и отражает в основном его мышечную массу. У мужчин на каждый 1 кг массы тела за сутки выделяется с мочой от 18 до 32 мг креатинина, а у женщин – от 10 до 25 мг. Эти цифры мало зависят от белкового питания. В связи с этим определение суточной экскреции креатинина с мочой во многих случаях может быть использовано для контроля полноты сбора суточной мочи. Креатин в моче взрослых людей в норме практически отсутствует. Он появляется либо при употреблении значительных количеств креатина с пищей, либо при патологических состояниях. Креатин в моче появляется тогда, когда его уровень в сыворотке крови достигает 0,12 ммоль/л. В первые годы жизни ребёнка возможна «физиологическая креатинурия». Появление креатина в моче детей раннего возраста обусловлено усиленным синтезом креатина, опережающим развитие мускулатуры. К физиологическим явлениям относят также креатинурию стариков, возникающую вследствие атрофии мышц и неполного использования креатина. Наибольшее содержание креатина в моче наблюдается при патологических состояниях мышечной системы и прежде всего при миопатии, или прогрессирующей мышечной дистрофии. Креатинурия у больных миопатией может появляться в результате нарушения синтеза фосфокреатина. При этом не образуется и креатинин, вследствие чего его содержание в моче резко снижается, что приводит к резкому повышению креатининового показателя мочи. В норме этот показатель близок к 1,1. Креатинурию можно наблюдать при поражениях

печени, сахарном диабете, эндокринных расстройствах (гипертиреоз, аддисонова болезнь, акромегалия и др.), инфекционных заболеваниях.

Аминокислоты в суточном количестве мочи составляют около 1,1 г. Соотношение между содержанием отдельных аминокислот в крови и моче неодинаково. Концентрация той или иной аминокислоты, выделяемой с мочой, зависит от ее содержания в плазме крови и степени её реабсорбции в канальцах, т.е. от ее клиренса. В моче выше всего концентрация глицина и гистидина, далее глутамин, аланин, серин. Гипераминоацидурия встречается при заболеваниях паренхимы печени. Это объясняется нарушением в печени процессов дезаминирования и трансаминирования. Наблюдается гипераминоацидурия также при тяжёлых инфекционных заболеваниях, злокачественных новообразованиях, обширных травмах, миопатии, коматозных состояниях, гипертиреозе, лечении кортизоном и АКГГ. Известны также нарушения обмена отдельных аминокислот, которые часто носят врождённый или наследственный характер. К примеру – фенилкетонурия, обусловленная недостатком фенилаланин-4-монооксигеназы в печени. В результате метаболическое превращение фенилаланина в тирозин блокировано, это приводит к накоплению в организме фенилаланина и его кетопроизводных, и появление их в большом количестве в моче. Обнаружить фенилкетонурию очень просто с помощью хлорида железа: спустя 2-3 мин после добавления в мочу нескольких капель раствора хлорида железа появляется оливково-зеленая окраска. Другим примером является алкаптонурия (гомогентизинурия), когда наблюдается недостаточность оксидазы гомогентизиновой кислоты. В результате в моче резко увеличивается концентрация гомогентизиновой кислоты – одного из метаболитов обмена тирозина. Гомогентизиновая кислота окисляется кислородом воздуха, поэтому моча, оставленная на воздухе, резко темнеет. Известны также врождённые болезни: гиперпролинемия (возникает в результате недостатка фермента пролиноксидазы, следствие – пролинурия); гипервалинемия (врождённое нарушение обмена валина; сопровождается

резким повышением концентрации валина в моче); цитруллинемия (врождённое нарушение цикла образования мочевины, обусловленное недостатком фермента аргининсукцинат-синтетазы, с мочой выделяется увеличенное количество цитруллина) и др.

Мочевая кислота – конечный продукт обмена пуриновых оснований. За сутки с мочой выделяется около 0,7 г мочевой кислоты. Обильное потребление пищи, содержащей нуклеопротеины, вызывает через некоторое время увеличенное выделение с мочой мочевой кислоты экзогенного происхождения. И, наоборот, при питании, бедном пуринами, выделение мочевой кислоты снижается до 0,2 г в сутки. Повышенное выделение мочевой кислоты наблюдается при лейкомии, полицитемии, гепатитах и подагре. Содержание мочевой кислоты в моче повышается также при приеме ацетилсалициловой кислоты и ряда стероидных гормонов. Наряду с мочевой кислотой в моче всегда содержится небольшое количество пуринов как эндо-, так и экзогенного происхождения.

Гиппуровая кислота – соединение глицина и бензойной кислоты, в суточном объёме мочи бывает около 0,7 г. Её повышенное выделение отмечается при употреблении преимущественно растительной пищи, богатой ароматическими соединениями, из которых образуется бензойная кислота. Так как бензойная кислота синтезируется печенью, то по выходу гиппуровой кислоты можно изучить обезвреживающую функцию печени. Больной принимает после лёгкого завтрака 3-4 г бензоата натрия, образовавшаяся гиппуровая кислота выводится с мочой. В норме при проведении такой пробы (проба Квика-Пытеля) с мочой выводится 65-85% принятого бензоата натрия. При поражении печени образование гиппуровой кислоты нарушается, поэтому количество последней в моче резко снижается.

Безазотистые органические компоненты мочи – это щавелевая, молочная и лимонная (цитрат), а также масляная, валериановая, янтарная (сукцинат), β -оксимасляная, ацетоуксусная и другие кислоты. Их общее содержание в суточной моче не превышает 1 г. В норме содержание каждой

из этих кислот в суточном объеме мочи исчисляется миллиграммами, поэтому количественно определять их очень сложно. При тех или иных состояниях выведение многих из них увеличивается и их проще обнаружить в моче. Например, при усиленной мышечной работе повышается уровень молочной кислоты, а количество цитрата и сукцината увеличивается при алкалозе.

Неорганические (минеральные) компоненты мочи. В моче определяются практически все минеральные вещества, входящие в состав крови и других тканей организма. Из 50-65 г сухого остатка суточной мочи, на долю неорганических компонентов приходится 15-25 г.

Ионы натрия и хлора. Обычно около 90% принятых с пищей хлоридов выделяется с мочой, что составляет 8-15 г NaCl в сутки. При ряде патологических состояний (хронический нефрит, диарея, острый суставной ревматизм) выведение хлоридов с мочой может быть снижено. Максимальная концентрация ионов Na^+ и Cl^- (в моче по 340 ммоль/л) может наблюдаться после введения в организм больших количеств гипертонического раствора.

Ионы калия, кальция и магния. Считается, что практически все количество ионов калия, которое имеется в клубочковом фильтрате, всасывается обратно из первичной мочи в проксимальном сегменте нефрона. В дистальном сегменте происходит секреция ионов калия, которая в основном связана с обменом между ионами калия и водорода. Следовательно, обеднение организма калием сопровождается выделением кислой мочи. Ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} выводятся через почки в небольшом количестве. С мочой выделяется лишь около 30% всего количества ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , подлежащего удалению из организма. Основная масса щелочноземельных металлов выводится с калом.

Бикарбонаты, фосфаты и сульфаты. Выделение бикарбонатов с мочой зависит от pH мочи. Так, при pH 5,6 с мочой выделяется 0,5 ммоль/л, при pH 6,6 – 6 ммоль/л, при pH 7,8 – 9,3 ммоль/л бикарбонатов. Уровень

бикарбонатов повышается при алкалозе и понижается при ацидозе. Обычно с мочой выводится менее 50% всего количества выделяемых организмом фосфатов. При ацидозе выведение фосфатов с мочой возрастает. Содержание фосфатов в моче повышается при гиперфункции паращитовидных желез. Витамин D снижает выделение фосфатов с мочой. Источниками сульфатов мочи являются серосодержащие аминокислоты – цистеин, цистин и метионин. При их окислении образуются ионы серной кислоты. Общее содержание сульфатов в суточном количестве мочи в расчёте на серу обычно не превышает 1,8 г.

Аммиак. Аммиак в почках образуется из глутамината при участии глутаминатазы, содержащаяся в большом количестве в почках. Аммиак выводится с мочой в виде аммонийных солей. Их содержание в моче в определенной степени отражает кислотно-основное равновесие. При ацидозе их количество в моче увеличивается, а при алкалозе снижается. Содержание аммонийных солей в моче может быть снижено при нарушении в почках процессов образования аммиака из глутамината.

Патологические компоненты мочи. Хотя и говорят «патологические компоненты мочи» - это понятие в известной мере является условностью, так как большинство соединений, рассматриваемых как патологические компоненты мочи, хотя и в небольшом количестве, но всегда присутствуют в нормальной моче. Однако используемые методы исследования не позволяют их определить в нормальной моче. Такими компонентами являются белки, глюкоза, ацетоновые (кетонные) тела, желчные и кровяные пигменты.

Белок. В нормальной моче человека содержится минимальное количество белка, однако оно не может быть доказано обычными качественными пробами на наличие белка. При ряде заболеваний, особенно при болезнях почек, содержание белка в моче может резко возрасти (протеинурия). Источником белка мочи являются белки сыворотки крови, а также в какой-то степени белки почечной ткани. Протеинурии делятся на две большие группы: почечные и внепочечные. При почечных протеинуриях

белки (в основном белки плазмы крови) попадают в мочу вследствие органического повреждения нефрона, увеличения размеров пор почечного фильтра, а также в результате замедления тока крови в клубочках. Внепочечные протеинурии обусловлены поражением мочевых путей или предстательной железы. Смочой выделяются как альбумины, так и глобулины. При нефрозах общее содержание белка в моче может достигать 26 г/л, при этом концентрация альбуминов 12 г/л, а глобулинов – 14 г/л. В моче человека можно обнаружить активность ряда ферментов: липазы, рибонуклеазы, ЛДГ, аминотрансфераз, урокиназы, фосфатаз, α -амилазы, лейцинаминопептидазы и др. Однако определению активности ферментов мочи, кроме α -амилазы и некоторых других, мешает их сильная разбавленность и определение требует концентрирования мочи, что может привести также к ингибированию их активности.

Кровь. Кровь в моче обнаруживается либо в форме красных кровяных клеток (гематурия), либо в виде растворенного кровяного пигмента (гемоглинурия). Различают почечные и внепочечные гематурии. Почечная гематурия – основной симптом острого нефрита, а внепочечная – наблюдается при воспалительных процессах или травмах мочевых путей. Гемоглинурии связаны с гемолизом и гемоглинемией. Гемоглинурия появляется в моче, когда его содержание в плазме превысит 1 г/л. Гематурию диагностируют с помощью цитологического исследования (исследование осадка мочи под микроскопом), а гемоглинурию – химическим путем.

Глюкоза. Нормальная моча человека содержит минимальные количества глюкозы, которые не обнаруживаются обычными качественными пробами. При патологических состояниях, к примеру, при сахарном диабете количество глюкозы, выделяемое с мочой (глюкозурия), может достигать нескольких десятков граммов в сутки. Фруктозурия наблюдается при врожденной недостаточности ферментов, превращающих фруктозу в

глюкозу; встречаются также и врождённая пентозурия, и врождённая галактозурия.

Кетоновые (ацетоновые) тела. В нормальной моче эти соединения встречаются в ничтожных количествах – не более 0,01 г в сутки. Они не обнаруживаются обычными качественными пробами и эти пробы могут быть положительными, только при выделении больших количеств кетоновых тел. Например, при сахарном диабете ежедневно может выделяться до 150 г кетоновых тел. Это явление называется кетонурией. С мочой никогда не выделяется ацетон без ацетоуксусной кислоты, и наоборот. Обычные нитропруссидные пробы позволяют определить не только присутствие ацетона, но также и ацетоуксусной кислоты; β -оксимасляная кислота появляется в моче лишь при сильном увеличении количества кетоновых тел (сахарный диабет и др.). Кетоновые тела выделяются с мочой также при голодании, исключении углеводов из пищи. Кетонурия наблюдается при заболеваниях, связанных с усиленным расходом углеводов: например, при тиреотоксикозе, кровоизлияниях в подпаутинные пространства, черепно-мозговых травмах. У детей дизентерия и токсикозы могут вызвать кетонемию и кетонурию в результате голода и истощения. Кетонурия нередко наблюдается при инфекционных заболеваниях: скарлатине, гриппе, туберкулезе, менингите. В этих случаях кетонурия является вторичной, поэтому не имеет диагностического значения.

Билирубин. В норме моча содержит минимальное количество билирубина, которое не может быть обнаружено обычными качественными пробами. Повышенное выделение билирубина – билирубинурия встречается при закупорке желчного протока и заболевании паренхимы печени. Выделение билирубина в мочу сильно выражено при обтурационных желтухах. При застое желчи переполненные желчью каналцы травмируются и пропускают билирубин в кровяные капилляры. Если поражена паренхима печени, билирубин проникает в кровь через разрушенные печеночные клетки. Билирубинурия проявляется при уровне

(фосфатные) или смешанные мочевые камни. Образование камней обычно происходит в результате хронического защелачивания мочи в мочевом пузыре и почечных лоханках, которое является следствием бактериальной инфекции. Образованию камней способствуют также избыточное выделение ионов Ca^{2+} при гиперпаратиреозе, остеопорозе и необычайно высокое содержание Ca^{2+} в пище. Кроме того, камни, состоящие из оксалата кальция, патогномичны для оксалурии (наследственное нарушение метаболизма глицина, при котором практически весь синтезированный глицин окисляется через глиоксиловую кислоту до щавелевой кислоты). У больных подагрой встречаются камни, состоящие в основном из мочевой кислоты ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$), реже – из ее аммониевой или натриевой соли. Эти камни называются мочекислыми или уратными. Отложение цистина (цистиновые камни) наблюдается у больных цистинурией. Изучение этиологических факторов, определение химического состава мочевых камней имеют важное значение для профилактики и лечения почечнокаменной болезни.

Глава 10

БИОХИМИЯ МОЛОКА

Развитие молочной железы происходит в период беременности, но дифференциация ткани, жировые отложения, изменения соединительной ткани продолжаются в течение всей жизни женщины. Наиболее выраженные анатомические и физиологические изменения происходят в 18-20 лет и затем в период беременности и лактации.

Лактация – сложный биохимический процесс, протекающий при участии всего материнского организма, в течение которого, происходят значительные изменения в обмене веществ и в функциональном состоянии всех органов и систем.

Лактационную функцию определяет ряд взаимосвязанных процессов:

- **маммогенез** – развитие железы;
- **лактогенез** – начало секреции молока после родов;

- **лактопоэз** – поддержание секреции молока.

Регуляция лактации осуществляется рефлекторно через рецепторный аппарат, заложенный в коже сосков и околососковой ореолы. Импульсы идут в ЦНС, оттуда в гипоталамус и гипофиз, где выделяется пролактин, усиливающий синтез молока и секрецию его в молочные протоки. Одновременно вырабатывается окситоцин, стимулирующий продвижение молока и его выведение. В это же время происходит снижение в крови эстрогенов, особенно прогестерона. В целом, в регуляции лактации участвует вся гормональная система женщины.

Лактация зависит от многих факторов: состояния здоровья матери, режима дня, условий ее труда и отдыха. На лактацию и качественный состав молока большое влияние оказывает питание матери во время беременности и в период кормления грудью. Питание кормящей женщины должно быть разнообразным, содержать полноценный белок, жир, минеральные соли и витамины. Наиболее важно поступление достаточного количества белка, используемого для синтеза молочного белка, а также для образования ферментов, гормонов и иммунных тел.

Грудное молоко, вырабатываемое молочными железами, является лучшей пищей, обеспечивающей всестороннее правильное развитие грудного ребенка. Оно содержит все необходимые питательные вещества – белки (1%), жиры (4%), углеводы (7%), витамины, соли и микроэлементы (1%), воду (87%) в таких количествах и соотношениях, которые наиболее полно отвечают потребностям быстро растущего организма ребенка. Кроме того, сырое женское молоко содержит ферменты, которые при попадании с молоком в пищеварительный тракт дополняют действие ферментов пищеварительных соков ребенка. В нем содержатся гормоны, которые принимают участие в обменных процессах и, наконец, иммунные факторы, имеющие значение для защитных функций организма ребенка.

Молоко матери особая жидкость, выполняющая не только питательную функцию, но и защищающая ребенка от инфекций. Оно содержит антивирусные и антипаразитарные факторы, ряд антиинфекционных элементов, а также антитела против возбудителей инфекций, ранее перенесенных матерью. Поэтому, молоко даже во время болезни матери будет лучшей защитой для новорожденного, благодаря иммуноглобулину IgA, который, в отличие от других иммуноглобулинов, выделяется только в молоко. В грудном молоке содержание ДНК в 3,7 раз, а - РНК в 9 раз больше, чем в крови.

Все виды молока млекопитающих являются комплексными жидкостями, уникально отвечающим потребностям их потомства. Например, подсчитано, что для переваривания женского молока новорожденному требуется в 3 раза меньше желудочного сока, соляной кислоты и ферментов, чем для переваривания того же количества коровьего молока.

В первые 2-3 дня после родов в молочной железе выделяется густая, вязкая, с высокой плотностью желтая жидкость – молозиво. Молозиво по составу почти идентично тканям новорожденного и поэтому легко усваивается. Оно содержит меньше лактозы, жира и водорастворимых витаминов, чем зрелое молоко, но больше белков, жирорастворимых витаминов, минеральных веществ, таких как Na^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} . В молозиве белков до 20%, тогда как в коровьем молоке около 4%, причем около половины белков составляют глобулины. В молозиве высоко содержание секреторных иммуноглобулинов класса А, лизоцима, лактоферрина, лактопероксидазы, бифидогенных факторов и других веществ, стимулирующих колонизацию кишечника защитной микрофлорой, что позволяет рассматривать его не только как продукт питания, но и как своего рода фактор, обеспечивающий первую вакцинацию, или, как говорят, «теплую» иммунизацию ребенка в отличие от «холодной» (ампульной). Роль иммуноглобулинов заключается в том, что они покрывают незрелую

поверхность кишечника новорожденных и, тем самым, образуют защитный слой, который защищает от бактерий, вирусов, паразитов и других патогенных микроорганизмов. Так, в молозиве концентрация иммуноглобулина А, составляет около 12 г/л, что в 5 раз выше, чем в сыворотке крови. В молозиве отмечен максимальный уровень секреторного IgA (SIgA) – 12-16 мг/мл, со 2-3 дня лактации его уровень быстро снижается и к концу первой - началу второй недели составляет 0,6-1 мг/мл. Такая концентрация SIgA удерживается в зрелом молоке на протяжении 8-9 мес. Молозиво содержит также факторы роста белковой природы, ингибиторы трипсина, значение которых в грудном молоке особенно велико в первые дни после родов, так как они, по-видимому, являются компонентами общей системы, облегчающий энтеральный путь становления иммунитета у новорожденных. Они в качестве модулятора стимулируют различные органы и системы ребенка. Соли Mg²⁺ обладают послабляющим действием, активирует перистальтику, освобождают кишечник от первородного кала (мекония). Новорожденные дети не могут перерабатывать большое количество воды, поэтому молозива выделяется мало. Белки молозива более полноценны, чем белки зрелого молока. Интересно отметить, что при исключении молозива из пищи поросят, они почти все без исключения погибают от инфекционных болезней.

Американский ученый Одри Нейлр 1992 году показал, что дети, кормленные грудным молоком и молозивом, болеют 2,5 раз меньше, чем дети, находящиеся на искусственном питании.

Основной состав молозива

День лактации		
Показатели		Зрелое

	2-3	4-5	6-7	молоко
Белки (%)	5-6	2,5-2	2,1-1,5	1,0-1,5
Жиры	4	4	3,5-4	305-4
Углеводы	4,5	---	---	6,5-7,5
Минеральные соли	0,4-0,5	---	---	0,2-0,3
Калорийность	150-80	75-70	67,5-60	65

По мере утихания лактации и инволюции молочных желез, молоко, на последних стадиях лактации, напоминает молозиво своим высоким уровнем иммуноглобулинов, которые защищают и отнимаемого от груди ребенка, и саму молочную железу матери.

С 4-го по 7-ой день лактации в молочной железе вырабатывается переходное, а затем через 2-4 недели зрелое молоко.

Состав зрелого молока

Белки. Женское грудное молоко, прежде всего, отличается от молока других млекопитающих количеством и качеством белка. Несмотря на то, что белки женского и коровьего молока представлены одними и теми же аминокислотами, количественное содержание всех аминокислот в них

различно. Эти различия определяют качество и структуру белков, свойственных только данному виду.

В первые месяцы лактации материнское молоко является единственным источником белков для новорожденного. Оно содержит от 1 до 1,5% белков, в коровьем их – 2,8-3,4%. Белки женского молока полноценны, по составу и соотношению незаменимых аминокислот, они очень близки к белкам организма ребенка и поэтому очень хорошо усваиваются. В течение первых 4,5-5 месяцев жизни грудное молоко в основном покрывает потребность растущего организма в пластическом материале.

В молоке содержание белка колеблется от 11,5-20,5 г/л, главный по своему содержанию белок – казеиноген, он ответственен за связывание двух важных минеральных веществ – ионов Ca^{2+} и P, и доставке их в организм новорожденных. В коровьем молоке преобладает казеин (76-86% от общего белка). В женском молоке он находится в форме β -казеина, а в коровьем - в форме α -казеина. Соотношение альбумина и казеина в женском молоке составляет 3:2, в коровьем же – 1:4. Наряду с казеином женское молоко содержит α -лактальбумины и лактглобулины, которые составляют 14-24% от общего количества белка молока.

Белок женского молока богат альбумином и иммунными глобулинами. В течении периода лактации содержание IgA в грудном молоке постепенно уменьшается, но даже к концу её удается обнаружить этот белок. В основе защитного действия IgA лежит его антиадсорбционное свойство, благодаря которому бактерии не прикрепляются к поверхности эпителиальных клеток слизистой оболочки кишечника, без чего патогенность соответствующих возбудителей не реализуется.

Белки женского молока быстро расщепляются в условиях низкой кислотности желудочного сока у грудных детей и легко усваиваются. Белки

коровьего молока расщепляются медленнее, требуя значительного напряжения органов пищеварения ребенка. В коровьем молоке содержится не только много белка, но и по качеству оно отличается от грудного молока и является потенциальным аллергеном для грудного ребенка.

В женском молоке более высокие уровни свободных аминокислот и, особенно цистеина, много таурина. Содержание аминокислоты цистеина в женском молоке выше, чем в коровьем молоке. Содержание таурина в женском молоке также выше. Он необходим для соединения солей желчи в процессе пищеварения. Таурин также служит нейротрансмиттером в нейромодуляторах и участвует в развитии центральной нервной системы. Новорожденные дети не способны синтезировать таурин, тогда как организм взрослых синтезирует его из метионина и цистеина.

α -Лактальбумин – важнейший белок грудного молока, который способствует образованию пептидов с антибактериальными и иммунорегулирующими свойствами, стимулирует рост бифидофлоры в кишечнике ребёнка. При расщеплении лактальбумина в ЖКТ образуются биоактивные пептиды, так называемый комплекс HAMLET (Human Alfa-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells), под действием которого, по последним данным исследователей, происходит гибель раковых клеток, причем, без какого-либо разрушения соседних структур организма.

Лактоферрин – железосодержащий и железосвязывающий гликопротеин, который подавляет рост патогенных микроорганизмов, блокируя железо в составе бактериальных клеток. Концевой аминокислотный пептид лактоферрина – лактоферрицин обладает самостоятельной бактерицидной активностью. Поскольку лактоферрин устойчив к воздействию пищеварительных ферментов, основная часть получаемого с грудным молоком лактоферрина сохраняется во время прохождения по пищеварительному тракту ребёнка.

Лизоцим, как и лактоферрин, относится к белкам, обладающим прямой антибактериальной активностью. Лизоцим – антимикробный пептид, который расщепляет пептидогликаны в клеточной стенке бактерий.

Жиры. Содержание жиров в зрелом женском молоке идеально подходит ребенку и удовлетворяет его физиологические потребности. Жиры женского молока представляют собой тонкую эмульсию – мелко раздробленные взвешанные в воде частицы, легко поддающиеся воздействию пищеварительных соков. На качество и количество липидов молока влияет питание матери. У тех матерей, которые употребляют мясо, молоко более богато насыщенными жирами, а молоко матерей–вегетарианцев содержит больше полиненасыщенных жирных кислот.

Содержание жиров в молозиве 2%, в зрелом молоке их концентрация доходит до 4,0-4,5%. Биологическая ценность жира, прежде всего, заключается в его высокой калорийности. Вместе с жирами ребенок получает жирорастворимые витамины - А, D, К, Е. Кроме того, с молоком в организм ребёнка поступают и такие биологически важные вещества, как фосфатиды – лецитин и входящий в его состав холин, стерины – холестерин, жирные кислоты и др.

Фосфатиды (до 6,1 %), способствуют секреции желчи, равномерной эвакуации жира из желудка и более активному всасыванию жира в верхних отделах тонкой кишки. Лецитины и холин обладают липотропным действием, они препятствуют накоплению жира в печени.

Коэффициент усвоения жира женского молока на 1-й неделе жизни составляет 90%, а коровьего – 60%.

Женское молоко содержит как полиненасыщенные длинноцепочечные, так и в меньшей мере короткоцепочечные жирные кислоты. Короткоцепочечные жирные кислоты грудного молока помогают создать среду, которая избирательно стимулирует рост полезных

бифидобактерий, а не других бактериальных штаммов. Коровье молоко содержит короткоцепочные и среднецепочные кислоты. В составе жира женского молока имеются жирные кислоты, цепи которых содержат от 4-х до 22-х углеродных атомов, они влияют на состояние ЖКТ, так как низшие жирные кислоты могут раздражающе действовать на кишечник.

В жире женского молока содержится 53,5-70% ненасыщенных жирных кислот, при этом на долю линолевой кислоты приходится 0,5-4,4%, линоленовой – 0-1,2%, арахидоновой – 0-2%.

Простагландины, синтез которых зависит от количества линолевой и арахидоновой кислот содержатся в женском молоке в достаточном количестве. Они участвуют в активации пищеварения, созревании клеток кишечника, влияют на весь защитный механизм в организме новорожденного. Заменители грудного молока их не содержат.

Особенности химического состава жира женского молока и наличие липазы в молоке определяет высокую его усвояемость. По некоторым данным, под влиянием липаз, содержащихся в женском молоке, около 25% жира расщепляется уже в желудке ребенка, то есть еще до поступления в двенадцатиперстную и тонкую кишку. Липазы женского молока в 20-25 раз активнее липаз коровьего молока. Только человек и приматы снабжают своих детенышей и питанием, и субстратом, и ферментом.

В женском молоке обнаружено вещество карнитин, необходимое для оптимального окисления жирных кислот и осуществления транспорта жирных кислот из цитозоля в митохондрии.

Одним из интересных фактов является то, что природа каждую жировую капельку (диаметром 3-4 микрона) в грудном молоке упаковала в оболочку из клеточной мембраны, на тысячелетия предвосхитив технологию создания липосом.

Жиры наиболее изменчивый компонент молока. В конце грудного кормления (заднее молоко) их количество в 4-5 раз выше, чем в начале кормления (переднее молоко). Это своеобразный фактор насыщения, благодаря которому, ребенок чувствует сытость и прекращает сосать молоко. Учитывая этот факт следует отметить, что время любого кормления должно регулироваться самим ребенком и не ограничиваться лактирующей матерью.

Углеводы. Потребность в углеводах у детей зависит от возраста и от энергетических трат организма. Быстрый рост детей связан с большим потреблением энергии для синтетических процессов, особенно для синтеза белка. Кроме того, детям свойственна большая подвижность и, следовательно, значительный расход тепловой энергии.

Сахар в женском молоке содержится в количестве 6,5-7%, представлен он β -лактозой. Лактоза обеспечивает 40% энергетических потребностей ребенка. В коровьем молоке содержится α -лактоза, количество ее равно 4-4,5%. Лактоза не только является источником энергии в организме, она также оказывает влияние на пищеварительные процессы и характер микрофлоры кишечника. Кроме того, лактоза, расщепившись, используется на синтез галактолипидов, ганглиозидов и цереброзидов. Поэтому, появление связей между нейронами и, по-видимому, процесс восприятия ребенком окружающей среды находится в зависимости от поступления в организм ребенка галактозы, являющейся наряду с глюкозой вторым компонентом лактозы. Большая часть лактозы подвергается расщеплению в тонкой кишке. Однако небольшое количество лактозы в нерасщепленном виде попадает в толстую кишку, где под действием бифидум-бактерий ферментируется в молочную кислоту, обеспечивающую низкую рН кала, способствующую подавлению патогенной флоры кишечника.

Для здорового грудного ребенка, находящегося на естественном вскармливании, наличие бифидофлоры в кишечнике имеет большое значение. Она подавляет рост кишечной палочки и обладает выраженными

антагонистическими свойствами по отношению к другим патогенным возбудителям. Бифидобактерии принимают активное участие в ферментативных процессах и в синтезе некоторых витаминов группы В. Считают также, что они обладают способностью вырабатывать вещества, подобные антибиотикам. Эти микроорганизмы, которые определяются термином «пробиотики», оказывают положительное влияние на состояние здоровья ребенка, поскольку они продуцируют органические кислоты, угнетающие рост условно-патогенных микроорганизмов. Кроме того, бифидобактерии, в присутствии олигосахаридов, производят факторы, повышающие регулируемую активность Т-клеток.

При вскармливании детей смесями из коровьего молока микрофлора кишечника характеризуется значительным разнообразием, количество молочнокислых бактерий в ней уменьшено и преобладает кишечная палочка.

Оказалось, что для развития бифидофлоры в кишечнике, важное значение имеют и другие углеводы – поли- и олигоаминосахара (β -галактозид фруктоза), общее количество которых в женском молоке составляет 0,4%. В коровьем молоке содержание их незначительно, в 40 раз меньше по сравнению с женским молоком. В женском молоке присутствуют также в небольших количествах свободные галактоза и фруктоза.

В одной порции сцеженного грудного молока удаётся определить около 130 видов олигосахаридов. Многие из них выполняют функцию ложных рецепторов и способны подавлять связывание бактериальных или вирусных патогенов и токсинов с клетками кишечного эпителия. Так например, GM1 ганглиозиды являются аналогами рецепторов для токсинов, продуцируемых *V. cholerae* и *E. coli*, а лакто-N-фукопентаоза предотвращает перенос вируса иммунодефицита человека. Гликозилированные протеины (муцины) препятствуют фиксации бактерий и вирусов к кишечной стенке.

Минеральные вещества. Значение минеральных солей для организма очень велико, так как они не только участвуют в образовании костной ткани, но и являются регуляторами важнейших процессов обмена на клеточном уровне.

В зависимости от количества минеральных элементов, которые нужны для достаточного обеспечения всех жизненно важных процессов в организме, минеральные соли принято делить на макро- и микроэлементы. К макроэлементам относятся Ca^{2+} , P, K^+ , Na^+ , Mg^{2+} и др. Потребность организма в них выражается в граммах и более. К микроэлементам относятся Co^{2+} , Cu^{2+} , J, Zn^{2+} , Mn, F и др. Потребность в них исчисляется в долях миллиграмма или гаммах. Железо занимает промежуточное положение между макро- и микроэлементами.

Содержание большинства минеральных веществ в грудном молоке женщин не зависит или мало зависит от питания, т.к. даже при их дефиците срабатывают компенсаторные реакции снижающие их выведение с мочой и, в исключительных случаях, существенно истощаются резервы их в тканях самой матери. Грудное молоко очень богато Ca^{2+} . Его содержание 25-34 мг/л. Соотношение Ca^{2+} к P – 2:1. Коэффициент усвоения кальция женского молока составляет более 60%, а коровьего молока – лишь 20%, что имеет важное значение для процесса минерализации костной ткани. Здесь, нельзя не отметить существенное влияние витамина Д, активность которого в женском молоке выше, чем в коровьем.

Цинк молока входит в структуры ферментов и участвует в их функционировании, а также имеет важное значение для роста и клеточного иммунитета.

Высокую биологическую ценность имеет железо. Оно содержится в грудном молоке женщин в количестве 0,2-0,8 мг%, в коровьем молоке в 2-3 раза меньше. Железодефицитная анемия у детей грудного вскармливания,

как правило, не наблюдается. Причиной тому является активное всасывание железа женского молока – до 70%, тогда как коровьего – до 30%, а в заменителях грудного молока лишь 10%.

Кобальта и меди в женском молоке 0,8-0,4 мкг% и 0,5 мг% соответственно, в коровьем молоке их примерно в 2-3 раза меньше. В трехмесячном возрасте показатель селена лучше у детей, вскармливаемых исключительно грудью, чем находящихся на смешанном или искусственном вскармливании. В первые месяцы жизни, дети при грудном вскармливании получают в среднем в сутки: 0,135 г Na⁺, 0,450 г K⁺. В коровьем молоке их больше – 0,350 г и 1,270 г соответственно.

Химический состав и физические свойства женского и коровьего молока

Показатель	М о л о к о	
	женское	коровье
Кислотность активная	6,7	6,8
Плотность	1,026	1,028
Величина жировых шариков (мл)	3 - 5	1 - 10
время суточ. свертывания ч	11 - 12	0,5
Характер сгустка	тонкие хлопья	плотный сгусток
сухие вещества (%)	12,7	12,7
СОМО-сух ост. молока (%)	9,2	8,5
белки (%)	1,0-1,5	3,0-3,4

в том числе казеин (%)	0,7	2,5
Сывороточные белки (%)	0,8	0,7
в том числе альбумин	0,6-0,45	0,5
Глобулин	0,35	0,2
жир (г%)	3,5	3,5-3,7
в том числе		
Насыщ.жир.кислоты(%к жиру):	44,3	55,1-65,6
ненас.жир.кислоты(%к жиру)	55,7	44,9-34,4
в том числе		
Полиненасыщ.жир. кислоты	13,0-15,0	3,7-4,5
Молочный сахар (%)	7,0	4,5
соли-зола (%)	0,2-0,3	0,7-0,8
в том числе		
Кальций (мг%)	35-40	115-120
Фосфор (мг %)	18 - 20	100
Отношение Са/Р	2:1	1,2:1
Железо (мг%)	0,2	0,1
Отношение К/Na	1:3(3,2)	1:2,5(3,0)
Калорийность (1л)	670	660

Витамины

Содержание витаминов в женском молоке почти всегда соответствует потребностям ребенка, хотя оно может меняться в зависимости от питания матери, от времени года и общего состояния здоровья женщины.

Витамин А. В женском молоке его концентрация составляет 90 мкг/дл, что намного выше, чем в коровьем молоке. На втором году жизни недостаток витамина А более распространен среди детей, которых рано отняли от груди, чем среди тех, кого продолжают еще кормить грудью.

Витамин D. Недостаток витамина D в пище вызывает замедление отложения кальция в костях, понижение скорости всасывания солей кальция и фосфора из ЖКТ в кровь и тем самым способствует глубоким нарушениям фосфорно-кальциевого обмена в организме. Содержание его в молоке 0,15 мг/дл.

Витамин Е. В молоке его среднее содержание составляет 9 мг/дл.

Витамин К участвует в процессах свертывания крови, стимулирует кроветворение и улучшает процессы обмена веществ. Содержание его в молозиве и раннем грудном молоке выше, чем в позднем молоке.

Витамины группы В. К этой группе относятся 15 витаминов. Наиболее важны для здоровья человека витамины В₁, В₂, В₃, В₆ и В₁₂.

Витамин В₂ участвует в процессах тканевого дыхания, способствует росту и прибавлению в весе. Его количество в молоке 30-50 мкг/дл.

Витамин В₆ весьма необходим организму, так как участвует во всех процессах обмена веществ. Предупреждает заболевания кожи, входит в состав ферментов, регулирует деятельность нервной системы, способствует нормальному течению беременности и родов, и др. Его содержание 15 мкг/дл.

Витамин В₁₂. Недостаток в организме витамина В₁₂ приводит к возникновению тяжелой злокачественной анемии. Среднее содержание его в молоке 0,1 мкг/дл, это мало, но его биологическая ценность в молоке усиливается особым фактором, участвующим в его всасывании и усвоении.

Концентрация **биотина** в молоке составляет – 0,8 мкг/дл, **витамина В₃** – 65 мкг/мл, **витамина С** – 4 мг/дл.

Витамин РР, фолиевая кислота и витамин С содержатся в женском молоке в больших количествах, чем в молоке других млекопитающих.

Молоко содержит и другие витамины, однако их количество не так велико. В целом витаминный состав женского молока удовлетворяет потребностям детского организма, даже если их количество не велико, так как они находятся в легко усвояемом состоянии.

Ферменты

Часть ферментов попадает в молоко в результате синтеза их в клетках молочной железы, а некоторые образуются непосредственно в молоке различными микроорганизмами. Молоко всегда содержит некоторое количество микробов, которые в процессе своей жизнедеятельности выделяют ферменты и другие вещества, изменяющие состав и свойства молока.

Из ферментов в молоке обнаружены липаза, лактаза, фосфатаза, редуктаза, пероксидаза, каталаза, трипсин, трипсиноген, лизоцим и др.

Липаза в молоко попадает в результате синтеза в молочной железе и как продукт жизнедеятельности бактерий молока.

Лактазу образуют микроорганизмы (главным образом молочнокислые), она регулирует распад (гидролиз) лактозы молока с

образованием глюкозы и галактозы, которые необходимы для нормальной деятельности печени.

Фосфатаза участвует в костеобразовании, кроветворении, в двигательной функции мышц, в том числе и сердечной. Присутствует она только в сыром молоке. Поскольку даже пастеризация разрушает ее, этот факт используют для выявления сырого молока.

Каталаза защищает организм от ядовитого действия перекиси водорода, которая образуется в процессе обмена веществ. Количество каталазы в молоке незначительно, но при воспалении молочной железы содержание ее резко повышается, что и используется для выявления больных животных.

Редуктаза. Источником редуктазы молока служит микрофлора. Чем богаче микрофлора молока, тем больше в нем и редуктазы. В настоящее время разработаны так называемые редуктазные пробы, с помощью которых можно определить качество молока с учетом содержащейся в нем микрофлоры.

Пероксидаза стимулирует очень важные для организма реакции окисления. Количество ее в молоке не зависит от деятельности микрофлоры, поскольку она образуется в тканях молочной железы. При нагревании молока до 80°C пероксидаза разрушается, что служит надежным показателем тепловой обработки молока.

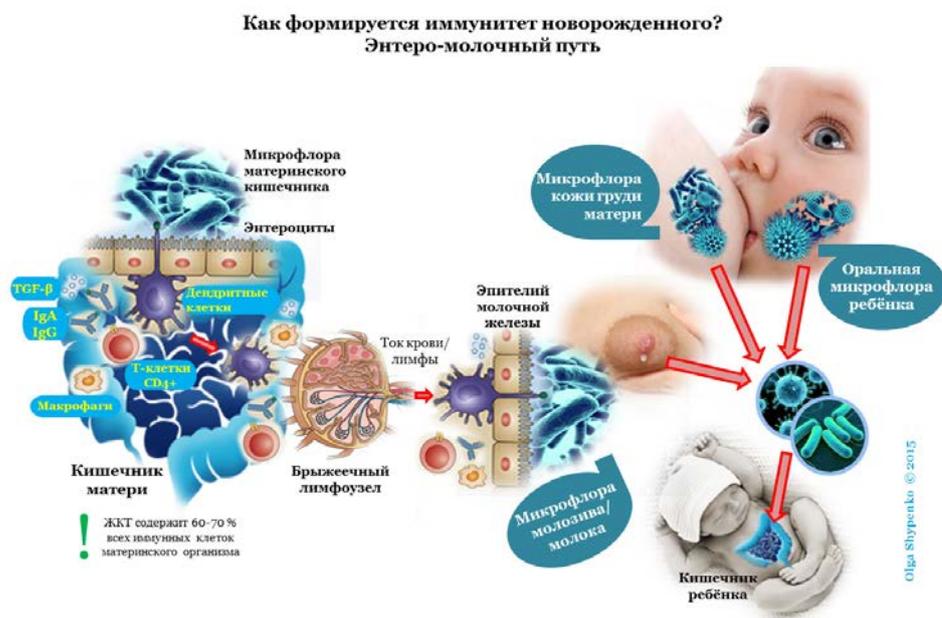
Трипсин, пепсиноген участвуют в процессах расщепления белков, облегчают процессы пищеварения.

Лизоцим – содержание его в женском молоке 300 раз выше, чем в молоке коров. Его концентрация в женском молоке составляет 0,29-0,3 г/л.

Защитные факторы молока

Грудное молоко содержит богатый набор иммунных факторов и является связующим звеном между материнской и младенческой иммунными системами.

Существенное значение имеет также функциональное состояние защитных механизмов грудного молока, позволяющих ребенку адаптироваться и выжить в «мире микробов», куда он поступит в момент родов. Есть данные, что, в каждой чайной ложке грудного молока содержится 3 000 000 клеток, убивающих патогены, так что даже если ребёнок получает всего одну чайную ложку грудного молока в день — это очень ценно!



Концентрация иммунологических составляющих в грудном молоке

Средняя концентрация, мг/мл	2-3 дня	1 месяц	6 месяцев	12 месяцев	13-15 месяцев	16-24 месяцев
Лактоферрин	5.3	1.9	1.4	1.0	1.1	1.2
Секреторный иммуноглобулин IgA	2	1	0.5	0.8	1.1	1.1
Лизоцим	0.09	0.02	0.25	0.196	0.244	0.187

Пассивный иммунитет, который ребенок получает от матери с молоком, в основном, обеспечивается иммуноглобулинами – пять типов (IgG, IgM, IgD, IgE, IgA), борющихся с бактериями, вирусами, аллергенами и дрожжами. У каждого специфическая функция в иммунной системе. Антитела грудного молока обеспечивают таким образом специфическую защиту к сапрофитическим и энтеропатогенным эширихиям, шигеллам, энтеровирусам, кокковой флоре и др. обеспечивают, таким образом, защиту от микроорганизмов, вызывающих полиомиелит, пневмонию, дизентерию, кандидозы и многие другие болезни.

К защитным компонентам женского молока относятся: макрофаги, лизоцим, лактоферрин, α -лактальбумин, лимфоциты (в 1 мл молозива 0,5-10 млн. клеток), олигосахариды, нейтрофилы, гранулоциты и эпителиальные клетки, иммуноглобулины класса G, M и A, цитокины, интерфероны, бифидум фактор и др. Будучи в высокой концентрации в молозиве все они в зрелом молоке снижаются.

Содержание секреторного иммуноглобулина класса А в молозиве 30 г/л, позднее в молоке его содержание падает до 10 г/л. Это означает, что кормленный грудью новорожденный в первые часы жизни получает большой запас материнского иммуноглобулина А. Иммуноглобулин А в грудном молоке обладает устойчивостью к изменениям рН и действию протеолитических ферментов пищеварительного тракта, тем самым обеспечивает надежную иммунологическую защиту поверхности слизистой оболочки. Поэтому находящиеся на грудном вскармливании дети, значительно реже болеют кишечными инфекциями, даже находясь в весьма неблагоприятных санитарно-гигиенических условиях. Отсутствие иммуноглобулина А приводит к нарушению формирования нормальной микрофлоры кишечника.

В зрелом молоке содержится также антистафилококковый фактор, обеспечивающий защиту от вирулентных штаммов стафилококка. Кроме того, обнаружены интерфероны, обладающие неспецифической активностью против вирусов.

Концентрация лизоцима в женском молоке выше, чем в других биологических жидкостях. Этот фермент находится в материнском молоке в пределах 0,29-0,30 г/л. Лизоцим является мощным фактором неспецифической защиты. В грудном молоке он находится в более устойчивой форме. Лизоцим способен повреждать структурные элементы бактериальной стенки.

Лактоферрин, связанный с железом белок, его содержание 2-6 г/л. Он имеет особое значение в обеспечении антимикробной активности женского молока.

Цитокины – это группа биологически активных пептидов, обладающих гормоноподобным действием, обеспечивающих взаимодействие клеток иммунной, кроветворной, нервной и эндокринной систем. Как правило,

регуляторная функция цитокинов осуществляется в местах проникновения или концентрирования патогенных агентов и сводится к вовлечению клеток близлежащих тканей и крови в процесс нивелирования чужеродных веществ, тем самым, обеспечивая иммунные и воспалительные реакции. В целом концентрация цитокинов в молоке разных женщин широко варьируют, что осложняет оценку их роли в развитии иммунной системы ребёнка. Тем не менее, очевидно, что потребление цитокинов через грудное молоко имеет влияние на созревание и развитие иммунных клеток у младенцев.

Комплемент (система комплемента) – группа белков сыворотки крови животных и человека, представляющих собой часть иммунной системы организма. При попадании в организм бактерий или вирусов, некоторых токсинов или возникновении собственных измененных клеток происходит активация комплемента, в результате чего, токсины и вирусы нейтрализуются, а клетки-мишени разрушаются. В женском молоке выявлено присутствие всех компонентов комплемента. Содержание C3 компонента комплемента в молозиве составляет 0,33 г/л, в переходном молоке 0,22 г/л, а в зрелом молоке – 0,16 г/л.

Моноциты/макрофаги влияют на функцию Т-клеток младенца посредством выделения маркеров активации, проявляют фагоцитарную активность и секретируют иммунорегуляторные факторы. Кроме того, макрофаги содержат поглощённые иммуноглобулины SIgA, которые они могут высвободить для взаимодействия с бактериями в кишечнике.

Нейтрофилы грудного молока. О влиянии нейтрофилов грудного молока на развитие иммунной системы детей известно мало, но большинство исследователей предполагают, что их основное значение заключается в защите организма матери, поскольку активность нейтрофилов снижается при попадании в молоко.

Лимфоциты. Большинство лимфоцитов грудного молока – это Т-лимфоциты (развивающиеся в тимусе), обеспечивают распознавание и

уничтожение клеток, несущих чужеродные антигены, усиливают действие моноцитов. Предполагается, что активированные Т-клетки из материнского молока компенсируют функции незрелых Т-клеток у новорожденных и способствуют их созреванию. Это объясняет то, что у вскармливаемых грудью младенцев тимус в два раза больше, чем у детей-искусственников. Некоторые исследования показали, что под воздействием материнского молока происходят изменения в иммунофенотипических системных популяциях лимфоцитов.

Присутствующие в женском молоке интерфероны, лизоцим, бифидум факторы противодействуют проникновению потенциальных аллергенов через незрелые слизистые оболочки ЖКТ. В противоположность этим особенностям женского молока коровье молоко и продукты прикорма лишены иммунобиологических факторов защиты новорожденного.

Гормоны. В настоящее время доказано присутствие в молоке млекопитающих целого ряда гормонов. Из гипоталамических гормонов в молоке найдены тиреолиберин, гонадолиберин, соматостатин. Их количество в молоке подобно или больше такового в сыворотке крови. Из гипофизарных гормонов в молоке различных видов млекопитающих найдены гормон роста, адренкортикотропный гормон, пролактин, гонадотропины, человеческий хорионический гонадотропин, тиреотропный гормон и окситоцин. В молоке найдены также эстрогены, андрогены, прегнандиол, тиреоидные гормоны, инсулин, кортизол, прокальцитонин, кальцитонин. Наряду с гормонами в молоке обнаружены биологически активные вещества как простагландины, циклические нуклеотиды (цАМФ и цГМФ), эритропоэтин, эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста. Однако неясна судьба гормонов, поступающих с молоком в желудочно-кишечный тракт новорожденных; остается открытым вопрос и о значении большинства присутствующих в молоке гормонов для развития новорожденных-сосунков. Количество гормонов в молоке зависит от вида млекопитающего, от времени

получения молока, от срока лактации, от частоты кормления, от физиологического состояния лактирующей матери, от тех или иных препаратов, получаемых ею. У животных оно зависит также от количества сосунков в помете.

Таким образом, можно отметить, что грудное молоко очень сложная биологическая жидкость, отражающая все метаболические процессы, протекающие в организме лактирующей матери. После родов в раннем постнатальном периоде сохраняется осуществляемая через молоко связь между матерью и обменными процессами в организме новорожденных.

Хотя молоко в наибольшей степени соответствует потребностям развивающегося организма по качественному и количественному составу основных пищевых ингредиентов и содержит многообразные биологически активные и защитные факторы, тем не менее, даже среди детей, вскармливаемых материнским молоком, встречаются такие, которые недостаточно прибавляют в массе, плохо развиваются. В этих случаях врач-педиатр проводит так называемый расчет питания, то есть высчитывает получаемое ребенком с пищей количество основных нутриентов (белков, жиров, углеводов), сравнивают его с должным и вносят необходимую коррекцию в питание, исходя из средних цифр количественного содержания белков, жира и углеводов в женском молоке. В то же время, состав женского молока довольно variabelен и зависит от ряда экзо- и эндогенных факторов. Это делает необходимым, осуществляя расчет питания ребенку, в рацион которого входит женское молоко, в каждом конкретном случае проводить анализ этого молока на содержание в нем основных нутриентов.

Глава 13.

БИОХИМИЯ МЫШЦ

Мышцы или мускулы (от лат. *musculus* — мышца) — часть опорно-двигательного аппарата в совокупности с костями организма, способная к сокращению. Предназначены для выполнения различных действий: движения тела, поддержания позы, сокращения голосовых связок, дыхания. Мышцы состоят из упругой, эластичной мышечной ткани, которую, в свою очередь, представляют клетки миоциты (мышечные клетки). Мышцы способны сокращаться под влиянием нервных импульсов. Для мышц характерно утомление, которое проявляется при интенсивной работе или нагрузке.

Мышцы позволяют менять положение частей тела в пространстве. Человек выполняет любые движения — от таких простейших, как моргание или улыбка, до тонких и энергичных, какие мы наблюдаем у ювелиров или спортсменов — благодаря способности мышечных тканей сокращаться. От исправной работы мышц, состоящих из трёх основных групп, зависит не только подвижность организма, но и функционирование всех физиологических процессов. Работой всех мышечных тканей управляет нервная система, которая обеспечивает их связь с головным и спинным мозгом и регулирует преобразование химической энергии в механическую.

Химический состав мышц колеблется в зависимости от вида и возраста животного, типа и функционального состояния М. и ряда др. факторов. Основные вещества, входящие в состав поперечнополосатых М. человека и животных, и их содержание (в % к сырой массе) представлены ниже:

<u>Вода.....</u>	<u>72—80</u>
<u>Плотные вещества.....</u>	<u>20—28</u>
<u>В том числе:</u>	
<u>Белки.....</u>	<u>16,5—20,9</u>

<u>Гликоген.....</u>	<u>0,3—3,0</u>
<u>Фосфатиды.....</u>	<u>0,4—1,0</u>
<u>Холестерин.....</u>	<u>0,06—0,2</u>
<u>Креатин + креатинфосфат.....</u>	<u>0,2—0,55</u>
<u>Креатинин.....</u>	<u>0,003—0,005</u>
<u>АТФ.....</u>	<u>0,25—0,4</u>
<u>Карнозин.....</u>	<u>0,2—0,3</u>
<u>Карнитин.....</u>	<u>0,02—0,05</u>
<u>Анзерин.....</u>	<u>0,09—0,15</u>
<u>Свободные аминокислоты.....</u>	<u>0,1—0,7</u>
<u>Молочная кислота.....</u>	<u>0,01—0,02</u>
<u>Зола.....</u>	<u>1,0—1,5</u>

В среднем около 75% сырой массы М. составляет вода. Основное количество плотных веществ приходится на долю белков. Различают белки миофибриллярные (сократительные) — *миозин, актин* и их комплекс — *актомиозин*, тропомиозин и ряд так называемых минорных белков (а и в-актинины, тропонин и др.), и саркоплазматические — глобулины Х, миогены, дыхательные пигменты, в частности миоглобин, нуклеопротеиды и ферменты, участвующие в процессах обмена веществ в М. Из др. соединений важнейшими являются экстрактивные, принимающие участие в обмене веществ и осуществлении сократительной функции М.: АТФ, фосфокреатин, карнозин, анзерин и др.; фосфолипиды, играющие важную роль в образовании клеточных микроструктур и в обменных процессах; безазотистые вещества: гликоген и продукты его распада (глюкоза, молочная кислота и др.), нейтральные жиры, холестерин и др.; минеральные вещества — соли К, Na, Ca, Mg. Гладкие мышцы существенно отличаются по химическому составу от поперечнополосатых (более низкое содержание контрактальных белков — актомиозина, макроэргических соединений, дипептидов и др.). В скелетной мышце выделяют сухожильную головку, которой мышца начинается на кости, мышечное брюшко, состоящее из

волокон, и сухожильный хвост, которым мышца заканчивается на другой кости.

Мышечное волокно - структурная единица мышцы. Известны три типа мышечных волокон: белые быстро сокращающиеся (VT), промежуточные (FR) и медленно сокращающиеся (ST). Биохимически они различаются механизмами энергетического обеспечения мышечного сокращения. Их иннервируют разные мотонейроны, чем обусловлены неодновременность включения в работу и различная скорость сокращения волокон. Разные мышцы имеют разное сочетание типов волокон.



Каждая мышца состоит из нескольких тысяч мышечных волокон, объединяемых соединительными прослойками и такой же оболочкой. Мышца представляет собой многокомпонентный комплекс. Чтобы разобраться в строении мышцы следует изучить все уровни ее организации и структуры, входящие в ее состав (схема б).

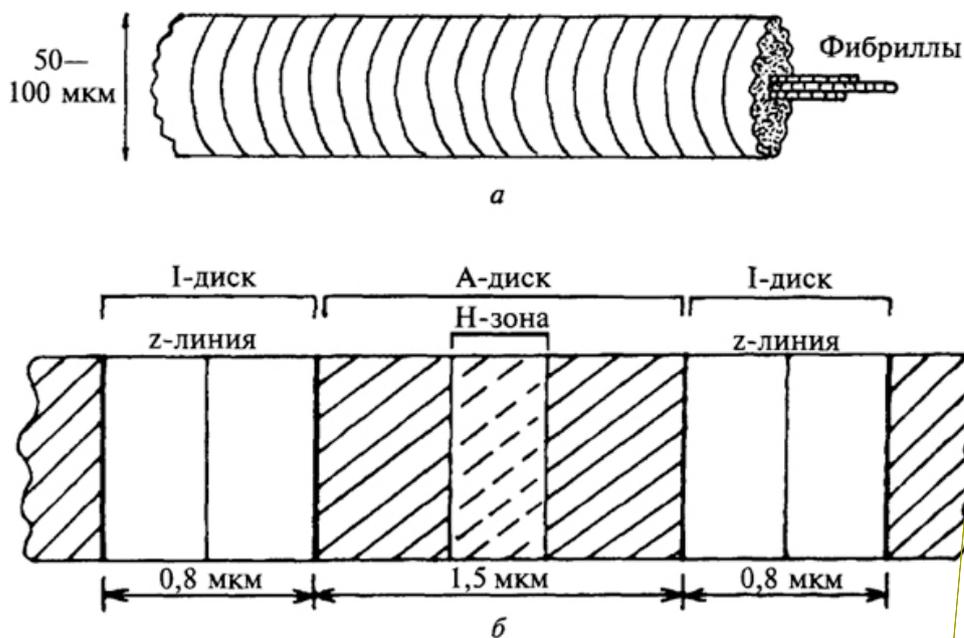


Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Схема 6. Уровни структурной организации мышцы

Строение мышечного волокна. Мышечные волокна построены из продольно расположенных миофибрилл диаметром около 1 мкм, в которых видны чередующиеся темные и светлые диски. Темные диски обладают двойным лучепреломлением и называются

A-(анизотропными) дисками; светлые диски, необладающие двойным лучепреломлением, называются I-(изотропными) дисками (рис. 29). В середине диска I расположена плотная линия Z, которая пронизывает все волокно, как бы удерживая миофибриллы в пучке и одновременно упорядочивая расположение A- и I-дисков многих миофибрилл. Пучок миофибрилл от одной до другой Z-линии называется саркомером. Диски A имеют в середине более светлую полосу - зону H, пересекаемую более темной M-зоной. В одной миофибрилле может содержаться до 1000 - 1200 саркомеров. Каждый саркомер включает: 1) сеть поперечных трубочек, ориентированных под углом 90° к продольной оси волокна и соединяющихся с наружной поверхностью клетки; 2) саркоплазматический ретикулум, составляющий 8 - 10% объема клетки; 3) несколько митохондрий.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Структура мышцы на разных уровнях организации: а - мышечное волокно; б - расположение миофибриллы в покоей мышце

Миофибрилярные структуры представляют собой агрегаты, состоящие из **толстых филаментов** диаметром около 14 нм и из расположенных между ними **тонких филаментов** диаметром 7 - 8 нм. Филаменты располагаются таким образом, что тонкие входят своими концами в промежутки между толстыми. Диски I состоят только из тонких филаментов, а диски А - из филаментов двух типов. Зона Н содержит только толстые филаменты, линия Z скрепляет тонкие филаменты между собой. Между толстыми и тонкими филаментами расположены поперечные мостики (спайки) толщиной около 3 нм; расстояние между этими мостиками 40 нм. Толстые филаменты состоят из белка **миозина**. Общая структура миозина показана на рисунке 30. Палочковидная молекула миозина состоит из двух идентичных основных цепей (по 200 кДа) и четырех легких цепей (по 20 кДа), общая масса миозина около 500 кДа. Миозин состоит из глобулярной,

образующей две головки, части, присоединенной к очень длинному стержню. Стержень представляет собой двухцепочечную α -спирализованную суперспираль.

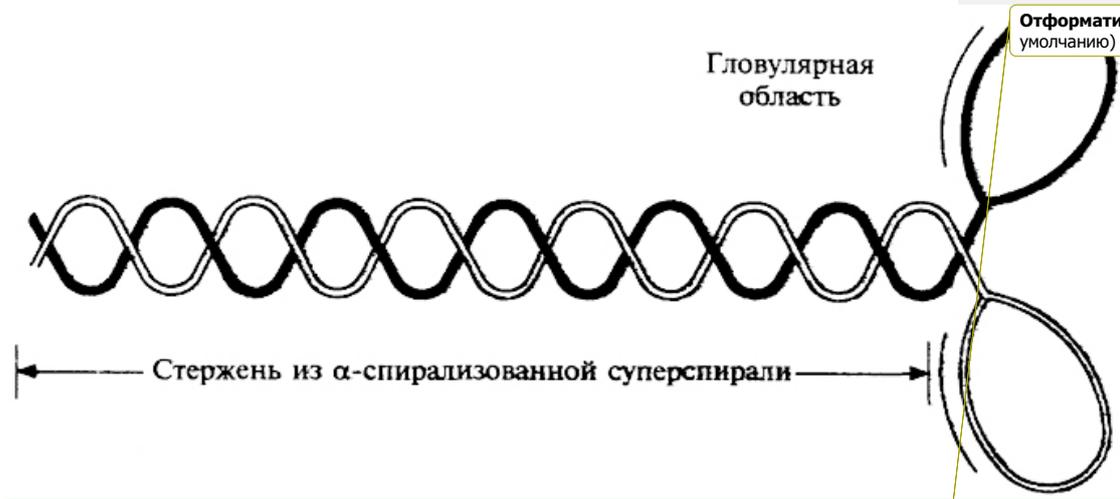
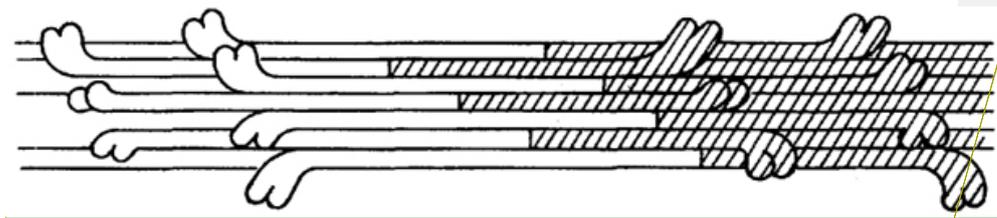


Рис. 30. Схематичное изображение молекулы миозина

Молекулы миозина объединяются, образуя филаменты, состоящие примерно из 400 палочковидных молекул, связанных друг с другом таким образом, что пары головок миозиновых молекул ложатся на расстоянии 14,3 нм друг от друга; они располагаются по спирали (рис. 31). Миозиновые нити стыкуются "хвост к хвосту".



Упаковка миозиновых молекул при образовании толстого филамента

Миозин выполняет три биологически важные функции:

- При физиологических значениях ионной силы и рН молекулы миозина спонтанно образуют волокно.

- Миозин обладает каталитической активностью, т.е. является ферментом. В 1939 г. В.А. Энгельгардт и М.Н. Любимова обнаружили, что миозин способен катализировать гидролиз АТФ. Эта реакция является непосредственным источником свободной энергии, необходимой для мышечного сокращения.

- Миозин связывает полимеризованную форму актина - основного белкового компонента тонких миофибрилл. Именно это взаимодействие, как будет показано ниже, играет ключевую роль в мышечном сокращении.

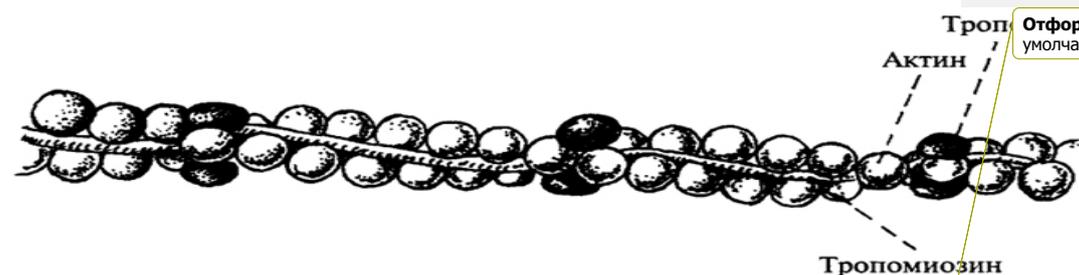
Тонкие филаменты состоят из актина, тропомиозина и тропонина. Основным компонентом тонких филаментов является **актин** - водорастворимый глобулярный белок с молекулярной массой 42 кДа; эта форма актина обозначается как G-актин. В мышечном волокне актин находится в полимеризованной форме, которая обозначается как F-актин. Тонкие филаменты мышцы образованы двунитчатыми актиновыми структурами, связанными между собой нековалентными связями.

Тропомиозин представляет собой палочкообразную молекулу с молекулярной массой 70 кДа, состоящую из двух разных α -спиральных полипептидных цепей, закрученных относительно друг друга. Эта сравнительно жесткая молекула располагается в желобке спиральной цепочки F-актина; ее протяженность соответствует 7 G-актиновым мономерам.

Третий компонент тонких филаментов - **тропонин** (Тн), молекулярная масса которого около 76 кДа. Он представляет собой сферическую молекулу, состоящую из трех разных субъединиц, получивших название в соответствии с выполняемыми функциями: тропомиозинсвязывающей (Тн-Т), ингибирующей (Тн-И) и кальцийсвязывающей (Тн-С). Каждый компонент тонких филаментов соединяется с двумя другими нековалентными связями:

В мышце, где все рассмотренные компоненты собраны вместе в тонком филаменте (рис. 32), тропомиозин блокирует присоединение миозиновой головки к находящемуся рядом F-актиновому мономеру. Кальций, связываясь

с Тн-С, значительно изменяет конформацию белка, увеличивая степень взаимодействия между субъединицами тропонина и одновременно ослабляя связь между Тн-І и F-актином. Это приводит к перемещению молекулы тропомиозина по желобку тонкого филамента. Результатом такого движения является открытие миозинсвязывающего центра на поверхности актина.



Взаиморасположение тропомиозина, тропонина и актина в тонком филаменте мышцы. Актин-тропомиозин-тропонинмиозиновый комплекс характеризуется как Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза.

Мышечное волокно состоит из клеток, окруженных электровозбудимой мембраной - сарколеммой, которая, как и любая другая мембрана, имеет липопротеиновую природу (толщина бимолекулярного слоя около 10 нм). Сарколемма отгораживает внутреннее содержимое мышечного волокна от межклеточной жидкости. Подобно другим мембранам, сарколемма имеет избирательную проницаемость для различных веществ. Через нее не проходят высокомолекулярные вещества (белки, полисахариды и др.), но проходят глюкоза, молочная и пировиноградная кислоты, кетоновые тела, аминокислоты и короткие пептиды.

Перенос через сарколемму носит активный характер (осуществляется с помощью посредников), что позволяет накапливать внутри клетки некоторые вещества в большей концентрации, чем снаружи. Избирательная проницаемость сарколеммы играет большую роль в возникновении возбуждения в мышечном волокне. Сарколемма проницаема для катионов калия, которые накапливаются внутри мышечного волокна. В то же время

она содержит "ионный насос", выводящий из клетки катионы натрия. Концентрация катионов натрия в межклеточной жидкости выше, чем концентрация катионов калия внутри клетки; кроме того, во внутренних зонах волокна содержится значительное количество органических анионов. Все это приводит к возникновению на наружной поверхности сарколеммы избытка положительных, а на внутренней - отрицательных зарядов. Разность зарядов приводит к возникновению мембранного потенциала, который в состоянии покоя мышечного волокна равен 90 - 100 мВ и является необходимым условием возникновения и проведения возбуждения.

Внутриклеточная жидкость называется *саркоплазмой*. В саркоплазме локализованы органические вещества, минеральные соли, а также субклеточные частицы: ядра, митохондрии, рибосомы, функция которых заключается в регуляции обмена веществ в мышечном волокне путем воздействия на синтез специфических мышечных белков.

Внутри саркоплазмы находится система продольных и поперечных трубочек, мембран, пузырьков, носящая название *саркоплазматический ретикулум (SR)*. Толщина мембран SR около 6 нм. Саркоплазматический ретикулум делит саркоплазму на отдельные отсеки, в которых протекают различные биохимические процессы. Пузырьки и трубочки оплетают каждую миофибриллу. Через трубочки, связанные с наружной клеточной мембраной, возможен прямой обмен веществами между клеточными органеллами и межклеточной жидкостью. Трубочки могут служить и для распространения волны возбуждения от наружной мембраны волокна к внутренним его зонам. Мембраны пузырьков, прилегающих к миофибриллам, содержат белки, связывающие катионы кальция.

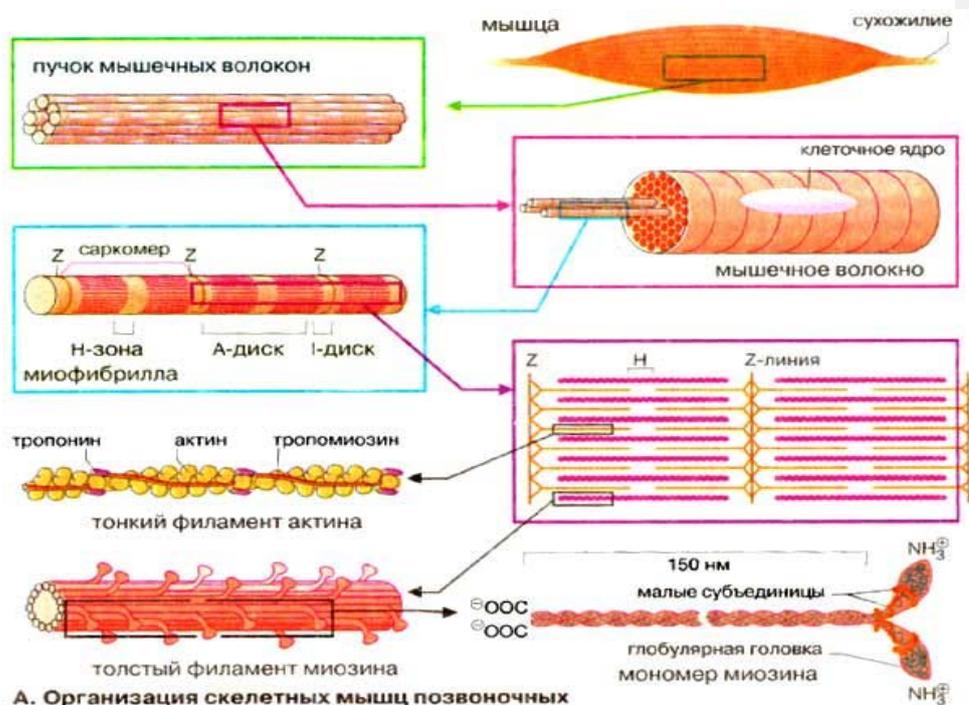
Значение саркоплазматического ретикулума очень велико. Он связан непосредственно с сокращением и расслаблением мышцы, регулируя освобождение катионов кальция в мышечном волокне. Кроме того, к части саркоплазматического ретикулума прикреплены рибосомы, назначением которых является синтез белков. В той части ретикулума, где нет рибосом,

синтезируется ряд необходимых мышечному волокну веществ: липидов, гликогена.

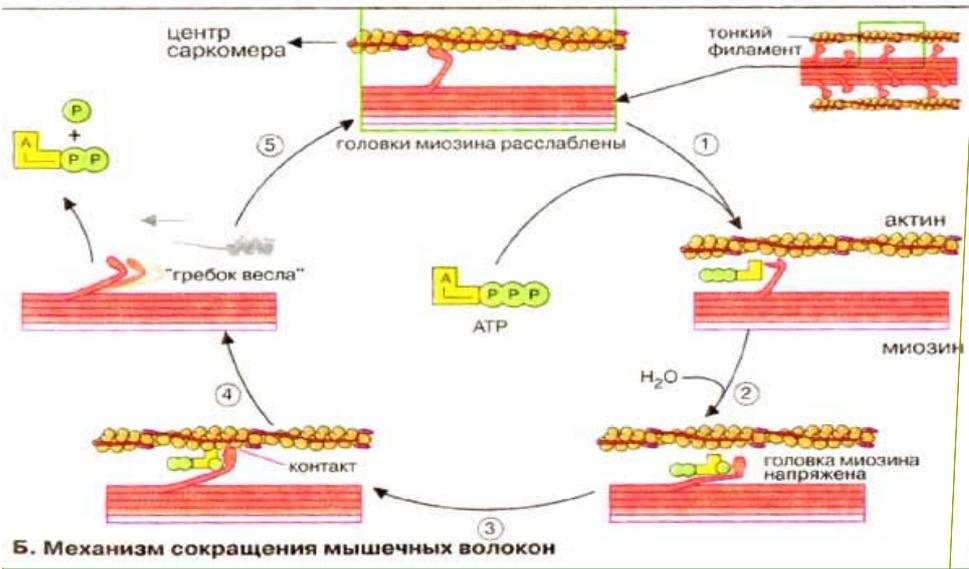
Одним из важнейших структурных компонентов мышечного волокна являются митохондрии. Число митохондрий в мышечном волокне очень велико, и располагаются они цепочками вдоль миофибрилл, тесно прилегая к мембранам ретикулума.

Как и у всякой клетки (оговоримся, что применение этого термина к мышечному волокну не совсем корректно), у мышечного волокна есть ядра, которые располагаются под сарколеммой. Ядро отделено от саркоплазмы двумя мембранами, одну из которых (внутреннюю) можно назвать ядерной, а вторая (наружная) является оболочкой ядра, переходящей в мембрану ретикулума. Пространство между этими двумя мембранами сообщается с канальцами саркоплазматического ретикулума. Внутри ядра находится ядрышко и хроматин. В состав хроматина входят ДНК, белки и низкомолекулярные РНК. В ДНК закодирована информация о структуре всех белков, синтезируемых в мышечном волокне.

В мышечном волокне есть и лизосомы, в которых локализованы гидролитические ферменты, расщепляющие белки, липиды и полисахариды. При очень интенсивной мышечной работе происходит нарушение мембран лизосом (либо увеличение их проницаемости) и в саркоплазму выходят ферменты, расщепляющие локализованные в ней биополимеры. Но это явление - не дисфункция.



А. Организация скелетных мышц позвоночных



Б. Механизм сокращения мышечных волокон

Механизм мышечного сокращения

Рассмотрим, к чему сводятся представления о механизме попеременного сокращения и расслабления мышц. В настоящее время принято считать, что биохимический цикл мышечного сокращения состоит из 5 стадий (рис. 20.8):

1) миозиновая «головка» может гидролизовать АТФ до АДФ и $H_3PO_4(P_i)$, но не обеспечивает освобождения продуктов гидролиза. Поэтому данный процесс носит скорее стехиометрический, чем каталитический, характер (см. рис. 20.8, а);

2) содержащая АДФ и H_3PO_4 миозиновая «головка» может свободно вращаться под большим углом и (при достижении нужного положения) связываться с F-актином, образуя с осью фибриллы угол около 90° (см. рис. 22.8, б);

3) это взаимодействие обеспечивает высвобождение АДФ и H_3PO_4 из актин-миозинового комплекса. Актин-миозиновая связь имеет наименьшую энергию при величине угла 45° , поэтому изменяется угол миозина с осью фибриллы с 90° на 45° (примерно) и происходит продвижение актина (на 10–15 нм) в направлении центра саркомера (см. рис. 20.8, в);

4) новая молекула АТФ связывается с комплексом миозин–F-актин (см. рис. 20.8, г);

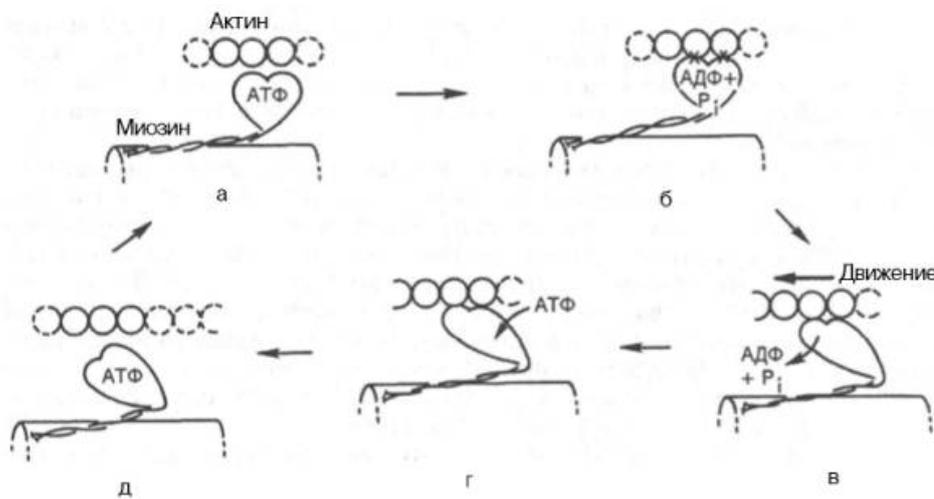


Рис. 20.8. Биохимический цикл мышечного сокращения. Объяснение в тексте.

5) комплекс миозин–АТФ обладает низким сродством к актину, и поэтому происходит отделение миозиновой (АТФ) «головки» от F-актина.

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Последняя стадия и есть собственно расслабление, которое отчетливо зависит от связывания АТФ с актин-миозиновым комплексом (см. рис. 20.8, д). Затем цикл возобновляется.

Регуляция сокращения и расслабления мышц. Сокращение любых мышц происходит по общему механизму, описанному ранее. Мышечные волокна разных органов могут обладать различными молекулярными механизмами регуляции сокращения и расслабления, однако всегда ключевая регуляторная роль принадлежит ионам Ca^{2+} . Установлено, что миофибриллы обладают способностью взаимодействовать с АТФ и сокращаться в его присутствии лишь при наличии в среде определенных концентраций ионов кальция. Наибольшая сократительная активность наблюдается при концентрации ионов Ca^{2+} около 10^{-6} – 10^{-5} М. При понижении концентрации до 10^{-7} М или ниже мышечные волокна теряют способность к укорочению и развитию напряжения в присутствии АТФ.

По современным представлениям, в покоящейся мышце (в миофибриллах и межфибриллярном пространстве) концентрация ионов Ca^{2+} поддерживается ниже пороговой величины в результате связывания их структурами (трубочками и пузырьками) саркоплазматической сети и так называемой Т-системой при участии особого Ca^{2+} -связывающего белка, получившего название кальсеквестрина, входящего в состав этих структур.

Связывание ионов Ca^{2+} разветвленной сетью трубочек и цистерн саркоплазматической сети не является простой адсорбцией. Это активный физиологический процесс, который осуществляется за счет энергии, освобождающейся при расщеплении АТФ Ca^{2+} -зависимой АТФазой саркоплазматической сети. При этом наблюдается весьма своеобразная картина: скорость выкачивания ионов Ca^{2+} из межфибриллярного пространства стимулируется этими же ионами. В целом

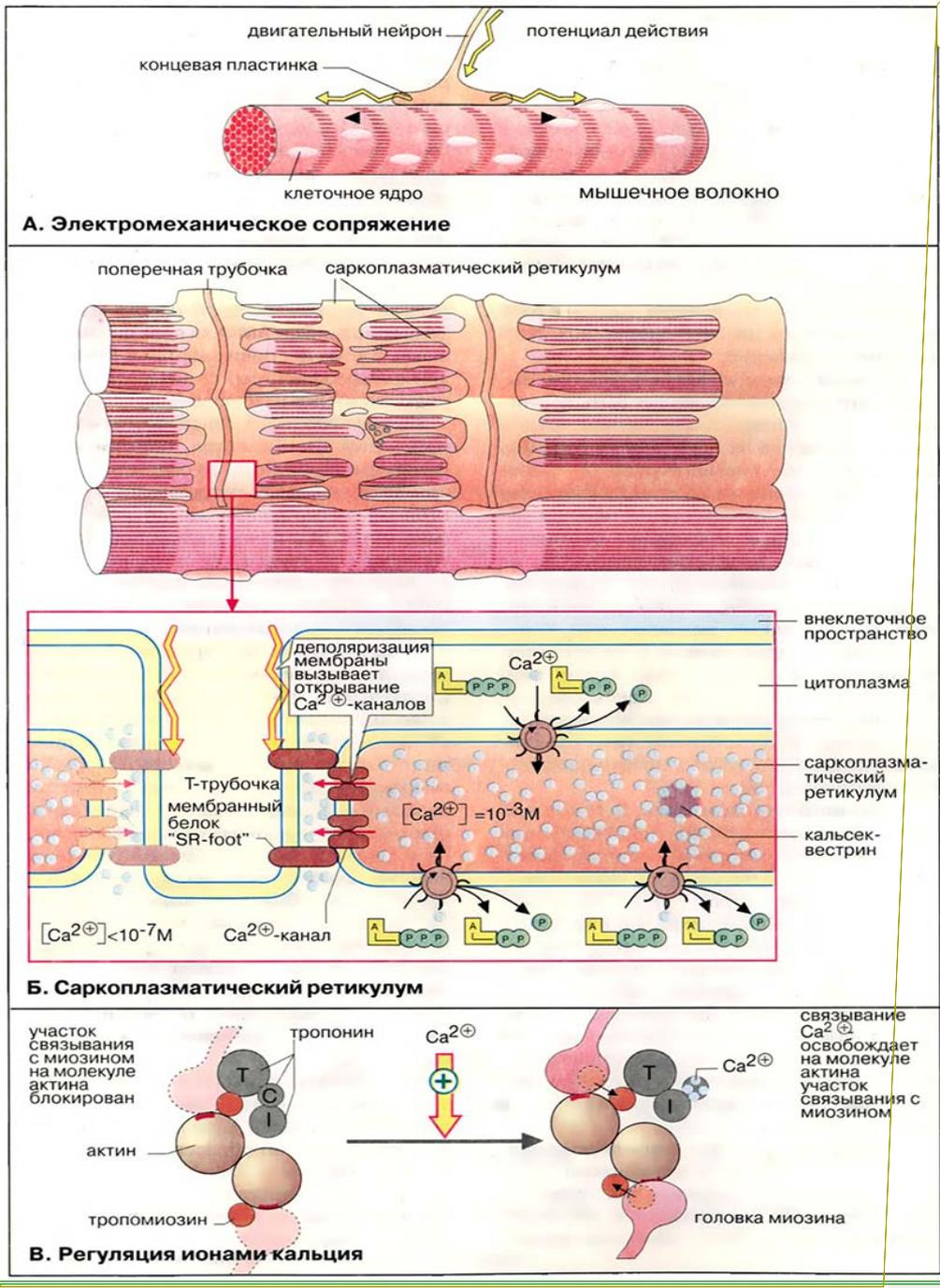
такой механизм получил название «кальциевая помпа» по аналогии с хорошо известным в физиологии натриевым насосом.

Возможность пребывания живой мышцы в расслабленном состоянии при наличии в ней достаточно высокой концентрации АТФ объясняется снижением в результате действия кальциевой помпы концентрации ионов Ca^{2+} в среде, окружающей миофибриллы, ниже того предела, при котором еще возможны проявление АТФазной активности и сократимость акто-миозиновых структур волокна. Быстрое сокращение мышечного волокна при его раздражении от нерва (или электрическим током) является результатом внезапного изменения проницаемости мембран и как следствие выхода из цистерн и трубочек саркоплазматической сети и Т-системы некоторого количества ионов Ca^{2+} в саркоплазму.

Как отмечалось, «чувствительность» актомиозиновой системы к ионам Ca^{2+} (т.е. потеря актомиозином способности расщеплять АТФ и сокращаться в присутствии АТФ при снижении концентрации ионов Ca^{2+} до 10^{-7}M) обусловлена присутствием в контрактильной системе (на нитях F-акти-на) белка тропонина, связанного с тропомиозином. В тропонин-тропомио-зиновом комплексе ионы Ca^{2+} связываются именно с тропонином. В молекуле тропонина при этом происходят конформационные изменения, которые, по-видимому, приводят к сдвигу всего тропонин-тропомиозинового стержня и деблокировке активных центров актина, способных взаимодействовать с миозином с образованием сократительного комплекса и активной Mg^{2+} -АТФазы.

В продвижении актиновых нитей вдоль миозиновых, по данным Э. Хаксли, важную роль играют временно замыкающиеся между нитями поперечные мостики, которые являются «головками» миозиновых молекул. Итак, чем большее число мостиков прикреплено в данный момент к актиновым нитям, тем больше сила мышечного сокращения.

Наконец, если возбуждение прекращается, содержание ионов Ca^{2+} в саркоплазме снижается (кальциевая помпа), то циклы прикрепление–освобождение прекращаются, т.е. «головки» миозиновых нитей перестают прикрепляться к актиновым нитям. В присутствии АТФ мышца расслабляется и ее длина достигает исходной. Если прекращается поступление АТФ (аноксия, отравление дыхательными ядами или смерть), то мышца переходит в состояние окоченения. Почти все поперечные мостики толстых (миозиновых) нитей присоединены при этом к тонким актиновым нитям, следствием чего и является полная неподвижность мышцы.



Виды сокращений. В зависимости от условий, в которых происходит сокращение, различают два его типа - изотоническое и изометрическое. Изотоническим называется такое сокращение мышцы, при котором ее

волокна укорачиваются, но напряжение остается прежним. Примером является укорочение без нагрузки. Изометрическим называется такое сокращение, при котором мышца укорачиваться не может (когда ее концы неподвижно закреплены). В этом случае длина мышечных волокон остается неизменной, но напряжение их растет (подъем непосильного груза).

Естественные сокращения мышц в организме никогда не бывают чисто изотоническими или изометрическими.

Одиночное сокращение. Раздражение мышцы или иннервирующего ее двигательного нерва одиночным стимулом вызывает одиночное сокращение мышцы. В нем различают две основные фазы: фазу сокращения и фазу расслабления. Сокращение мышечного волокна начинается уже во время восходящей ветви ПД. Длительность сокращения в каждой точке мышечного волокна в десятки раз превышает продолжительность ПД. Поэтому наступает момент, когда ПД прошел вдоль всего волокна и закончился, волна же сокращения охватила все волокно и оно продолжает быть укороченным. Это соответствует моменту максимального укорочения или напряжения мышечного волокна.

Сокращение каждого отдельного мышечного волокна при одиночных сокращениях подчиняется закону "все или ничего". Это означает, что сокращение, возникающее как при пороговом, так и при сверхпороговом раздражении, имеет максимальную амплитуду. Величина же одиночного сокращения всей мышцы зависит от силы раздражения. При пороговом раздражении сокращение ее едва заметно, с увеличением же силы раздражения оно нарастает, пока не достигнет известной высоты, после чего уже остается неизменной (максимальное сокращение). Это объясняется тем, что возбудимость отдельных мышечных волокон неодинакова, и поэтому только часть их возбуждается при слабом раздражении. При максимальном сокращении они возбуждены все. Скорость проведения волны сокращения мышцы совпадает со скоростью распространения ПД. В двуглавой мышце плеча она равна 3,5-5,0 м/сек.

Гладкие мышцы Функции гладких мышц в разных органах.

Гладкая мускулатура в организме находится во внутренних органах, сосудах, коже. Гладкие мышцы способны осуществлять относительно медленные движения и длительные тонические сокращения.

Относительно медленные, часто ритмические сокращения гладких мышц стенок полых органов (желудка, кишок, протоков пищеварительных желез, мочеточников, мочевого пузыря, желчного пузыря и т.д.) обеспечивают перемещение содержимого. Длительные тонические сокращения гладких мышц особенно резко выражены в сфинктерах полых органов; их сокращение препятствует выходу содержимого.

В состоянии постоянного тонического сокращения находятся также гладкие мышцы стенок кровеносных сосудов, особенно артерий и артериол. Тонус мышечного слоя стенок артерий регулирует величину их просвета и тем самым уровень кровяного давления и кровоснабжения органов. Тонус и двигательная функция гладких мышц регулируется импульсами, поступающими по вегетативным нервам, гуморальными влияниями.

Физиологические особенности гладких мышц. Важным свойством гладкой мышцы является ее большая *пластичность*, т.е. способность сохранять приданную растяжением длину без изменения напряжения. Скелетная мышца, наоборот, сразу укорачивается после снятия груза. Гладкая мышца остается растянутой до тех пор, пока под влиянием какого-либо раздражения не возникает ее активного сокращения. Свойство пластичности имеет большое значение для нормальной деятельности полых органов - благодаря ему давление внутри полого органа относительно мало изменяется при разной степени его наполнения.

Существуют различные типы гладких мышц. В стенках большинства полых органов находятся мышечные волокна длиной 50-200 мкм и диаметром 4-8 мкм, которые очень тесно примыкают друг к другу, и потому при рассмотрении их в микроскоп создается впечатление, что они

морфологически составляют одно целое. Электронно-микроскопическое исследование показывает, однако, что они отделены друг от друга межклеточными щелями, ширина которых может быть равна 600-1500 ангстрем. Несмотря на это, гладкая мышца функционирует как одно целое. Это выражается в том, что ПД и медленные волны деполяризации беспрепятственно распространяются с одного волокна на другое.

В некоторых гладких мышцах, например, в ресничной мышце глаза, или мышцах радужной оболочки, волокна расположены раздельно, и каждое имеет свою иннервацию. У большинства же гладких мышц двигательные нервные волокна расположены только на небольшом числе волокон.

Потенциал покоя гладкомышечных волокон, обладающих автоматией, обнаруживает постоянные небольшие колебания. Величина его при внутриклеточном отведении равна 30-70 мв. Потенциал покоя гладкомышечных волокон, не обладающих автоматией, стабилен и равен 60-70 мв. В обоих случаях его величина меньше потенциала покоя скелетной мышцы. Это связано с тем, что мембрана гладкомышечных волокон в покое характеризуется относительно высокой проницаемостью для ионов Na. Потенциалы действия в гладких мышцах также несколько ниже, чем в скелетных. Превышение над потенциалом покоя - не больше 10-20 мв.

Ионный механизм возникновения ПД в гладких мышцах несколько отличается от имеющегося в скелетных. Установлено, что регенеративная деполяризация мембраны, лежащая в основе потенциала действия в ряде гладких мышц, связана с повышением проницаемости мембраны для ионов Ca⁺⁺, а не Na⁺.

Многим гладким мышцам свойственна спонтанная, автоматическая активность. Для нее характерно медленное снижение мембранного потенциала покоя, которое при достижении определенного уровня сопровождается возникновением ПД.

Проведение возбуждения по гладкой мышце. В нервных и скелетных мышечных волокнах возбуждение распространяется посредством локальных электрических токов, возникающих между деполяризованным и соседними покоящимися участками клеточной мембраны. Этот же механизм свойственен и гладким мышцам. Однако, в отличие от того, что имеет место в скелетных мышцах, в гладких потенциал действия, возникающий в одном волокне, может распространяться на соседние волокна. Обусловлено это тем, что в мембране гладкомышечных клеток в области контактов с соседними имеются участки относительно малого сопротивления, через которые петли тока, возникшие в одном волокне, легко переходят на соседние, вызывая деполяризацию их мембран. В этом отношении гладкая мышца сходна с сердечной. Отличие заключается только в том, что в сердце от одной клетки возбуждается вся мышца, а в гладких мышцах ПД, возникший в одном участке, распространяется от него лишь на определенное расстояние, которое зависит от силы приложенного стимула.

Другая существенная особенность гладких мышц заключается в том, что распространяющийся ПД возникает в них только в том случае, если приложенный стимул возбуждает одновременно некоторое минимальное число мышечных клеток. Эта "критическая зона" имеет диаметр около 100 мкм, что соответствует 20-30 параллельно лежащим клеткам. Скорость проведения возбуждения в различных гладких мышцах составляет от 2 до 15 см/сек. т.е. значительно меньше, чем в скелетной мышце.

Так же, как и в скелетной мускулатуре, в гладкой потенциалы действия имеют пусковое значение для начала сократительного процесса. Связь между возбуждением и сокращением здесь также осуществляется с помощью Ca^{++} . Однако в гладкомышечных волокнах саркоплазматический ретикулум плохо выражен, поэтому ведущую роль в механизме возникновения сокращения отводят тем ионам Ca^{++} , которые проникают внутрь мышечного волокна во время генерации ПД.

При большой силе одиночного раздражения может возникнуть сокращение гладкой мышцы. Латентный период сокращения ее значительно больше, чем скелетной, достигая 0,25-1 сек. Продолжительность самого сокращения тоже велика - до 1 минуты. Особенно медленно протекает расслабление после сокращения. Волна сокращения распространяется по гладкой мускулатуре с той же скоростью, что и волна возбуждения (2-15 см/сек). Но эта медленность сократительной активности сочетается с большой силой сокращения гладкой мышцы. Так, мускулатура желудка птиц способная поднимать 2 кг на 1 кв.мм. своего поперечного сечения.

Вследствие медленности сокращения гладкая мышца даже при редких ритмических раздражениях (10-12 в мин) легко переходит в длительное состояние стойкого сокращения, напоминающее тетанус скелетных мышц. Однако энергетические расходы при таком сокращении очень низки.

Способность к автоматии гладких мышц присуща их мышечным волокнам и регулируется нервными элементами, которые находятся в стенках гладко мышечных органов. Миогенная природа автоматии доказана опытами на полосках мышц кишечной стенки, освобожденных от нервных элементов. На все внешние воздействия гладкая мышца реагирует изменением частоты спонтанной ритмики, следствием чего являются сокращения или расслабления мышцы. Эффект раздражения гладкой мускулатуры кишки зависит от соотношения между частотой стимуляции и собственной частотой спонтанной ритмики: при низком тоне - редких спонтанных ПД - приложенное раздражение усиливает тонус, при высоком тоне в ответ на раздражение возникает расслабление, так как чрезмерное учащение импульсации приводит к тому, что каждый следующий импульс попадает в фазу рефрактерности от предыдущего.

Раздражители гладких мышц. Одним из важных физиологически адекватных раздражителей гладких мышц является их быстрое и сильное растяжение. Оно вызывает деполяризацию мембраны мышечного волокна и

возникновение распространяющегося ПД. В результате мышца сокращается.
Характерной особенностью гладких мышц является их высокая чувствительность к некоторым химическим раздражителям, в частности, к ацетилхолину, норадреналину, адреналину, гистамину, серотонину, простагландинам. Эффекты, вызываемые одним и тем же химическим агентом, в разных мышцах и при различном их состоянии могут быть неодинаковы. Так, АХ возбуждает гладкие мышцы большинства органов, но тормозит мышцы сосудов. Адреналин расслабляет небеременную матку, но сокращает беременную. Эти различия связаны с тем, что указанные агенты реагируют на мембране с различными химическим рецепторами (холино-рецепторами, альфа и бета адренорецепторами), и в итоге по разному изменяют ионную проницаемость и мембранный потенциал гладкомышечных клеток. В тех случаях, когда раздражающий агент вызывает деполяризацию мембраны, возникает возбуждение, и, наоборот, гиперполяризация мембраны под влиянием химического агента приводит к торможению активности и расслаблению гладкой мышцы.

Оксид азота и его значение для мышц

Вы, наверняка, слышали о продуктах, которые, как считается, усиливают выработку оксида азота. В последние годы такие продукты стали достаточно популярны в индустрии пищевых добавок. Считается, что добавки, усиливающие выработку оксида азота, оказывают положительное воздействие на организм атлета за счет увеличения притока крови к скелетным мышцам.

Ученые Техасского университета собрали данные о кинетике поглощения аминокислот и пришли к выводу, что стадией, ограничивающей скорость поступления аминокислот в мышечные ткани, является не прохождение их через клеточную мембрану, а транспорт через кровь и межклеточную

жидкость. Отсюда следует, что усиление притока крови к скелетным мышцам, в сочетании с увеличением концентрации аминокислот в крови, может обеспечить более активное поглощение аминокислот мышечными клетками. Оксид азота (ОА) синтезируется из аминокислоты l-аргинина в эндотелии кровеносных сосудов под воздействием фермента синтазы оксида азота (СОА). Данный фермент катализирует реакцию превращения l-аргинина в оксид азота и цитруллин. Цитруллин может быть повторно превращен в аргинин путем соединения с аспаратом, вновь становясь доступным для СОА. Оксид азота является мощным сосудорасширяющим средством, т.е. ее действие направлено на расслабление гладкомышечных клеток кровеносных сосудов, что ведет к увеличению диаметра сосуда и обеспечивает усиление кровотока. Представьте себе, что будет, если плотно сжать водяной шланг и включить воду. Поток воды на этом участке уменьшится. Если ослабить хватку, вода потечет быстрее. Шланг – это кровеносные сосуды, рука – гладкие мышцы, а вода – кровь (транспортирующая питательные вещества).

Расслабление гладкомышечных клеток кровеносных сосудов обеспечивает прохождение большего количества питательных веществ (включая аминокислоты), которые могут быть использованы мышцами. Помимо того, что оксид азота сам по себе является мощным сосудорасширяющим средством, он также стимулирует выработку циклического гуанозинмонофосфата, еще одного активного сосудорасширителя.

Ранее было установлено, что упражнения увеличивают выработку оксида азота и усиливают приток крови к соответствующему участку тела. Тем не менее, значимость данного процесса только начали изучать. Некоторые исследователи считают, что увеличение притока крови к скелетным мышцам может быть одним из механизмов, обеспечивающих усиление синтеза белка после тренировки.

Увеличение кровотока наблюдается только в тренируемых мышцах, и только в этих мышцах усиливается синтез белка. К примеру, при работе над квадрицепсами приток крови ощущается только в этом месте, а вовсе не в бицепсах бедра. Аналогичным образом, только в квадрицепсах усиливается синтез белка. Если сосудорасширяющее действие оксида азота является важным механизмом для увеличения послетренировочного синтеза белка, то, весьма вероятно, увеличение выработки оксида азота окажет благоприятное действие на восстановление тренируемых мышц!

Сократительные и двигательные белки - белки, которые обеспечивают клетку или организм двигательной функцией,- способностью сокращаться, изменять форму и передвигаться.

Белками с такой функцией являются актин и миозин, представляющие собой нитевидные белки, функционирующие в сократительной системе скелетной мышцы, а также во многих немышечных тканях (микрофиламенты эукариотических клеток). Другим примером таких белков служит тубулин - белок из которого построены микротрубочки, являющиеся важными элементами ресничек и жгутиков, при помощи которых клетки передвигаются. Длинные клетки нервной системы животных также содержат микротрубочки.

Белки мышц



- Основные белки **актин** и **миозин**
- Они связаны в высокоорганизованный комплекс – актомиозин
- Актин и миозин найдены в неммышечных клетках, где обеспечивают клеточную и внутриклеточную подвижность (адгезия, фагоцитоз, изменение поверхности и др.)

MyShared

Источники энергии для мышечной работы

Покоящаяся мышца, подобно другим тканям, для поддержания постоянства своего состава и непрерывного протекания метаболических процессов, требует постоянного обеспечения АТФ. В то же время мышца сильно отличается от других тканей тем, что ее потребность в энергии в форме АТФ при сокращении мышцы может почти мгновенно возрасти в 200 раз.

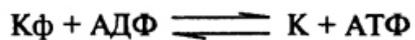
Содержание АТФ в мышце относительно постоянно: около 0,25% массы мышцы. Большая концентрация АТФ приводит к угнетению миозиновой АТФазы, что препятствует образованию спаек между миозином и актином, а следовательно - мышечному сокращению. С другой стороны, концентрация АТФ не может быть ниже 0,1%, поскольку при этом перестает действовать кальциевый насос в пузырьках саркоплазматического ретикулума, и мышца будет сокращаться вплоть до полного исчерпания запасов АТФ и развития *ригора* - стойкого непроходящего сокращения. Запасов АТФ в мышце достаточно на 3 - 4 одиночных сокращения.

Следовательно, необходимо постоянное и весьма интенсивное восполнение АТФ - ее ресинтез.

Ресинтез АТФ при мышечной деятельности может осуществляться как в ходе реакций, идущих в анаэробных условиях, так и за счет окислительных превращений в клетках, связанных с потреблением кислорода. В скелетных мышцах выявлены три вида анаэробных процессов, в ходе которых возможен ресинтез АТФ, и один аэробный.

Рассмотрим все процессы ресинтеза АТФ в мышце и порядок их включения.

Креатинкиназная реакция. Первым и самым быстрым процессом ресинтеза АТФ является Креатинкиназная реакция. Креатинфосфат (Кф) - макроэргическое вещество (глава 5), которое при исчерпании запасов АТФ в работающей мышце отдает фосфорильную группу на АДФ:



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Катализирует этот процесс креатинкиназа, которая относится к фосфотрансферазам (по названию фермента назван рассматриваемый процесс).

АТФ и креатин находятся рядом и вблизи от сократительных элементов мышечного волокна. Как только уровень АТФ начинает снижаться, немедленно запускается Креатинкиназная реакция, обеспечивающая ресинтез АТФ. Скорость расщепления Кф в работающей мышце прямо пропорциональна интенсивности выполняемой работы и величине мышечного напряжения.

В первые секунды после начала работы, пока концентрация Кф высока, высока и активность креатинкиназы. Почти все количество АДФ, образовавшейся при распаде АТФ, вовлекается в этот процесс, блокируя тем самым другие процессы ресинтеза АТФ в мышце. После того как запасы Кф в мышцах будут исчерпаны примерно на 1/3, скорость креатинкиназной

реакции будет снижаться; это вызовет включение других процессов ресинтеза АТФ.

Креатинкиназная реакция обратима. Во время мышечной работы преобладает прямая реакция, пополняющая запасы АТФ, в период покоя - обратная реакция, восстанавливающая концентрацию Кф в мышце. Однако ресинтез Кф возможен от части и по ходу длительной мышечной работы, совершаемой в аэробных условиях.

Креатинкиназная реакция играет основную роль в энергообеспечении кратковременных упражнений максимальной мощности - бег на короткие дистанции, прыжки, метание, тяжелоатлетические упражнения.

Гликолиз. Следующий путь ресинтеза АТФ - гликолиз. Ферменты, катализирующие реакции гликолиза, локализованы на мембранах саркоплазматического ретикулума и в саркоплазме мышечных клеток. Гликогенфосфорилаза и гексокиназа - ферменты гликогенолиза и первой реакции гликолиза - активируются при повышении в саркоплазме содержания АДФ и фосфорной кислоты.

Как было показано выше, энергетический эффект гликолиза невелик и составляет всего 2 моль АТФ на 1 моль глюкозо-1-фосфата, полученного при фосфороллизе гликогена. Кроме того, следует учесть, что примерно половина всей выделяемой энергии в данном процессе превращается в тепло и не может использоваться при работе мышц; при этом температура мышц повышается до 41 - 42°C.

Конечным продуктом гликолиза является молочная кислота. Накапливаясь в мышцах, она вызывает изменение концентрации ионов водорода во внутриклеточной среде, т.е. происходит сдвиг рН среды в кислую область. В слабокислой среде происходит активация ферментов цепи дыхания в митохондриях, с одной стороны, и угнетение ферментов, регулирующих сокращение мышц (АТФазы миофибрилл) и скорость ресинтеза АТФ в анаэробных условиях, с другой. Но, прежде чем перейти к рассмотрению процесса ресинтеза АТФ в аэробных условиях, отметим, что

гликолиз играет важную роль в энергообеспечении упражнений, продолжительность которых составляет от 30 до 150 с. К ним относятся бег на средние дистанции, плавание на 100 и 200 м, велосипедные гонки на треке и др. За счет гликолиза совершаются длительные ускорения по ходу упражнения и на финише дистанции.

Ресинтез АТФ в аэробных условиях. Аэробным процессом ресинтеза АТФ служит окисление глюкозы до оксида углерода (IV) и воды. В главе 6 был подробно рассмотрен этот многостадийный процесс, а в главе 9 рассчитан его энергетический эффект. Сопоставляя энергетические эффекты гликолиза и полного распада глюкозы в аэробных условиях, можно констатировать, что второй процесс отличается наибольшей производительностью. Общий выход энергии при аэробном процессе в 19 раз превышает таковой при гликолизе.

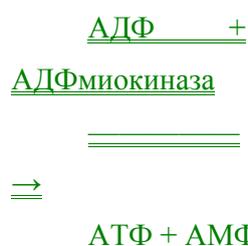
Обратим внимание на тот факт, что АТФ, образующаяся в митохондриях при окислительном фосфорилировании, недоступна АТФазам, локализованным в саркоплазме мышечных клеток, так как внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для заряженных нуклеотидов. Поэтому существует система активного транспорта АТФ из матрикса митохондрий в саркоплазму.

Сначала транслоказа осуществляет перенос АТФ из матрикса через внутреннюю мембрану в межмембранное пространство, где АТФ вступает во взаимодействие с креатином, проникающим из саркоплазмы. Это взаимодействие катализирует митохондриальная креатинкиназа, которая локализована во внешней мембране митохондрий. Образующийся креатинфосфат снова переходит в саркоплазму, где отдает снятый с АТФ остаток фосфорной кислоты на саркоплазматическую АДФ.

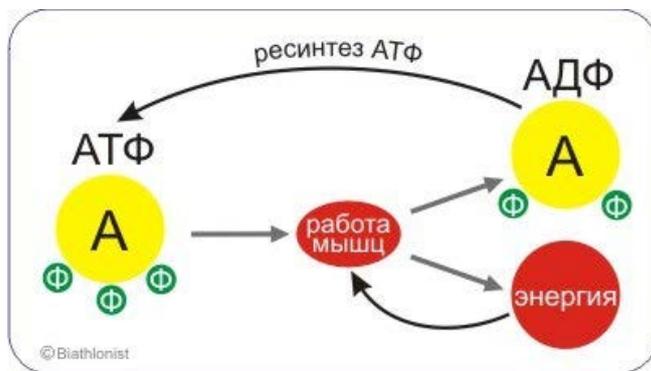
Эффективность образования АТФ в процессе окислительного фосфорилирования зависит от снабжения мышцы кислородом. В работающей мышце запасы кислорода невелики: небольшое количество кислорода растворено в саркоплазме, часть кислорода находится в связанном

с миоглобином мышц состоянии. Основное количество кислорода, нужного мышце для аэробного ресинтеза АТФ, доставляется через систему легочного дыхания и кровообращения. Для образования 1 моль АТФ в процессе окислительного фосфорилирования требуется 3,45 л кислорода; такое количество кислорода потребляется в покое за 10 - 15 мин, а при интенсивной мышечной деятельности - за 1 мин.

Миокиназная реакция происходит в мышце при значительном увеличении концентрации АДФ в саркоплазме, когда возможности других путей почти исчерпаны или близки к тому. Суть этой реакции состоит в том, что при взаимодействии 2 молекул АДФ образуется 1 молекула АТФ:



Условия для включения миокиназной реакции возникают при выраженном мышечном утомлении. Поэтому миокиназную реакцию следует рассматривать как "аварийный" механизм. Миокиназная реакция мало эффективна, так как из двух молекул АДФ образуется только одна молекула АТФ. Возникшая в результате миокиназной реакции АМФ может путем дезаминирования превращаться в инозинмонофосфат, который не является участником энергетического обмена. Однако увеличение концентрации АМФ в саркоплазме оказывает активирующее действие на ряд ферментов гликолиза, что приводит к повышению скорости анаэробного ресинтеза АТФ. В данном случае миокиназная реакция выполняет роль своеобразного метаболического усилителя, способствующего передаче сигнала от АТФазы миофибрилл на АТФ-синтезирующие системы клетки.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ И ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ

Сердечная мышца по содержанию ряда химических соединений занимает промежуточное положение между скелетной мускулатурой и гладкими мышцами. Так, общее содержание белкового азота в скелетных мышцах кролика составляет 30–31 мг/г, а в гладкой мускулатуре (миометрий) – до 20,3 мг/г. В сердечной мышце и особенно в гладких мышцах значительно меньше миофибриллярных белков, чем в скелетной мышце. Общее содержание миофибриллярных белков в гладкой мышечной ткани желудка примерно в 2 раза ниже, чем в скелетных мышцах. Концентрация белков стромы в гладких мышцах и миокарде выше, чем в скелетной мускулатуре. Известно, что миозин, тропомиозин и тропонин сердечной мышцы и гладкой мускулатуры заметно отличаются по своим физико-химическим свойствам от соответствующих белков скелетной мускулатуры. Отмечены определенные особенности и во фракциях саркоплазматических белков. Саркоплазма гладкой мускулатуры и миокарда в процентном отношении содержит больше миоальбумина, чем саркоплазма скелетной мускулатуры. Содержание АТФ в сердечной мышце на 1 г ткани (2,60 мкмоль) ниже, чем в скелетной (4,43 мкмоль), и выше, чем в гладкой мускулатуре (1,38 мкмоль). По содержанию гликогена сердечная мышца также занимает промежуточное положение между скелетной и

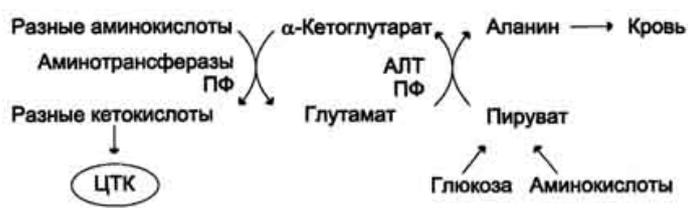
гладкой мускулатурой. По данным С.Е. Северина (1965), как в сердечной, так и в гладкой мускулатуре обнаруживаются лишь следы ансерина и карнозина (не более 0,1 г на 1 кг сырой массы).

Имеется определенная зависимость между характером работы мышц и содержанием фосфолипидов. Миокард по сравнению с другими мышечными тканями богаче фосфолипидами, при окислении которых, по-видимому, вырабатывается значительная часть энергии, необходимой для его сокращения.

Образование аммиака в мышцах

Из мышц и кишечника избыток аммиака выводится преимущественно в виде аланина. Этот механизм необходим, так как активность глутаматдегидрогеназы в мышцах невелика и не прямое дезаминирование аминокислот малоэффективно. Поэтому в мышцах существует ещё один путь выведения азота. Образование аланина в этих органах можно представить следующей схемой (см. схему ниже).

Аминогруппы разных аминокислот посредством реакций трансаминирования переносятся на пируват, основным источником которого служит процесс окисления глюкозы. Мышцы выделяют особенно много аланина в силу их большой массы, активного потребления



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, полужирный

глюкозы при физической работе, а также потому, что часть энергии они получают за счёт распада аминокислот. Образовавшийся аланин поступает в печень, где подвергается непрямому дезаминированию. Выделившийся

аммиак обезвреживается, а пируват включается в глюконеогенез. Глюкоза из печени поступает в ткани и там, в процессе гликолиза, опять окисляется до пирувата. Образование аланина в мышцах, его перенос в печень и перенос глюкозы, синтезированной в печени, обратно в мышцы составляют глюкозо-аланиновый цикл, работа которого сопряжена с работой глюкозо-лактатного цикла.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ПРИ ПАТОЛОГИИ

Общими для большинства заболеваний мышц (прогрессирующие мышечные дистрофии, атрофия мышц в результате их денервации, тенотомия, полимиозит, некоторые авитаминозы и т.д.) являются резкое снижение в мышцах содержания миофибриллярных белков, возрастание концентрации белков стромы и некоторых саркоплазматических белков, в том числе миоальбумина. Наряду с изменениями фракционного состава мышечных белков при поражениях мышц наблюдается снижение уровня АТФ и креатинфосфата. Например, через 12 дней после денервации содержание АТФ в денервированной икроножной мышце кролика снижается более чем в 2 раза. Отмечаются также снижение АТФазной активности контрактильных белков (миозина), уменьшение количества имидазолсодержащих ди-пептидов.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt, полужирный

Схематическое изображение происхождения креатурии при прогрессирующей мышечной дистрофии (по Д.Л. Фердману).

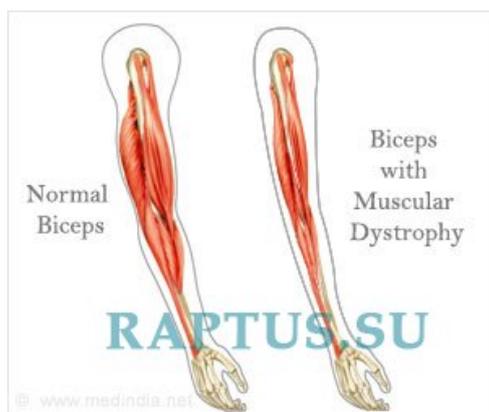
При прогрессирующих мышечных дистрофиях и других заболеваниях, связанных с распадом мышечной ткани, часто отмечаются сдвиги в фосфолипидном составе мышц: значительно снижается уровень фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, концентрация сфингомиелина и лизофосфатидилхолина повышается. До сих пор истинные механизмы изменения фосфолипидного состава мышечной ткани при патологии не выяснены, неизвестна также роль этих сдвигов в патогенезе мышечных дистрофий.

Для многих форм патологии мышечной ткани характерны нарушение метаболизма креатина и его усиленное выделение с мочой (креатурия). Несмотря на многочисленные исследования и обилие фактического материала, вопрос о причинах креатурии при заболеваниях мышц не может считаться окончательно решенным.

Принято считать, что креатурия у больных миопатией является результатом нарушения в скелетной мускулатуре процессов фиксации (удержания) креатина и его фосфорилирования. Если нарушен процесс синтеза креатинфосфата, то не образуется и креатинина; содержание последнего в моче резко снижается. В результате креатурии и нарушения синтеза креатинина резко повышается креатиновый показатель (креатин/креатинин) мочи. Данный механизм представлен на рис. 20.9.

При патологии мышечной ткани можно наблюдать определенную закономерность в изменении активности ферментов в мышцах: уменьшается активность ферментов, локализованных в саркоплазме; незначительно изменяется активность ферментов, связанных с митохондриями; заметно возрастает активность лизосомальных ферментов. Наконец, показано, что при многих заболеваниях мышечной системы наступают сдвиги в системе ЦАМФ: снижается

содержание цАМФ в мышечной ткани,
повышается активность фосфодиэстеразы и
нарушается способность аденилатциклазы активироваться
под влиянием адреналина и фторида натрия.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Нарушение метаболизма сердечной мышцы при ишемической болезни сердца. Для ишемизированного миокарда характерны сниженное окислительное фосфорилирование и повышенный анаэробный обмен. Раннее увеличение гликогенолиза и гликолиза за счет имеющегося в сердечной мышце гликогена и глюкозы, усиленно поглощаемой миокардом в начальной стадии ишемии, происходит в результате повышения внутриклеточной концентрации катехоламинов и цАМФ, что в свою очередь стимулирует образование активной формы фосфорилазы – фосфорилазы а и активацию фосфофруктокиназы – ключевого фермента гликолиза. Однако даже максимально усиленный анаэробный метаболизм не способен длительно защищать уже поврежденный гипоксический миокард. Очень скоро запасы гликогена истощаются, гликолиз замедляется вследствие внутриклеточного ацидоза, который ингибирует фосфофруктокиназу.

Содержание АТФ и креатинфосфата в клетке резко снижается в результате нарушения окислительного фосфорилирования в митохондриях. Одно из первых проявлений этого состояния – нарушение мембранной

проницаемости. Нарушение целостности мембран способствует выходу из клетки ионов, в том числе ионов K^+ , а также ферментов. Дефицит энергетических ресурсов и нарушение ионного состава, существенные изменения различных мембранных «резервуаров», обеспечивающих контроль за уровнем внутриклеточного кальция, обуславливают торможение функциональной активности мышечных клеток и их постепенную гибель. В этот же период выявляются изменения состава белков миокарда (резкое снижение содержания миофибриллярных белков и накопление белков стромы). Нарушение обмена углеводов, белков и липидов (свободные жирные кислоты не окисляются, а преимущественно включаются в триглицериды) при инфаркте миокарда находит отражение в жировой инфильтрации сердечной мышцы.

Размер повреждения миокарда при возникновении ишемии, снижение активности ферментов в сердечной мышце и возрастание активности соответствующих ферментов в сыворотке крови (например, креатинкиназы) в значительной мере коррелируют друг с другом. Следует признать, что в диагностике инфаркта миокарда определение активности креатинкиназы, АсАТ и ЛДГ в сыворотке крови – наиболее чувствительные тесты. Повышение активности указанных ферментов, особенно креатинкиназы, является постоянным и наиболее высоким. Важно также исследование в сыворотке крови изоферментных спектров креатинкиназы (повышение активности изофермента МВ) и ЛДГ (увеличение активности изоферментов ЛДГ₁ и ЛДГ₂). В последние годы четко показано, что определение в сыворотке крови миокардиально специфичных белков (миоглобин, тропонин Т и др.) – весьма чувствительный ранний тест повреждения миокарда.

Креатинфосфат - это запас взрывной энергии

Креатин – вещество скелетных мышц, миокарда, нервной ткани. В виде креатинфосфата креатин является "депо" макроэргических связей, используется для быстрого ресинтеза АТФ во время работы клетки.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Использование креатинфосфата для ресинтеза АТФ

Особенно показательна роль креатина в мышечной ткани. Креатинфосфат обеспечивает срочный ресинтез АТФ в первые секунды работы (5-10 сек), когда никакие другие источники энергии (анаэробный гликолиз, аэробное окисление глюкозы, β -окисление жирных кислот) еще не активированы, и кровоснабжение мышцы не увеличено. В клетках нервной ткани креатинфосфат поддерживает жизнеспособность клеток при отсутствии кислорода.

При мышечной работе ионы Ca^{2+} , высвободившиеся из саркоплазматического ретикулума, являются активаторами креатинкиназы. Реакция еще интересна тем, что на ее примере можно наблюдать обратную положительную связь — активацию фермента продуктом реакции креатином. Это позволяет избежать снижения скорости реакции по ходу работы, которое должно было бы произойти по закону действующих масс из-за снижения концентрации креатинфосфата в работающих мышцах.

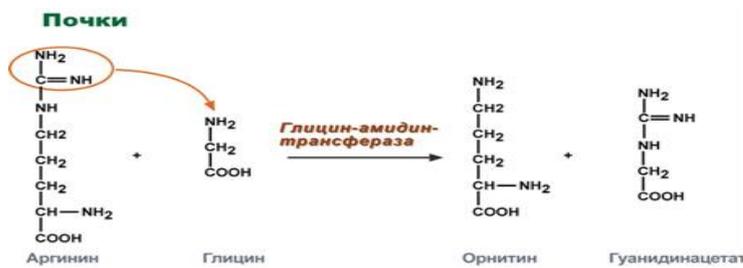
Около 3% креатинфосфата постоянно в реакции неферментативного дефосфорилирования превращается в креатинин. Количество креатинина, выделяемое здоровым человеком в сутки, всегда почти одинаково и зависит только от объема мышечной массы. Уровень активности креатинкиназы в крови и концентрация креатинина в крови и моче являются ценными диагностическими показателями.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Образование креатинина из креатинфосфата

Синтез креатина идет последовательно в почках и печени в двух трансферазных реакциях. По окончании синтеза креатин с током крови доставляется в мышцы или мозг.



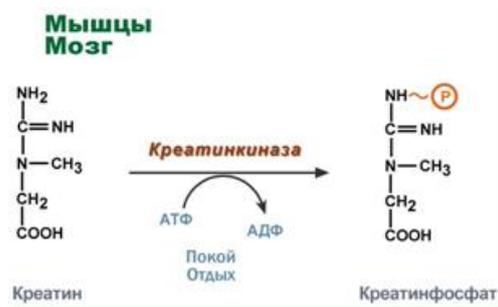
Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Реакции синтеза креатина в почках и печени

Здесь при наличии энергии АТФ (во время покоя или отдыха) он фосфорилируется с образованием креатинфосфата.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

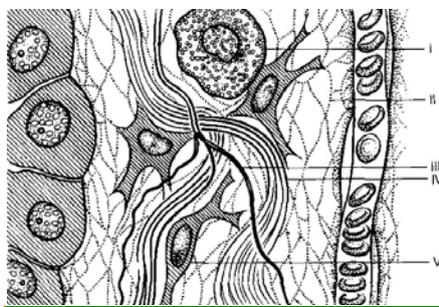
Синтез креатинфосфата

Если синтез креатина опережает возможность его фиксации в мышечной ткани, то развивается креатинурия – появление креатина в моче. Физиологическая креатинурия наблюдается в первые годы жизни ребенка. Иногда к физиологической относят и креатинурию стариков, которая возникает как следствие атрофии мышц и неполного использования образующегося в печени креатина. При заболеваниях мышечной системы (при миопатии или прогрессирующей мышечной дистрофии) в моче наблюдаются наибольшие концентрации креатина – патологическая креатинурия.

Глава 14.

БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Соединительная ткань распределена по всему телу организма, она содержится в хрящах, связках, матриксе костной ткани. Эта ткань находится в почечной лоханке, области мочевых каналов, фиксирует сосуды; составляет основу межклеточного связывающего вещества в печени, мышцах и других паренхиматозных органах. Составляет примерно 50% от массы тела. Механическая и удерживающая функция соединительной ткани осуществляется за счёт нерастворимых нитей, расположенных на поверхности клетки. Они образованы из высокомолекулярных соединений, вложенных в матрикс и называются основным веществом. Кроме ответственных за синтез растворимых нитей и растворимого матрикса клеток – хондроцитов и фибробластов в состав клеток соединительной ткани входят макрофаги, тучные клетки и в большом количестве не дифференцированные клетки.



119-рис. Строение соединительной ткани (по А.И.Слутскому)

I - тучная клетка; II-ретикулиновые волокна; III -эластическое волокно;
IV - коллагеновые волокна; V-фибробласт

Все разновидности соединительной ткани, несмотря на их морфологические различия, построены по общим, единым принципам, которые в основном заключаются в следующем:

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

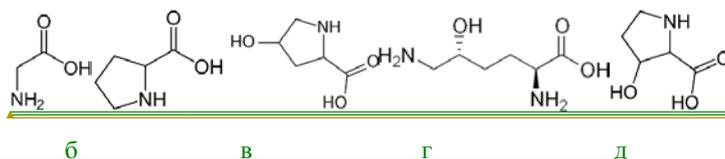
а) соединительная ткань, как всякая другая, содержит клетки, однако межклеточное вещество занимает больше места, чем клеточные элементы;

б) для соединительной ткани характерно наличие своеобразных волокнистых (фибриллярных) структур: коллагеновых, эластических и ретикулиновых волокон, расположенных в окружении межклеточной субстанции;

в) межклеточное вещество соединительной ткани имеет очень сложный химический состав.

Коллаген

Характерный компонент структуры соединительной ткани – нерастворимые волокна построены, в основном, из своеобразного белка – коллагена. Коллаген составляет 25-33% от общего количества белка организма взрослого человека, или 6% от массы тела. $\frac{1}{3}$ всех его аминокислотных остатков составляет глицин, $\frac{1}{3}$ – пролин и 4-гидроксипролин, около 1% – гидроксизин; некоторые молекулярные формы коллагена содержат также 3-гидроксипролин, хотя и в весьма ограниченном количестве(рис. X).

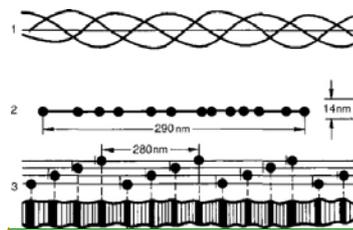


Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Рис. X. Аминокислоты, входящие в состав коллагена

а – глицин; б – пролин; в – 4-гидроксипролин; г – гидроксизин; д – 3-гидроксипролин

Видимые в оптическом микроскопе коллагеновые волокна состоят из различных в электронном микроскопе фибрилл с диаметром от 5 до 200 нм и имеют цилиндрическую форму. Фибриллы коллагена образованы из тропоколлагеновых единиц. Тропоколлаген – это белковая молекула и основная структурная единица коллагена (120-рис).

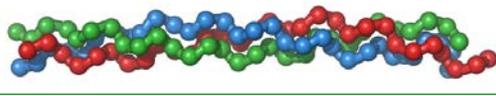


Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

120-рис. Различные уровни структурной организации коллагена (по Кону). 1 – третичная структура; 2 – молекула тропоколлагена; 3 – коллагеновое волокно.

Тропоколлагены выделенные из различных тканей отличаются своим составом, но в них много содержится глицина и содержат 5-оксилизин, 3-окси, алфа-оксипролин.

Молекула тропоколлагена имеет ширину 1,5 нм и длину 300 нм, молекулярная масса 300000 Д. Тропоколлаген состоит из трёх полипептидных цепей одинакового размера, которые сливаются в спиралевидный триплет (рис. X).



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Рис. X. Спиралевидный триплет коллагена

Тройная спираль стабилизируется многочисленными межцепочечными поперечными сшивками между лизиновыми и гидроксизиновыми остатками.

Николаев, 436 стр, рис. 18.5

Каждая полипептидная цепь тропоколлагена содержит около 1000 аминокислотных остатков. Таким образом, основная структурная единица коллагена имеет очень большие размеры, например, в 10 раз больше, чем химотрипсин. Изучение аминокислотного состава и последовательности чередования аминокислот в полипептидных цепях тропоколлагена показало, что существует два типа цепей – цепи $\alpha 1$ и $\alpha 2$, а также четыре разновидности цепи $\alpha 1$: $\alpha 1$ (I), $\alpha 1$ (II), $\alpha 1$ (III) и $\alpha 1$ (IV). I тип коллагена встречается в коже,

костях, связках, II тип – хряще, III тип – коже эмбриона, стенках сосудов, IV тип – соединительных мембранах.

Фибриллы коллагена образованы из молекул тропоколлагенасоединенных конец-конец и бок-бок. Коллаген синтезируется в виде высокомолекулярного предшественника – проколлагена.

Коллаген – внеклеточный белок, но он синтезируется в виде внутриклеточной молекулы-предшественника, которая перед образованием фибрилл зрелого коллагена подвергается посттрансляционной модификации. Предшественник коллагена (сначала препроколлаген, а затем проколлаген) претерпевает процессинг в ходе прохождения через эндоплазматический ретикулум и комплекс Гольджи до появления во внеклеточном пространстве. Внеклеточные амино- и карбоксипролеазы проколлагена удаляют соответственно аминоконцевой и карбоксиконцевой пропептиды. Вновь образованные молекулы коллагена спонтанно собираются в коллагеновые фибриллы (рис X).

Николаев, 434 стр. рис. 18.2

В результате перекрёстного связывания цепей и спиральных молекул фибрилл через основания Шиффа и альдольную конденсацию (т.е. перекрёстное связывание их рядом ковалентных связей) образовавшиеся фибриллы приобретают силу напряжения зрелых коллагеновых фибрилл.

Цепи проколлагена и тропоколлагена подвергаются ряду посттрансляционных модификаций, они важны в формировании специфичной структуры коллагена. Оксипролин и оксилизин в процессе биосинтеза в молекуле проколлагена не содержится. Они образуются в результате гидроксилирования пролина и лизина во время трансляции мРНК коллагена в рибосомах до отделения полипептида и после образования трёх спиральной структуры этот процесс завершается. Реакции гидроксилирования происходят под действием пролингидроксилазы, лизингидроксилазы, они связаны с мембраной микросом и происходят при участии Fe^{+2} , аскорбиновой

кислоты, α-кетоглутарата и O₂:

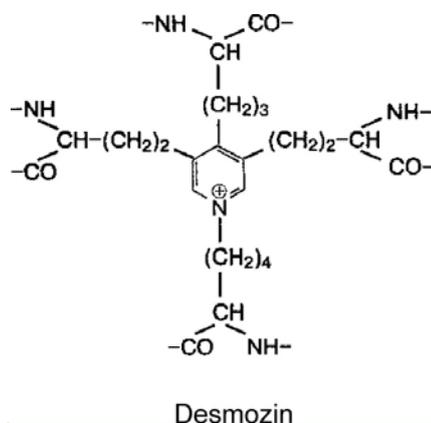
Николаев, 435 стр. рис.18.3

Недостаточность аскорбиновой кислоты в основном связан с нарушением функции мезенхимальных клеток. Нарушается синтез коллагена и хондроитинсульфата. В образовавшемся коллагене мало содержится оксипролина. При тяжело протекающей цинге образование основного вещества соединительной ткани нарушается, это приводит к деполимеризации и растворению основных структур ткани, в результате могут открыться старые леченные раны.

Период полураспада коллагена длится несколько неделями и месяцами.

Эластин

Эластин второй основной белок соединительной ткани. В отличие от коллагена при кипячении не образует желатину. Его аминокислотный состав отличается от коллагена. Так, в его составе кроме глицина и пролина имеется в большом количестве валин (больше чем пролина). В молекуле мало гидроксипролина и вообще отсутствует гидроксизин. Нативные волокна эластина построены из относительно небольших, почти сферических молекул, соединённых в волокнистые тяжи с помощью жёстких поперечных сшивок. Были идентифицированы две формы поперечных сшивок, обе с участием лизина. Из четырёх лизиновых остатков образуются соединения – десмозин и изодесмозин.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Они образуются остатками, принадлежащими по крайней мере двум независимым цепям, однако они могут быть образованы также остатками, находящимися в трёх или четырёх различных пептидных цепях. Три лизиновых остатка вначале окисляются до соответствующих ε-альдегидов(аллизиновые остатки), а затем конденсируются с четвертым остатком лизина; при определённых комбинациях образуется либо десмозин, либо изодесмозин. Десмозиниизодесмозинучаствует при образовании поперечных сшивок. При образовании поперечных сшивок также участвуетлизиннорлейцин.

Нити нативного эластина не перевариваются трипсином или химотрипсином, но медленно гидролизуются пепсином при pH=2.Поджелудочная железа секретирует зимоген проэластазу, которая активируется трипсином с образованием эластазы и гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами остатков алифатических аминокислот. Эластин вместе с коллагеном, протеогликанами и рядом глико- и мукопротеинов является продуктом биосинтетической деятельности фибробластов. Непосредственным продуктом клеточного биосинтеза считается не эластин, а его предшественник – тропоэластин (в коллагене – проколлаген). Тропоэластин не содержит поперечных связей, обладает растворимостью. В последующем тропоэластин превращается в зрелый эластин, нерастворимый, содержащий большое количество поперечных связей.

Эластин, в отличие от коллагена, обладает очень высокой растяжимостью. Поэтому он встречается в большом количестве именно в тканях, испытывающих растяжение и сокращение, такие как кровеносные сосуды, связки, лёгкие(рис. X). К примеру, в аорте эластин составляет 30-60% от массы вещества ткани, а в вейной связке – 70-80%.

Николаев, 438 стр., рис. 18.9

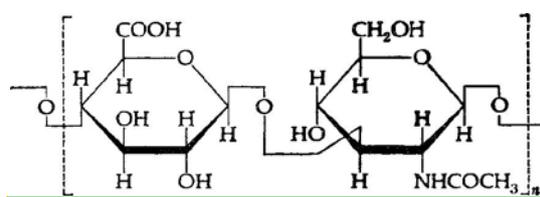
Время полужизни эластина составляет 75 лет.

Протеогликаны

Протеогликаны образуют основное вещество внеклеточного матрикса соединительной ткани и могут составлять до 30% сухой массы ткани. Это полианионные вещества большой молекулярной массы, которые содержат большое число различных геерополисахаридных боковых цепей, ковалентно связанных полипептидным остовом. В отличие от простых гликопротеидов протеогликаны могут содержать до 95% углеводов. По свойствам они более сходны с полисахаридами, чем с белками. Полисахаридные группы протеогликанов можно получить с хорошим выходом после обработки протеолитическими ферментами. Эти группы вначале назывались мукополисахаридами, но теперь предпочитают термин гликозамингликаны, так как все они содержат глюкозамин или галактозамин. Различают шесть основных классов гликозаминогликанов:

- гиалуроновая кислота;
- хондроитин-4-сульфат;
- хондроитин-6-сульфат;
- дерматансульфат;
- кератансульфат I и II;
- гепарансульфат и гепарин.

Гиалуроновая кислота. Повторяющаяся дисахаридная единица этого гликозамингликана имеет следующую структуру:



Остаток

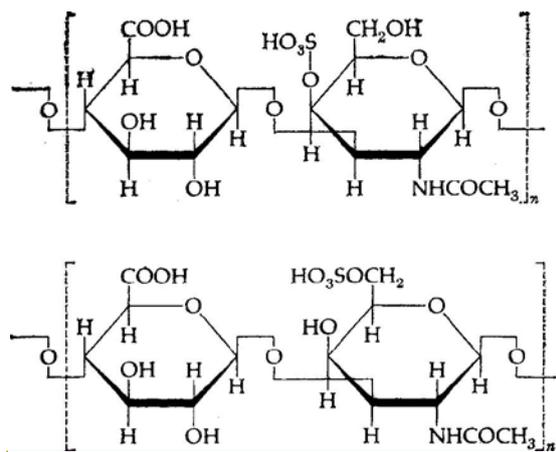
Остаток

Молекулярная масса в пределах от 10^5 до 10^7 . Во многих тканях гиалуроновая кислота находится в небольших количествах, однако она играет важную структурную роль в образовании агрегатов протеогликанов.

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Хондроитинсульфаты. Два широко

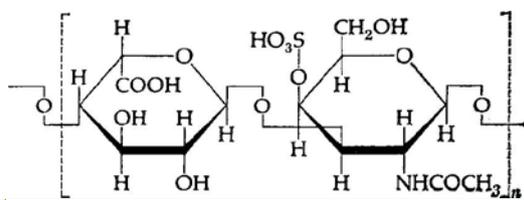
распространённых гликозаминогликана – хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат, различаются только по положению сульфатного эфира – по 4- или 6-гидроксилу N-ацетилгалактозамина соответственно:



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Молекулярная масса $1,10^4 - 6,10^4$. Большинство препаратов являются полидисперсными. Препараты, выделенные из различных тканей, часто имеют различную степень сульфатирования. В тканях может находиться либо хондроитин-4-сульфат, либо хондроитин-6-сульфат, либо их смесь. Цепь из повторяющихся дисахаридных единиц ковалентно связана с серином полипептидного остова. При этом вставочным фрагментом является трисахарид галактозилгалактозил – ксилоза.

Дерматансульфаты. Эти гликозаминогликаны в отличие от хондроитинсульфатов содержат L-идуроновую кислоту и имеют следующую повторяющуюся дисахаридную единицу:



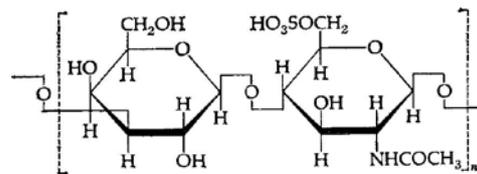
Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Повторяющаяся единица дерматансульфата

В повторяющейся единице обнаружены также небольшие количества

глюкуроновой кислоты, заменяющей идуоновую кислоту. Эти гликозаминогликаны связаны с полипептидным остовым так же, как хондроитинсульфаты.

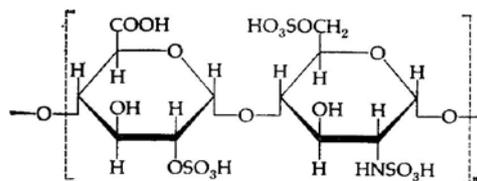
Кератансульфаты. Кератансульфат I и II содержат следующую повторяющуюся дисахаридную единицу:



Повторяющаяся единица кератансульфат I и II

Они, однако, отличаются друг от друга по суммарному содержанию углеводов и находятся в разных тканях. Кератансульфат I, выделенный из роговицы глаза, содержит также фукозу, сиаловую кислоту и маннозу. Его олигосахаридная цепь из повторяющихся единиц связана с полипептидным остовом так же, как и у сывороточных гликопротеидов, N-ацетилглюкозаминил-аспарагинильной связью, однако ещё не установлен характер связи между повторяющейся дисахаридной единицей и N-ацетилглюкозамином. Кератансульфат II, выделенный из хряща и костей, помимо сахаров, которые входят в состав дисахаридной единицы, содержат также N-ацетилгалактозамин, фукозу, сиаловую кислоту и маннозу. Олигосахаридная цепь кератансульфата II присоединена к белку, по-видимому, через N-ацетилгалактозамин, образующий O-гликозидную связь с серином или треонином.

Гепарин и гепарансульфат. Гепаринобнаруживается на поверхности многих клеток; он является внутриклеточным компонентом тучных клеток. Его повторяющаяся дисахаридная единица имеет следующую структуру:



Повторяющаяся структура гепарина

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

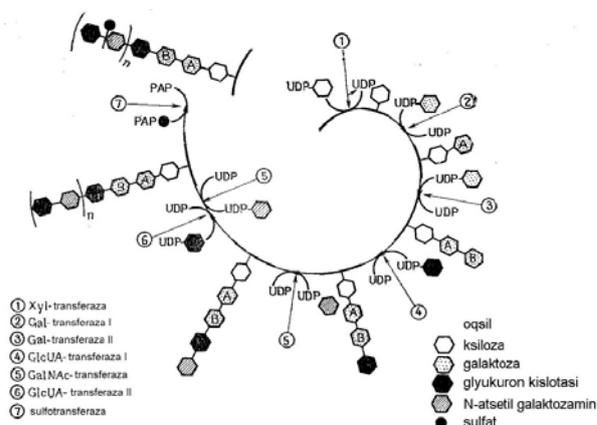
Некоторая часть глюкозаминовых остатков содержит N-ацетильные, а не N-сульфатные группы. Гепарансульфат содержит аналогичную дисахаридную единицу, но имеет больше N-ацетильных групп, меньше N-сульфатных групп и характеризуется меньшей степенью O-сульфатирования. Кроме того, также, как и дерматансульфаты, эти гликозамингликаны содержат некоторое количество L-идуроновой кислоты. Гепарин является важным антикоагулянтом.

Биосинтез протеогликанов

Каждый из уникальных олигосахаридных фрагментов протеогликанов синтезируется в результате последовательного действия ряда гликозилтрансфераз. Эти ферменты катализируют перенос моносахарида с нуклеотид-сахара на соответствующий акцептор, которым может быть или другой сахар, или остаток аминокислоты в полипептиде. Олигосахаридная часть увеличивается ступенчато, каждый раз на один остаток, причём каждый последующий сахар присоединяется к нередуцирующему концу предыдущего(122-рис).

В биосинтезе хондроитинсульфата участвуют шесть различных гликозилтрансфераз и одна сульфотрансфераза. Гликозилирование происходит в аппарате Гольджи секреторных клеток, таких, как хондроциты хряща. После освобождения из рибосом полипептидная цепь протеогликана переходит по каналам эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи, где связанные с мембранами трансферазы начинают последовательный синтез олигосахаридных групп.

Полностью синтезированные молекулы поступают из аппарата Гольджи в область плазматической мембраны клетки и затем секретируются.



122-рис. Биосинтез протеогликанов(узбга перевод)

Выделенные из тканей протеогликаны называются агрегатами протеогликанов. Их основную часть составляют субъединицы протеогликанов. На долю гиалуроновой кислоты и связывающих белков приходится только около 1% общей массы. Стержнем субъединицы протеогликана является полипептидный остов. Полипептидные цепи отходят от гиалуроновой кислоты, образуя структуру, подобной ёршику(Рис. X).

Николаев, 442, рис. 18.12

Протеогликановые субъединицы связывают коллаген за счёт электростатических взаимодействий.

Функции протеогликанов

Наиболее интересное свойство различных протеогликанов состоит в том, что все они представляют собой поливалентные анионы, которые притягивают и прочно связывают катионы. Даже K^+ и Na^+ связываются так прочно, что их ионные свойства не проявляются. Все протеогликаны имеют тенденцию к агрегации; этот процесс ускоряется поливалентными катионами, такими, как, например, Ca^{+2} . Более длинные цепи, особенно цепи гиалуроновой кислоты, свёртываются относительно беспорядочным образом, занимая большое пространство, заполненное в основном молекулами растворителя – воды. В это пространство (домен) имеют доступ небольшие

молекулы или ионы, однако крупные молекулы (например, сывороточный альбумин) не могут проникать в него.

Высокая вязкость растворов гиалуроновой кислоты позволяет предполагать, что она может служить смазочным материалом в суставах и изменение вязкости суставной жидкости при ревматических заболеваниях является следствием изменений, происходящих в структуре протеогликанов. Протеогликаны оказывают также сопротивление перемещению воды под внешним давлением и придают тканям эластичность и устойчивость по отношению к сжатию. Они функционируют как молекулярные сита, ограничивая перемещению крупных катионов и препятствуя проникновению внутрь доменов протеогликана молекул, имеющих размеры альбумина и иммуноглобулина.

Гиалуроновая кислота участвует также в морфогенезе и, по-видимому, регулирует агрегацию мезенхимальных клеток в эмбриогенезе. Состав протеогликанов в клетках животных изменяется весьма закономерно в зависимости от возраста. Так, концентрация кератансульфатов в тканях (которые содержат эти соединения) увеличивается в течение жизни, в то время как содержание хондроитинсульфата в хрящах и межпозвоночных дисках, а также гиалуроновой кислоты в коже с возрастом уменьшается. Введение гормона роста в любом возрасте приводит к тому, что характер синтеза протеогликанов и их состав становится примерно такими же, как у очень молодых животных. Эффект гормона роста опосредуется действием соматомединов, при этом ускоряется пролиферация хрящевых клеток и стимулируется включение сульфата в протеогликаны. Введение тестостерона увеличивает скорость синтеза гиалуроновой кислоты в ряде тканей (клапаны сердца, кожа). В синовиальной жидкости суставов, поражённых ревматизмом или артритом, содержание гиалуроновой кислоты больше, чем в норме; она, однако, в значительной степени деполимеризована; введение ряда адrenокортикостероидов вызывает быструю реполимеризацию гиалуроновой кислоты и в то же время резко угнетает синтез её de novo. Наблюдаемые при

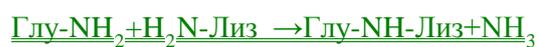
сахарном диабете значительно большая восприимчивость к инфекциям, замедление заживления ран и ускорение дегенерации сосудов могут являться следствием уменьшения способности организма синтезировать мукополисахариды.

Фибронектин

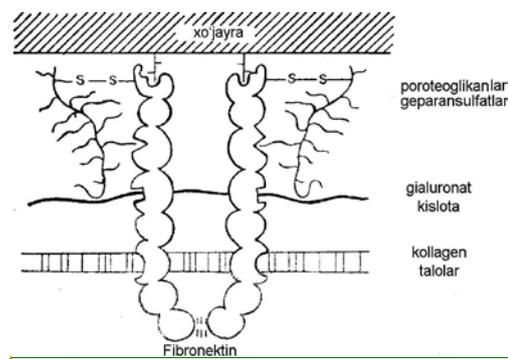
Фибронектин синтезируется многими клетками и выделяется межклеточное пространство. Фибронектин представляет собой димер одинаковых или немного различающихся субъединиц с молекулярной массой около 250 кДа, соединённых антипараллельно двумя дисульфидными связями в области С-концов. Пептидная цепь образует несколько глобулярных доменов. Молекулы имеют вытянутую форму. Молекула фибронектина содержит специфические центры связывания с другими молекулами фибронектина, с коллагеном, сульфированными гликозамингликанами, интегринами (рис. X).

Николаев 438 стр. рис. 18.10

Кроме того, на молекуле фибронектина есть центр связывания трансглутаминазы – фермента, который катализирует реакцию между остатками глутамина одной белковой молекулы и остатками лизина другой белковой молекулы, сшивая их друг с другом:



Присоединяясь к фибронектину, трансглутаминаза сшивает поперечными связями молекулы фибронектина друг с другом, с коллагеном и другими белками. Таким способом структуры, возникающие путём самосборки, фиксируются прочными ковалентными связями.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

123-рис. Взаимодействие молекул межклеточных веществ (перевод на рус)

Изменение соединительной ткани при старении и коллагенозах

Общим возрастным изменением, которое свойственно всем видам соединительной ткани, является уменьшение содержания воды и отношения «основное вещество/волокна». Показатель этого соотношения уменьшается как за счёт нарастания содержания коллагена, так и в результате снижения концентрации гликозамингликанов. В первую очередь значительно снижается содержание гиалуроновой кислоты. Однако не только уменьшается общее количество кислых гликозамингликанов, но изменяется и количественное соотношение отдельных гликанов. Одновременно происходит также изменение физико-химических свойств коллагена (увеличение числа и прочности внутри- и межмолекулярных поперечных связей, снижение эластичности и способности к набуханию, развитие резистентности к коллагеназе и т.д.), повышается структурная стабильность коллагеновых волокон (прогрессирование процесса «созревания» фибриллярных структур соединительной ткани). Следует помнить, что старение коллагена in vivo неравнозначно износу. Оно является своеобразным итогом протекающих в организме метаболических процессов, влияющих на молекулярную структуру коллагена.

Среди многих поражений соединительной ткани особое место занимают коллагенозы. Для них характерно повреждение всех структурных составных частей соединительной ткани: волокон, клеток и межклеточного

основного вещества. К коллагенозам обычно относят ревматизм, ревматоидный артрит, системную красную волчанку, системную склеродермию, дерматомиозит и узелковый периартериит. Каждое из этих заболеваний имеет своеобразное течение и сугубо индивидуальные проявления. Среди многочисленных теорий развития коллагенозов наибольшее признание получила теория инфекционно-аллергического происхождения.

Наконец, необходимо отметить, что нарушение процесса гидроксилирования коллагена – один из биохимических дефектов при цинге. Коллаген, синтезированный в отсутствие или при дефиците аскорбиновой кислоты, оказывается недогидроксилированным и, следовательно, имеет пониженную температуру плавления. Такой коллаген не может образовать нормальные по структуре волокна, что и приводит к поражению кожи и ломкости сосудов, столь чётко выраженных при цинге.

Глава 15

БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Нервная система, являясь морфофункциональной совокупностью отдельных нейронов и других структур нервной ткани, объединяет деятельность всех органов и систем организма в его постоянном взаимодействии с внешней средой. Она воспринимает внешние и внутренние раздражители, анализирует и перерабатывает поступающую информацию, хранит следы прошлой активности (механизмы памяти) и соответственно регулирует и координирует функции организма.

На основании вышесказанного можно заключить, что нервная система выполняет **коммуникативную, интегрирующую и адаптивную функцию** всего организма.

Коммуникативная функция заключается в обеспечении структурно-функциональную взаимосвязь в организме, интегрирующая - регуляторную взаимосвязь между органами и тканями, а адаптивная - адекватную реакцию организма на внешние стимулы.

Нервная ткань имеет общие черты, присущие любым клеткам, а также специфические особенности. Особенности проявляются в химическом составе и в характере метаболизма нервной ткани.

Нервная ткань состоит из трех клеточных элементов: нейронов (собственно нервные клетки); нейроглии – клетки, окружающие нервные клетки в головном и спинном мозге; мезенхимных элементов, включающих микроглию – глиальные макрофаги (клетки Ортеги).

Основная масса головного мозга представлена нервными клетками и нейроглией. Серое вещество в большей степени состоит из нейронов (60–65% вещества головного мозга), а белое вещество ЦНС и периферические нервы – главным образом из элементов нейроглии и их производного – миелина.

СТРУКТУРА НЕЙРОНА

Головной мозг человека имеет порядка 10^{11} нейронов. Нейрон имеет тело, дендриты (многочисленные ветвящиеся короткие отростки) и аксон (один длинный отросток) (рис. 19.1). Дендриты и аксоны связывают каждый нейрон с другими нейронами, а аксоны также связывает нейроны с другими эффекторными клетками. Число нейрональных контактов, т.е. синапсов в мозге достигает порядка 10^{13} - 10^{14} . Через дендриты и аксоны проходит нервный импульс.

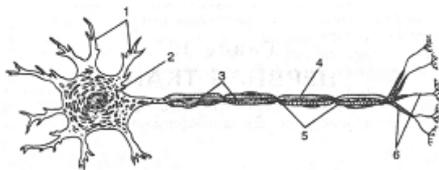


Рис. 19.1. Строение нейрона (схема по Шмитту).

1 - дендриты; 2 - тело нейрона; 3 - аксон; 4 - миелиновая оболочка; 5 - перехваты узла; 6 - окончания.

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Ультраструктура нейрона схематически приведена на рис. 19.2. Тело нейрона окружено плазматической мембраной – плазмалеммой. Основной ультраструктурой цитоплазмы нейрона является эндоплазматическая сеть, представляющая собой систему ограниченных мембраной пузырьков, трубочек и уплощенных мешочков, или цистерн. Рибосомы представлены в виде гранул, локализованные на мембранах эндоплазматической сети, а также свободно расположенные в цитоплазме. В подрисуночном тексте они отмечены как полисомы.

Для нервной клетки характерной структурной является базофильное вещество, т.н. субстанция Ниссля, состоящая из РНК и белков. В цитоплазме нейрона выявляется сеть тонких нитей – нейрофибрилл, которые в совокупности образуют густую сеть. Нейрофибриллы – это структурное выражение правильной линейной ориентации белковых молекул.

Пластинчатый комплекс (аппарат Гольджи) является важным компонентом цитоплазмы нейрона: там сосредоточены липидные компоненты клетки. Митохондрии нейронов содержат меньше ферментов, участвующих в процессах окисления жирных кислот и аминокислот, чем митохондрии других клеток.

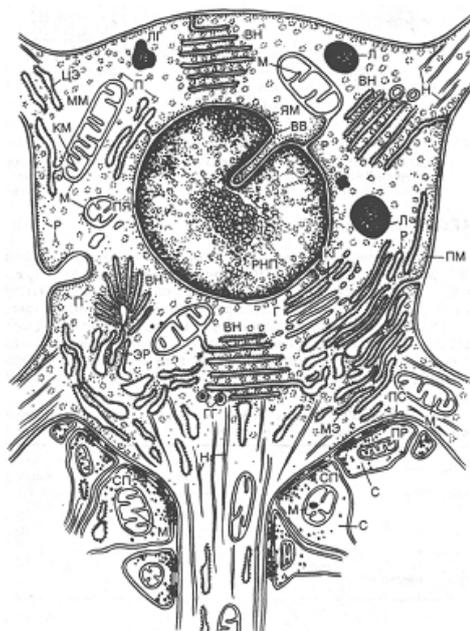


Рис. 19.2. Схематическое изображение ультраструктурного строения нервной клетки по данным электронной микроскопии (по А.А. Маниной).

ВВ - впячивание ядерных мембран; ВН - вещество Ниссля; Г - пластинчатый комплекс (аппарат Гольджи); ГГ - гранулы гликогена; КГ - каналы пластинчатого комплекса; КМ – кристы митохондрий; Л - лизосомы; ЛГ - липидные гранулы; М - митохондрии; ММ - мембрана митохондрий; МЭ - мембраны эндоплазматической сети; Н - нейтрофибриллы; П - полисомы; ПМ - плазматическая мембрана; ПР - пресинаптическая мембрана; ПС – постсинаптическая мембрана; ПЯ - поры ядерной мембраны; Р - рибосомы; РНП - рибонуклеопротеиновые гранулы; С - синапс; СП - синаптические пузырьки; ЦЭ - цистерны эндоплазматической сети; ЭР - эндоплазматический ретикулум; Я - ядро; ЯМ - ядерная мембрана.

Размер ядра нейрона колеблется от 3 до 18 мкм, достигая в крупных нейронах 1/4 величины их тела.

Строение нервного волокна

Нервные волокна дендритов и аксонов представляют собой трубочку, являющаяся продолжением плазматической мембраны тела нейрона. Полость волокна содержит цитоплазму (аксоплазму), а основными ее органеллами являются микротрубочки, образованными белком тубулином. В аксоплазме также содержится нейрофиламенты (диаметр 10 нм) и микрофиламенты (диаметр 5 нм), образованные из актина. Роль этих структур заключается в создании аксоплазматического тока, т.е. движение аксоплазмы из тела нейрона к синапсам. Именно этим током в синаптические окончания перемещаются различные метаболиты, белки и даже субклеточные структуры – митохондрии, эндоплазматический ретикулум, лизосомы. Обратный ток, т.е. от синапсов к телу нейрона менее интенсивнее. Нервные волокна окружены миелиновой оболочкой. В периферических нервных стволах миелиновая оболочка представлена леммоцитами, а в мозге клетки глии (олигодендроглиальные клетки).

По сути миелин – это система, образованная многократно наслаивающимися мембранами клеток нейроглии вокруг нервных отростков.

Миелиновое вещество представляет собой сложный белково-липидный комплекс. При этом на долю липидов приходится до 80% плотного осадка; 90% всех липидов миелина представлено холестерином, фосфолипидами и цереброзидами. На рис 19.3 схематически представлено молекулярное строение миелиновой оболочки.

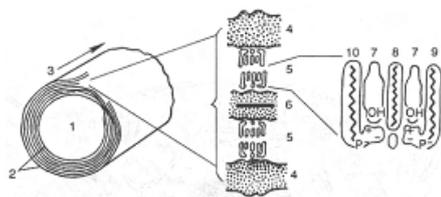


Рис. 19.3. Молекулярная организация миелиновой оболочки (по Х. Хидену).

1 - аксон; 2 - миелин; 3 - ось волокна; 4 - белок (наружные слои); 5 - липиды; 6 - белок (внутренний слой); 7 - холестерин; 8 - цереброзид; 9 - сфингомиелин; 10 - фосфатидилсерин.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОЗГА

Серое вещество головного мозга представлено телами нейронов, а белое – аксонами. В этой связи оба отдела мозга существенно различаются по химическому составу. Различия носят прежде всего количественный характер. Содержание воды в сером веществе головного мозга заметно больше, чем в белом (табл. 19.1).

Основными веществами мозговой ткани являются белки и липиды. В сером веществе белки составляют половину плотных веществ, а в белом веществе – одну треть. Однако в пересчете на сырую массу мозга количество белков примерно одинаково, что обусловлено именно различием в количестве воды в этих отделах. На долю липидов в белом веществе приходится более половины сухого остатка, в сером веществе – лишь около 30%.

Таблица 19.1. Химический состав серого и белого вещества головного мозга человека (в процентах от массы сырой ткани)

Таблица 19.1. Химический состав серого и белого вещества головного мозга человека (в процентах от массы сырой ткани)

Составные части	Серое вещество	Белое вещество
Вода	84	70
Сухой остаток	16	30
Белки	8	9
Липиды	5	17
Минеральные вещества	1	2

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Белки. Белки составляют примерно 40% от сухой массы головного мозга. А.Я. Данилевский впервые разделил белки мозговой ткани на две фракции: 1) растворимые в воде и солевых растворах и 2) нерастворимые белки. А.В. Палладин с сотрудниками разделили белки нервной ткани на 4 фракции: 1) извлекаемые водой, 2) 4,5% раствором KCl, 3) 0,1% раствором NaOH и 4) нерастворимый остаток. Серое вещество богаче растворимыми в воде белками, чем белое вещество (30 и 19% соответственно). Белое вещество, наоборот, содержит гораздо больше (22%) нерастворимого белкового остатка, чем серое вещество (5%). В настоящее время, сочетания различных современных методов выделения белков позволило разделению из ткани мозга около 100 различных растворимых белковых фракций.

В нервной ткани содержатся простые и сложные белки.

К простым белкам мозга относятся нейроальбумины, нейроглобулины, катионные белки (гистоны и др.) и опорные белки – нейросклеропротеины.

Количество нейроглобулинов в головном мозге в среднем 5% по отношению ко всем растворимым белкам. Нейроальбумины являются основным белковым компонентом фосфопротеинов нервной ткани, на их долю приходится основная масса растворимых белков (89–90%). Они в свободном состоянии встречаются редко; они, в основном, соединены с липидами, нуклеиновыми кислотами, углеводами и другими небелковыми компонентами.

Главнейшими представителями катионных белков нервной ткани являются гистоны, которые делятся на пять фракций в зависимости от содержания в них лизина, аргинина и глицина.

Нейросклеропротеины являются структурно-опорными белками. Основными их представителями являются – нейроколлагены, нейроэластины, нейростромины и др. Они локализованы в основном в белом веществе головного мозга и в периферической нервной системе и составляют примерно 8–10% от общего количества простых белков.

Сложные белки нервной ткани – это нуклеопротеины, липопротеины, протеолипиды, фосфопротеины и гликопротеины.

Нуклеопротеины принадлежат либо к дезоксирибонуклеопротеинам, либо к рибонуклеопротеинам. Часть этих белков из мозговой ткани извлекается водой, другая часть – соевыми средами, а третья – 0,1 М раствором щелочи.

Липопротеины составляют значительную часть водорастворимых белков мозговой ткани. Их липидный компонент – фосфоглицериды и холестерин.

Протеолипиды – белково-липидные соединения, они экстрагируются из ткани мозга органическими растворителями. В отличие от липопротеинов тем, что они нерастворимы в воде, но растворимы в смеси хлороформ–метанол. Белки, освобожденные от липидов, растворимы в воде, а также (благодаря высокому содержанию гидрофобных аминокислот) в смеси хлороформ–метанол. Наибольшее количество протеолипидов сосредоточено в миелине, в небольших количествах они входят в состав синаптических мембран и синаптических пузырьков.

Фосфопротеины в головном мозге содержатся в большем количестве, чем в других органах и тканях (около 2% от общего количества всех

сложных белков). Они обнаружены в мембранах различных морфологических структур нервной ткани.

Гликопротеины представляют собой чрезвычайно гетерогенную группу белков. По количеству белка и углеводов, их можно разделить на 2 группы:

- гликопротеины, содержащие от 5 до 40% углеводов и их производных; белковая часть состоит преимущественно из альбуминов и глобулинов;
- гликопротеины, содержащие от 40 до 85% углеводов, часто обнаруживается липидный компонент; по своему составу они могут быть отнесены к гликолипопротеинам.

В мозговой ткани также содержатся более сложные надмолекулярные образования: липонуклеопротеины, липогликопротеины и, возможно, липогликонуклеопротеиновые комплексы.

В нервной ткани обнаружены также ряд специфических белков, к примеру, белок S-100 и белок 14-3-2.

Белок S-100 (белок Мура, кислый белком) содержит большое количество остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот. Он сосредоточен в основном в нейроглии (85-90%), а в нейронах его не более 10-15% от общего количества белка. Интересно то, что его возрастает при обучении (т.е. тренировках) животных. Однако вопрос о его роли в формировании и хранении памяти остается открытым. Вероятно, он участвует в этих процессах опосредованно.

Белок 14-3-2 также является кислым белком. Он локализован в основном в нейронах; в нейроглиальных клетках его содержание невелико. Пока неясна роль белка 14-3-2 в выполнении специфических функций нервной ткани.

Ферменты. В мозговой ткани содержатся ферменты, катализирующие обмен углеводов, липидов и белков. В кристаллическом виде из ЦНС млекопитающих выделены лишь некоторые ферменты (ацетилхолинэстераза, креатинкиназа). Большое количество ферментов мозговой ткани находятся в нескольких молекулярных формах (изоферменты): ЛДГ, альдолаза, креатинкиназа, гексокиназа, малатдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа, холинэстераза, кислая фосфатаза, моноаминоксидаза и др.

Липиды. Липидный состав нервной ткани приведен в табл. Вообще, общее количество липидов в нервной ткани значительное. Липиды головного мозга представлены фосфоглицеридами, холестерином, сфингомиелинами, цереброзидами, ганглиозидами и в небольшом количестве нейтральным жиром. Обычно многие липиды нервной ткани образуют сложные системы типа протеолипидов.

В сером веществе головного мозга преобладают фосфоглицериды (более 60% от всех липидов), а в белом веществе их около 40%. В белом веществе преобладают холестерин, сфингомиелины и цереброзиды.

Таблица 19.2. Липидный состав нервной ткани

Таблица 19.2. Липидный состав нервной ткани			
	Серое вещество	Белое вещество	Миелин
Общее содержание липидов, % от сухой массы	32,7	54,9	70
В процентах от общих липидов			
Холестерин	22,0	27,5	27,7
Цереброзиды	5,4	19,8	22,7
Ганглиозиды	1,7	5,4	3,8
Фосфатидилэтаноламины	22,7	14,9	15,6
Фосфатидилхолины	26,7	12,8	11,2
Фосфатидилсерины	8,7	7,9	4,8
Фосфатидилинозитолы	2,7	0,9	0,6
Плазмалогены	8,8	11,2	12,3
Сфингомиелины	6,9	7,7	7,9

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Углеводы. Хотя в мозговой ткани имеются гликоген и глюкоза, но по сравнению с другими тканями она бедна углеводами. Содержание глюкозы в головном мозге разных животных составляет 1-4 мкмоль/г ткани, а гликогена – 2,5-4,5 мкмоль/г ткани. Интересно, что содержание гликогена в мозге

эмбрионов и новорожденных животных значительно выше, чем в мозге взрослых. Например, у новорожденных мышей уровень гликогена в 3 раза выше, чем у взрослых особей. По мере роста и дифференцировки мозга концентрация гликогена быстро снижается и остается относительно постоянной у взрослого животного.

В мозговой ткани имеются также промежуточные продукты обмена углеводов: гексозо- и триозофосфаты, молочная, пировиноградная и другие кислоты (табл. 19.3).

Таблица 19.3. Средние данные о содержании некоторых метаболитов обмена углеводов в головном мозге крыс

Таблица 19.3. Средние данные о содержании некоторых метаболитов обмена углеводов в головном мозге крыс

Метаболит	Содержание, мкмоль на 1 г сырой массы ткани	Метаболит	Содержание, мкмоль на 1 г сырой массы ткани
Глюкозо-6-фосфат	0,039-0,049	3-Фосфоглицерат	0,085-0,100
Фруктозо-6-фосфат	0,017-0,023	2-Фосфоглицерат	0,010-0,016
Фруктозо-1,6-бисфосфат	0,010-0,017	Фосфоенолпируват	0,035-0,097
Диоксиацетонфосфат	0,024	Пируват	0,120-0,190
Глицеральдегид-3-фосфат	0,021-0,046	Лактат	1,26-1,70

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Адениловые нуклеотиды и креатинфосфат. В мозговой ткани на долю адениннуклеотидов приходится около 84% от всех свободных нуклеотидов. Их распределение приведено в табл. Большую часть оставшихся нуклеотидов составляют производные гуанина. В целом количество высокоэнергетических соединений в нервной ткани невелико.

Табл.

Содержание нуклеотидов и креатинфосфата в головном мозге крыс

<u>Высокоэнергетические вещества</u>	<u>мкмоль на 1 г сырой массы</u>
<u>АТФ</u>	<u>2,30 – 2,90</u>

<u>АДФ</u>	<u>0,30 – 0,50</u>
<u>АМФ</u>	<u>0,03 – 0,05</u>
<u>ГТФ</u>	<u>0,20 – 0,30</u>
<u>ГДФ</u>	<u>0,15 – 0,20</u>
<u>УТФ</u>	<u>0,17 – 0,25</u>
<u>креатинфосфат</u>	<u>3,50 – 4,75</u>

Содержание циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) в головном мозге значительно выше, чем во многих других тканях. Уровень цАМФ в мозге в среднем 1-2, а цГМФ – до 0,2 нмоль/г ткани. Для мозга характерна также высокая активность ферментов метаболизма циклических нуклеотидов.

Минеральные вещества. Ионы Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} и Mn^{2+} распределены в головном мозге относительно равномерно в сером и белом веществе. Содержание фосфатов в белом веществе выше, чем в сером. Содержание ионов в головном мозге в сравнении с плазмой крови приведено на табл. 19.4.

Таблица 19.4. Содержание основных минеральных компонентов в ткани головного мозга и в плазме крови человека

Таблица 19.4. Содержание основных минеральных компонентов в ткани головного мозга и в плазме крови человека

Компонент	Мозговая ткань, ммоль/кг	Плазма крови, ммоль/л
Na^+	57	141
K^+	96	5
Ca^{++}	1	2,5
Cl^-	37	101
HCO_3^-	12	28

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Из данных таблицы 19.4 видно, что концентрация ионов Na^+ , K^+ , а также Cl^- в мозге резко отличается от концентрации их в плазме крови. Более того, видно, что количество катионов значительно превышает количество

анионов. Это приводит к дефициту анионов. Считают, что данный дефицит анионов покрывается за счет липидов.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА НЕРВНОЙ ТКАНИ

Дыхание. Головной мозг составляет 2-3% от массы тела, однако потребление кислорода им в состоянии покоя достигает 20–25% от общего потребления его всем организмом. Мозг детей до 4 лет потребляет даже 50% кислорода, утилизируемого всем организмом. Вообще, газообмен мозга значительно выше, чем газообмен других тканей, в частности он превышает газообмен мышечной ткани почти в 20 раз. Однако интенсивность дыхания различных областей головного мозга неодинакова: интенсивность дыхания белого вещества в 2 раза ниже, чем серого. Особенно интенсивно расходуют кислород клетки коры мозга и мозжечка. Поглощение кислорода головным мозгом значительно меньше при наркозе. При увеличении функциональной активности интенсивность дыхания мозга возрастает.

Метаболизм углеводов. Для мозга основным субстратом дыхания является глюкоза. В 1 мин 100 г ткани мозга потребляют в среднем 5 мг глюкозы. Практически вся глюкоза подвергается аэробному окислению до CO_2 и H_2O . В мозге также имеется пентозофосфатный путь окисления глюкозы. В головном мозге человека в целом содержится около 750 мг глюкозы. В то же время за 1 мин мозг окисляет 75 мг глюкозы. Следовательно, имеющееся количество глюкозы в мозге хватает всего 10 мин. Поэтому, глюкоза легко диффундирует из крови в ткань головного мозга. Хотя в мозге имеется гликоген, он не имеет существенной роли в энергетическом отношении, так как его содержание невелико. Наряду с аэробным метаболизмом углеводов мозговая ткань способна к довольно интенсивному анаэробному гликолизу. При голодании и длительной мышечной работе мозг использует кетоновые тела, окисление которых может

обеспечивать в этих условиях до половины его потребности в энергии. Мозг не выделяет в кровь молочную кислоту, хотя в его ткани имеется фермент лактатдегидрогеназа. Более того, при мышечной работе он поглощает молочную кислоту из крови. Вероятно, лактатдегидрогеназа и система «лактат-пируват» нужны в качестве буфера, регулирующего концентрацию пирувата.

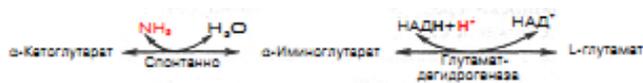
Основным потребителем энергии в мозге является Na,K-АТФаза, поддерживающая потенциал покоя и восстанавливающая его после прохождения нервного импульса. Преимущественное потребление глюкозы и делает мозг в высокой степени чувствительным к гипогликемии, а аэробный характер катаболизма глюкозы делает его чувствительным к гипоксии.

Метаболизм макроэргических фосфатов. Интенсивность обновления макроэргических фосфатов в мозге велика. В случае прекращения доступа кислорода мозг может «просуществовать» немногим более минуты за счет резерва лабильных фосфатов. Прекращение доступа кислорода даже на 10-15 с нарушает энергетiku нервных клеток, что приводит к обморочному состоянию. При инсулиновой коме нарушаются процессы окислительного фосфорилирования, что снижает концентрацию АТФ и происходит изменение функций мозга. Возбуждение и наркоз также быстро сказываются на обмене лабильных фосфатов. При наркозе наблюдается угнетение дыхания, что приводит к увеличению содержания АТФ и креатинфосфата. При раздражении интенсивность дыхания усиливается в 2-4 раза, что приводит к снижению уровня АТФ и креатинфосфата.

Метаболизм аминокислот и белков. Концентрация аминокислот в мозге человека в 8 раз больше, чем в крови. Аминокислотный состав мозга обладает определенной специфичностью. Так, концентрация свободной глутаминовой кислоты в мозге выше, чем в любом другом органе млекопитающих (10 мкмоль/г). На долю глутаминовой кислоты вместе с ее

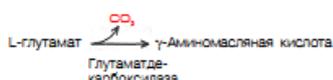
амидом – глутамином и трипептидом глутатионом приходится более 50% α -аминоазота головного мозга. В мозге содержится также такие аминокислоты, как γ -аминомасляная кислота, N-ацетиласпарагиновая кислота и цистатионин, которые обнаруживаются в других тканях млекопитающих незначительных количествах. Обмен аминокислот в мозговой ткани протекает в разных направлениях. Прежде всего свободные аминокислоты используются для синтеза белков и биогенных аминов. Одна из функций дикарбоновых аминокислот в головном мозге – связывание аммиака, освобождающегося при возбуждении нервных клеток. Поступления аминокислот в мозговую ткань и выход из нее, а также использование глюкозы крови для синтеза аминокислот нейронов и глии в разных отделах мозга различны. Это обусловлено наличием гематоэнцефалического барьера. Белки в головном мозге находятся в состоянии активного обновления, однако в разных его отделах скорость синтеза и распада белков неодинакова. Белки серого вещества полушарий и мозжечка обновляются особенно большой скоростью. В участках головного мозга, богатых проводниковыми структурами – аксонами (белое вещество головного мозга), скорость синтеза и распада белковых молекул меньше. При различных функциональных состояниях ЦНС наступают изменения в интенсивности обновления белков. Так, при действии на организм возбуждающих агентов (фармакологические средства и электрический ток) в головном мозге усиливается интенсивность обмена белков. Под влиянием наркоза скорость распада и синтеза белков снижается. Возбуждение нервной системы сопровождается повышением содержания аммиака в нервной ткани. Это явление наблюдается как при раздражении периферических нервов, так и при раздражении мозга. Образование аммиака при возбуждении в первую очередь происходит за счет дезаминирования АМФ. В мозговой ткани аммиак нейтрализуется за счет образования глутамина – амида глутаминовой кислоты. Реакцию амидирования катализирует глутаминсинтетаза. Источником глутаминовой кислоты в мозговой ткани является α -кетоглутаровая кислота: она

аминируется с образованием α -иминоглутарата, который восстанавливается до глутамата с помощью НАДН.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Глутаминовая кислота в нервной ткани также может декарбоксилироваться с образованием ГАМК:



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

ГАМК в наибольшем количестве содержится в сером веществе головного мозга. В спинном мозге и периферических нервах ее значительно меньше.

Метаболизм липидов. Липиды составляют около половины сухой массы головного мозга. В нервных клетках серого вещества особенно много фосфолипидов, а в миелиновых оболочках нервных стволов — сфингомиелина. Из фосфолипидов серого вещества наиболее интенсивно обновляются фосфатидилхолин и, особенно, фосфатидилинозитол. Обмен липидов миелиновых оболочек протекает с небольшой скоростью. Холестерин, цереброзиды и сфингомиелины обновляются очень медленно. В головном мозге человека содержится много холестерина (около 25 г). У новорожденных в головном мозге содержание холестерина всего 2 г. Однако его количество резко возрастает в первый год жизни (примерно в 3 раза) и биосинтез холестерина происходит в самой мозговой ткани. У взрослых синтез холестерина в головном мозге резко снижается. Основная часть холестерина в зрелом мозге находится в неэтерифицированном состоянии, эфиры холестерина обнаруживаются в относительно высокой концентрации в участках активной миелинизации. Пути биосинтеза фосфолипидов в мозге сходны с теми, которые осуществляются в других тканях. Жирные

кислоты образуются в основном из глюкозы, однако частично синтез их происходит из ацетоацетата, цитрата и ацетиласпартата.

ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ПРОВЕДЕНИЯ НЕРВНЫХ ИМПУЛЬСОВ

Сигналы, передаваемые нервными клетками, по природе являются изменением электрического потенциала плазматической мембраны нейронов, которое и называют иначе нервным импульсом. Нервный импульс создается благодаря натриевому насосу (Na,K-АТФаза) и двух типов каналов – натриевые и калиевые. Хотя функционально все три устройства связаны друг с другом, все они представляет собой самостоятельную структурную единицу, построенную из специальных белков. Натриевый насос перекачивает ионы Na^+ наружу, а – K^+ внутрь, создавая трансмембранный градиент концентраций этих ионов за счет энергии АТФ. Натриевые и калиевые каналы могут открываться и закрываться; через них Na^+ и K^+ двигаются по градиенту концентрации этих ионов.

Потенциал покоя. При покое натриевые и калиевые каналы закрыты, а натриевый насос работает непрерывно, создавая разность концентраций ионов Na^+ и K^+ по сторонам мембраны. Эта разность влияет также на распределение других ионов (табл. 23.2), в результате чего устанавливается динамическое равновесие, при котором электро-химический трансмембранный градиент окажется равно нулю. Однако распределение зарядов окажется неравномерным: внутри аксона образуется избыток отрицательных зарядов, снаружи – избыток положительных, т. е. возникает трансмембранная разность электрических потенциалов – потенциал покоя. В состоянии покоя она равна 60-70 мВ, отрицательный заряд внутри аксона. Потенциал покоя одинаков на всем протяжении волокна. Он не является

специфической особенностью нервных клеток. Натриевый насос имеется в плазматической мембране всех клеток и во всех случаях его действия приводит к возникновению потенциала покоя.

Потенциал действия. При раздражении нерва в мембране аксона открываются натриевые и калиевые каналы. Вероятно, это происходит в результате изменения конформации и ионизации белков, из которых построены каналы. Натриевые каналы открываются раньше, чем калиевые, и их пропускная способность больше. В результате ионы Na^+ попадают внутрь аксона, что приводит к изменению величину трансмембранного электрического потенциала: сначала он становится равным нулю, т.е. произойдет деполяризация мембраны, затем вновь происходит поляризация, однако теперь внутри аксона окажутся больше положительных зарядов, чем снаружи, т.е. произойдет инверсия полярности. В этом состоянии разность потенциалов достигает 40 мВ, положительный заряд – внутри аксона. Следовательно, общая амплитуда изменения от потенциала покоя (-60...-70 мВ) до максимального значения потенциала при раздражении нерва (+40 мВ) составляет примерно 100 мВ (рис. 23.2). Затем натриевые каналы закрываются, а калиевые открываются, начинается выход ионов K^+ из клетки, и потенциал изменяется от +40 до -70 мВ, т. е. до уровня потенциала покоя. Эту последовательность событий называют потенциалом действия; она продолжается менее 1 мс. Значение потенциала покоя одинаково на всем протяжении аксона, а потенциал действия охватывает лишь очень небольшой участок аксона (в миелинизированных волокнах – от одного перехвата Ранвье до соседнего). Потенциал действия возникает, когда какая-либо причина уменьшает потенциал покоя примерно до 50 мВ (пороговая величина). Продолжительность потенциала действия определяется временем, в течение которого каналы открыты. Во время закрывания каналов они не чувствительны к поляризации, и раздражение в этот период не вызывает потенциала действия (рефрактерный период, продолжающийся около 1 мс).

Движение потенциала действия по аксону. Потенциал действия, возникнув в одном участке аксона, вследствие диффузии ионов из этого участка вдоль волокна снижает потенциал покоя в соседнем участке и вызывает здесь тоже развитие потенциала действия. Этот механизм позволит потенциалу действия, возникнув в одном месте, пройти весь аксон и достигать воспринимающей клетки. В таком качестве потенциал действия называют нервным импульсом.

В миелинизированном нервном волокне натриевые и калиевые ионные каналы расположены в немиелинизированных участках перехватов Ранвье. В таких участках мембрана аксона контактирует с межклеточной жидкостью. Поэтому нервный импульс перемещается «скачками»: ионы Na^+ , при открытии каналов в одном перехвате, диффундируют вдоль аксона до следующего перехвата, снижают здесь потенциал до 50 мВ и индуцируют потенциал действия. Диффузия происходит быстро, так как между перехватом Ранвье, находящимся в максимуме потенциала действия, и соседним покоящимся перехватом возникает разность потенциалов, близкая к 100 мВ. Благодаря такому устройству скорость проведения импульса в миелинизированном волокне равняется от 30 до 50 м/с. Это в 5-6 раз больше, чем в немиелинизированных волокнах: у них потенциал действия перемещается плавно. Пороговая величина поляризации, вызывающая нервный импульс, зависит от концентрации ионов Ca^{2+} . Внутриклеточная концентрация Ca^{2+} равна примерно 0,3 мкмоль/л; при гипокальциемии она уменьшается, вследствие чего снижается пороговая величина возбуждения нервов и могут возникать судороги.

Миелиновые мембраны, образуемые шванновскими клетками, служат электрическим изолятором. Этот изоляционный слой покрывает большинство нервных волокон и сильно ускоряет распространение электрической волны (сигнала); при этом ионы входят в клетку и выходят из нее только в тех местах, где изолятор отсутствует. Некоторые заболевания,

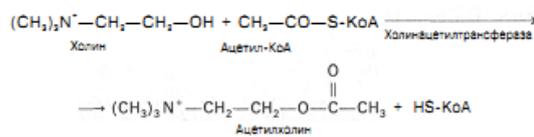
например, рассеянный склероз, характеризуются демиелинизацией, что и приводит к нарушению проведения нервного импульса.

РОЛЬ МЕДИАТОРОВ В ПЕРЕДАЧЕ НЕРВНЫХ ИМПУЛЬСОВ

В синапсе аксон прерывается, и передача импульса на другую клетку происходит путем диффузии определенного вещества – медиатора. В синапсах одного нейрона используется в качестве медиатора какое-либо одно вещество – ацетилхолин (холинергические нейроны, или синапсы), норадреналин (адренергические нейроны) и т. д.

Химическое вещество можно отнести к числу медиаторов лишь в том случае, если оно удовлетворяет ряду критериев. Так, в нервных волокнах должны содержаться ферменты, необходимые для синтеза этого вещества. При раздражении нервов это вещество должно выделяться, реагировать со специфическим рецептором на постсинаптической клетке и вызывать биологическую реакцию. Должны существовать механизмы, быстро прекращающие действие этого вещества. Всем этим критериям удовлетворяют два вещества – ацетилхолин и норадреналин. Содержащие их нервы называют соответственно холинергическими и адренергическими. В соответствии с этим все эфферентные системы делят на холинорецепторы и адренорецепторы. Ряд других химических веществ удовлетворяют многим, но не всем перечисленным критериям. К таким медиаторам относят дофамин, адреналин, серотонин, октопамин, гистамин, ГАМК и др.

Холинергические синапсы. Ацетилхолин – это сложный эфир уксусной кислоты и холина. Он синтезируется в нервной клетке из холина и ацетилкоэнзима А при помощи фермента холинацетилтрансферазы:



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Синапс – это узкое пространство (щель), ограниченное с одной стороны пресинаптической, а с другой – постсинаптической мембраной (рис. 19.4). Пресинаптическая мембрана имеет внутренний слой, принадлежащий цитоплазме нервного окончания, и наружный слой, образованный нейроглией. Мембрана местами утолщена и уплотнена, есть места, где имеются отверстия для сообщения цитоплазмы аксона с синаптическим пространством. Постсинаптическая мембрана менее плотная и не имеет отверстий.

Процесс участия ацетилхолина в передаче нервного импульса можно представить следующим образом. В синаптических нервных окончаниях имеются везикулы диаметром 30-80 нм, которые содержат нейромедиаторы. Оболочка пузырьков образована белком клатрином (мол. масса 180000). В холинергических синапсах каждый пузырек диаметром 80 нм содержит ~40000 молекул ацетилхолина. При возбуждении медиатор высвобождается «квантами», т.е. путем полного опорожнения каждого отдельного пузырька. В нормальных условиях выделяется примерно 100-200 квантов медиатора. Механизм высвобождения медиатора, вероятно, заключается в следующем. Деполаризация мембраны синаптических окончаний вызывает быстрый ток ионов Ca^{2+} в клетку. Повышенное содержание ионов Ca^{2+} стимулирует слияние мембраны синаптических пузырьков с плазматической мембраной и запускается процесс высвобождения их содержимого.

Выделенный в синаптическую щель ацетилхолин вступает во взаимодействие с рецептором, входящим в состав постсинаптической мембраны. В результате изменяется проницаемость мембраны, что выражается в резком увеличении пропускной способности для Na^+ .

Никотиновые синапсы присутствуют в ганглиях и скелетных мышцах. Их ингибиторами являются кураре и активный компонент этого яда D-тубокурарин.

При тяжелой аутоиммунной болезни – миастении (myasthenia gravis) наблюдается уменьшение числа функционирующих постсинаптических рецепторов. В результате возникает тяжелейшая мышечная слабость, нередко с летальным исходом. При лечении миастении наряду с другими препаратами применяются также антихолинэстеразные препараты (прозерин, калимин, нейромидин). Эти соединения ингибируя ацетилхолинэстеразу, способствуют накоплению ацетилхолина и в конечном итоге мышечному сокращению.

Помимо антагонистов, оказывающих прямое воздействие на рецепторы, существуют ингибиторы, влияющие на другие этапы передачи импульсов. Например, ботулинический токсин тормозит высвобождение ацетилхолина из синаптических пузырьков. Тетродотоксин из рыбы фугу и сакситоксин блокирует натриевые каналы в постсинаптической мембране, а тем самым и нервную передачу. Батрахотоксин увеличивает проницаемость мембран мышечных клеток для Na^{\pm} . Столбнячный токсин блокирует передачу импульсов в центральной нервной системе и в нервно-мышечных соединениях, вероятно, путем нарушения транспорта кальция.

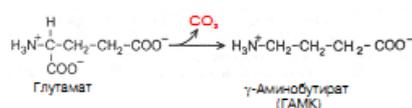
Адренергические синапсы. Существует α - и β -адренорецепторы. β -Адренорецепторы включают эфферентную клетку с помощью циклического аденозин-3',5'-монофосфата (цАМФ) – универсального «второго посредника» между гормонами и различными функциями клеток. Установлено, что при взаимодействии норадреналина с β -адренорецептором, расположенный на наружной поверхности мембраны эффекторной клетки, на внутренней поверхности клеточной мембраны активируется фермент аденилатциклаза. Активированная аденилатциклаза превращает АТФ в цАМФ; последний способен оказывать влияние на метаболизм клетки. Этот сложный ряд

каскадных реакций может быть заблокирован пропранололом – веществом, препятствующим связыванию норадреналина с β -адренергическим рецептором.

В метаболизме катехоламиновых медиаторов особая роль принадлежит моноаминоксидазе (МАО). Этот фермент удаляет аминогруппу ($-\text{NH}_2$) у норадреналина, серотонина, дофамина и адреналина, тем самым инактивирует их. В последние годы показано существование механизма быстрого удаления медиатора. Так, норадреналин может быстро исчезать из синаптической щели в результате вторичного поглощения симпатическими нервами.

Адренергическая и холинергическая системы головного мозга тесно взаимодействуют с другими системами мозга, в частности использующими серотонин в качестве медиатора. Серотонинсодержащие нейроны, в основном, сосредоточены в ядрах мозгового ствола. Нейромедиаторная роль серотонина осуществляется в результате взаимодействия серотонина со специфическими серотонинергическими рецепторами. Исследования, проведенные с ингибитором синтеза серотонина п-хлорфенилаланином, а также с другими ингибиторами, показали, что серотонин влияет на процессы сна.

Важным нейромедиатором, выполняющим тормозные функции, является γ -аминомасляная кислота (ГАМК), количество которой в головном мозге во много раз больше, чем других нейромедиаторов. Так, в гипоталамусе суммарное содержание ацетилхолина, норадреналина, дофамина и серотонина не превышает 10 мкг/г, в то время как содержание ГАМК в этом отделе более 600 мкг/г. ГАМК увеличивает проницаемость постсинаптических мембран для ионов K^{\pm} и тем самым отдаляет мембранный потенциал от порогового уровня, при котором возникает потенциал действия; ГАМК образуется при декарбоксилировании глутамата глутаматдекарбоксилазой:



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

В терапевтической практике применяется большое количество лекарственных средств, которые действуют через систему медиаторов. Многие лекарственные препараты, успешно применяемые при лечении гипертонии, влияют на накопление и выделение адренергических медиаторов. Например, резерпин специфически тормозит процесс переноса катехоламинов в специальные гранулы нейронов и, тем самым, делает эти амины доступными действию эндогенной MAO. В результате содержание норадреналина снижается, с чем и связан гипотензивный эффект резерпина. Другой гипотензивный препарат – α-метилдофа, под действием ферментов нервной клетки (аксона) превращается в вещество, напоминающее по своему строению норадреналин. Эти «ложные» медиаторы накапливаются и выделяются вместе с естественными медиаторами, «разбавляя» их и тем самым снижая их эффект. Многие антидепрессанты (вещества, снимающие депрессию) увеличивают содержание катехоламинов в синаптической щели, т.е. количество медиаторов для стимулирования рецептора возрастает. К примеру, имипрамин блокирует поглощение норадреналина нервными волокнами, амфетамин способствует выделению норадреналина и блокирует его поглощение, ингибиторы MAO подавляют метаболизм катехоламинов и т.д. Эти результаты легли в основу катехоламиновой гипотезы депрессивных состояний, согласно которой психическая депрессия связана с недостатком катехоламинов в мозге. В начале 50-х годов фармакологи выяснили, что известный галлюциноген диэтиламин лизергиновой кислоты (ЛСД) не только сходен по химическому строению с серотонином, но и нейтрализует некоторые его фармакологические эффекты (блокируя рецепторы серотонина). Поэтому было высказано предположение, что нарушение обмена серотонина может быть причиной возникновения особых

психических заболеваний. Одним из важнейших проблем медицины является шизофрения, характеризующееся расстройством мышления, угнетенным состоянием духа и замкнутостью. Нередки также галлюцинации и параноидные явления. Существуют разные гипотезы патогенеза шизофрении. По одной из них шизофрения может быть следствием гиперактивности дофаминовых нейронов. Считают, что такие антипсихотические средства, как аминазин (хлорпромазин) и галоперидол, усиливая синтез катехоламинов, способны блокировать дофаминовые рецепторы, в связи с чем возникает функциональный дефицит дофамина.

С нарушением дофаминергической передачи импульсов связана также болезнь Паркинсона, проявляющаяся ригидностью мышц, скованностью движений и характерными непроизвольными движениями. В полосатом теле мозга людей, умерших от болезни Паркинсона, резко снижено содержание дофамина. Введение ДОФА в кровь больным снимает симптомы болезни: ДОФА, в отличие от дофамина, легко проникает из крови в мозг, где превращается в дофамин.

У предрасположенных лиц легко возникает болезненное влечение к различным наркотическим средствам (морфин, барбитураты, алкоголь). При применении алкалоидов опия у таких лиц наблюдается развитие физической зависимости, выражающаяся в появлении болезненных симптомов абстиненции при отсутствии препарата. При этом развивается высокая устойчивость к действию наркотика, т.е. наркоманы легко переносят дозы, смертельные для обычного человека. В ЦНС имеются специфические рецепторы морфина. По природе они предназначены для связывания нейромедиаторов или модуляторов. Так, показано, что пентапептиды (энкефалины) – метионинэнкефалин (1) и лейцинэнкефалин (2) являются эффективными агонистами действия опия:

Tyr-Gly-Gly-Phe-Met (1); Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (2)

Следовательно, алкалоиды опия имитируют эффект одного из нескольких природных пептидов мозга. Серьезная фармакологическая проблема заключается в том, что алкалоиды опия являются самыми мощными обезболивающими агентами, причем способность снимать болевые ощущения прямо пропорциональна потенциальной способности вызывать наркоманию. Современная медицина не располагает обезболивающим средством, равным по эффективности морфину, но не вызывающим при этом привыкания.

Теория наркомании постулирует, что в результате связывания наркотика с рецептором в системе «рецептор-агонист» возникают какие-то компенсаторные изменения. Так, морфин действует на нейроны, подобно гормону с тормозящим эффектом, а именно понижает содержание цАМФ, в связи с чем развивается компенсаторная реакция нервной клетки. Она выражается в увеличении содержания или активности ацилатциклазы, что приводит к увеличению концентрации цАМФ. В итоге возникает зависимость от морфина, поскольку в его отсутствие содержание цАМФ становится слишком высоким.

Другая важная группа средств, влияющих на функциональное состояние нервной системы – это анестетики. К ним относятся как соединения довольно большого молекулярного веса, например, барбитураты, так и очень простые соединения типа диэтилового эфира или галотана (CF_3CHClBr). В настоящее время галотан представляет собой наиболее широко употребляемый ингаляционный анестетик. Относительно механизма действия анестетиков существует несколько теорий. Принято считать, что эффективность препаратов этого типа зависит от их растворимости в липидах, однако чрезвычайно трудно указать место приложения их действия в нервной клетке. Согласно одной из недавно высказанных гипотез, анестетики способны расщеплять водородные связи. Основной эффект

анестетиков на уровне клетки состоит в уменьшении тока ионов натрия через мембраны нервных клеток.

Список использованной литературы:

Основная:

1. Березов Т.Т. Биологическая химия, 2007, Москва, Изд-во Медицина.
2. Вавилова Т.П., Евстафьева О.Л. Биологическая химия в вопросах и ответах, 2005, ВЕДИ.
3. Зубаиров Д.М. и др. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. 2005, Гэотар-Медиа.
4. Северин Е.С. Биохимия, 2007, Гэотар-Медиа.
5. Зубаиров Д.М. Биохимия. Тесты, 2007. Гэотар-Медиа.
6. Северин Е.С. Биохимия. Тесты и задачи. 2007, ВЕДИ.
7. Султанов Р.Г., Холмухамедова Н.М. Биохимиядан амалий машғулотлар, 1995.
8. Sabirova R.A., Abrorov A.A., Inoytova F.H., Arifov A.N. Biologik kimyo, 2007.
9. Собирова Р.А., Кульманова М.У. Задачи по биохимии. Ташкент, 2013 (нап англ., русс., и узбекском языках)

Дополнительная литература:

1. Бышевский А.Ш. и соавт. Биохимические сдвиги и их оценка в диагностике патологических состояний, 2002.
2. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия, 2002.
3. Северин Е.С., Николаев А.Я. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами, 2005.
4. Никулин Б.А. Пособие по клинической биохимии, 2006. Геотар-Медиа.
5. Арипов А.И. и соавт. Руководство по клинической лабораторной диагностике, 2007.
6. Дадали В.А. и соавт. Учебно-методическое пособие к практическим занятиям по биологической химии. Из 4-х частей, 2004.
7. Ткачук В.А. Клиническая биохимия, 2006. Гэотар-Медиа.
8. Кольман Я., Рем К. - Г. Наглядная биохимия, 2000
9. www.tma.uzsi.net.
10. Иноятова Ф.Х., Эргашов А.Т., Орипов О.А. Биохимические основы процессов биотрансформации. 2005.

11. Иноятова Ф.Х., Собирова Р.А., Орифов Н., Шукуров И.Б. Биохимические аспекты обмена железа в организме. 2005.
12. Сабирова Р.А., Иноятова Ф.Х., Ибрагимходжаева М.П. Углеводларнинг алмашинуви ва функцияси, Тошкент-2006 й.
13. Собирова Р.А., Иноятова Ф.Х., Расулова В.Б. Жигар биокимёси. 2006.
14. Собирова Р.А., Кульманова М.У. Биохимия гомеостаза, 2011. (рус ва инглиз тилларда)
15. Markers of Oxidative damage and Antioxidant Protection. //ILSI Europe Report Series.-Brussels, 2000.-P.16-18.
16. A manual of laboratory & diagnostic test.- Lippincott, Philadelphia-New York, 1996.- 1104 p.
17. www.tma.uzsi.net

СОДЕРЖАНИЕ

<u>ВВЕДЕНИЕ</u>	<u>3</u>
-----------------	----------

ЧАСТЬ I.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

<u>ГЛАВА 1. ОРГАНИЗАЦИЯ И РЕПЛИКАЦИЯ ДНК(Ф.Х. Иноятова)</u>	<u>5</u>
---	----------

<u>ГЛАВА 2. СИНТЕЗ И ПРОЦЕССИНГ РНК(Ф.Х. Иноятова)</u>	<u>35</u>
--	-----------

<u>ГЛАВА 3. СИНТЕЗ БЕЛКА И БИОЛОГИЧЕСКИЙ КОД(Ф.Х. Иноятова)</u>	<u>42</u>
---	-----------

<u>ГЛАВА 4. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ(Ф.Х. Иноятова)</u>	<u>55</u>
---	-----------

<u>ГЛАВА 5. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ()</u>	<u>74</u>
--	-----------

<u>ГЛАВА 6. ТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ДНК()</u>	<u>86</u>
--	-----------

<u>ГЛАВА 7. ОНКОГЕНЕЗ()</u>	<u>98</u>
------------------------------	-----------

ЧАСТЬ II.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ

ГЛАВА 8. БИОХИМИЯ КРОВИ (Ш.Х. Каримова) 112

ГЛАВА 9. ПОЧКИ И МОЧА (М.К. Нишантаев) 166

ГЛАВА 10. БИОХИМИЯ МОЛОКА (Ш.Ф. Каримова) 191

ГЛАВА 11. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ (З.Р. Хайбулина) 221

ГЛАВА 12. АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ
СТРЕСС И АНТИОКСИДАНТЫ (З.Р. Хайбулина) 268

ГЛАВА 13. БИОХИМИЯ МЫШЦ (М.Ш. Юсупов) 306

ГЛАВА 14. БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА (Р.А. Сабирова)
321

ГЛАВА 15. БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (Н.М. Юлдашев)

~~Глава 9~~

~~БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ~~

~~Функции и строение печени~~

~~Печень имеет чрезвычайно важное значение для промежуточного обмена веществ (углеводов, липидов, белков, витаминов); обезвреживания веществ (эндо-, экзотоксинов и ксенобиотиков); выполняет выделительную функцию (с желчью в кишечник выделяются билирубин, холестерин, некоторые лекарства и токсины). В печени происходит синтез веществ «на экспорт»: белки плазмы крови, глюкоза, кетонные тела, липопротеины, а также обезвреживание аммиака и синтез мочевины как конечного продукта азотистого обмена.~~

~~Основные функции печени:~~

- ~~• значение в обмене углеводов: гликолиз, гликогенолиз, синтез и распад гликогена;~~
- ~~• значение в обмене липидов: синтез жирных кислот, кетогенез, синтез;~~
- ~~• липопротеинов, синтез и выведение холестерина, синтез желчных кислот из холестерина, гидроксилирование витамина Д;~~
- ~~• значение в обмене белков: синтез белков плазмы крови (альбумины, факторы свертывания крови), синтез мочевины;~~

- значение в тимментном обмене: метаболизм и экскреция конъюгированного билирубина;
- значение в обмене гормонов: метаболизм и выведение стероидных гормонов, метаболизм полипептидных гормонов;
- обезвреживающая функция печени: метаболизм и экскреция эндогенных субстратов, экзотоксинов и ксенобиотиков, в том числе лекарств, консервантов, бензпирена выхлопных газов и табачного дыма;
- депонирование веществ: гликоген, витамин А, витамин В₁₂, железо;
- участие в пищеварении: синтез желчи;
- гемопоэз у плода.

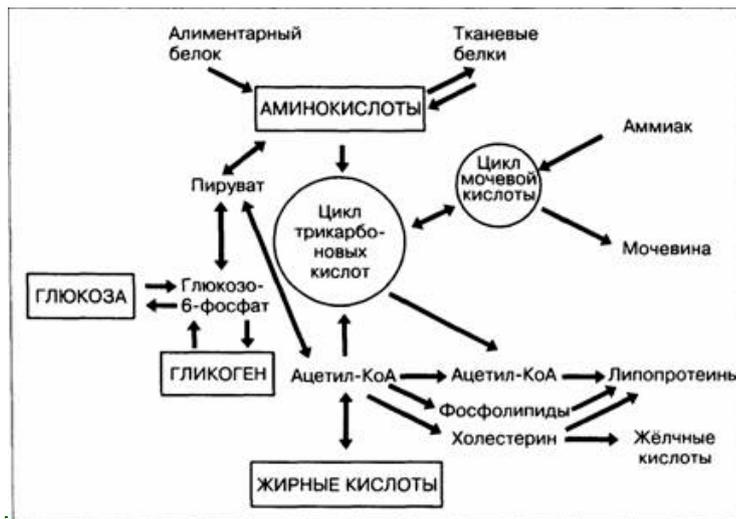
Строение печени:

В печени гепатоциты составляют 80%, клетки Купфера (печеночные макрофаги) и эндотелиоциты — 15%, строма — 5%. Все функции печени выполняет гепатоцит. Гепатоцит одной частью поверхности прилежит к эндотелиоцитам синусоидов, а другой — к желчному каналу. В синусоидах (видоизмененные капилляры) течет смешанная артериально-венозная кровь, поступающая из воротной вены и печеночной артерии; из синусоидов кровь собирается в ветви печеночной вены, впадающей в нижнюю полую вену.

9.2. Участие печени в обмене углеводов, липидов, белков.

Печень — уникальный орган в плане перераспределения нутриентов (углеводов, липидов, белков), что обусловлено особенностями её кровообращения. Венозная кровь, оттекающая от желудка, кишечника и поджелудочной железы, попадает в систему воротной вены печени, минуя общий кровоток. Таким образом, печень омывается кровью, обогащенной

~~нутриентами и инсулином, активно поглощает их в абсорбтивный период и играет ключевую роль в запасании, перераспределении и доступности питательных веществ для периферических тканей (рис.).~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Другой цвет (RGB(21;21;21))

~~Рис. 9.1. Схема участия печени в промежуточном обмене.~~

~~Роль печени в обмене углеводов и поддержании уровня глюкозы крови.~~

~~Печень — депо гликогена, продуцент глюкозы за счет глюконеогенеза; активный участник регуляции глюкозы крови.~~

~~Существует три особенности обмена глюкозы в печени: глюкоза проникает в печень через ГЛЮТ-2, не нуждающийся в инсулине, что обеспечивает не лимитированный транспорт глюкозы в печень; в печени содержатся ферменты глюкокиназа и глюкозо-6-фосфатаза, обеспечивающие эффективную утилизацию глюкозы в периоде насыщения и распад гликогена до свободной глюкозы при голодании.~~

~~Глюкокиназа катализирует фосфорилирование глюкозы в глюкозо-6-фосфат; в отличие от гексокиназы, она не ингибируется глюкозо-6-фосфатом, имеет более высокую K_m и высокую V_{max} . Это обеспечивает активность фермента только при высоких концентрациях глюкозы и эффективный захват глюкозы из портального кровотока, предотвращая системную гипергликемию. В поджелудочной железе глюкокиназа является сенсором глюкозы, и стимулятором секреции инсулина при гипергликемии.~~

~~Глюкозо-6-фосфатаза содержится исключительно в печени и катализирует образование свободной глюкозы из глюкозо-6-фосфата при распаде гликогена в печени, благодаря чему образуется свободная глюкоза, поступающая в общий кровоток и обеспечивающая поддержание энергетического обмена в периферических тканях.~~

~~Еще одним исключительным свойством печени является протекание реакций глюконеогенеза, утилизация лактата в цикле Кори и глюкозо-аланиновый цикл.~~

~~Особенности углеводного обмена в печени при насыщении и голодании:~~

~~Печень преимущественно относится к глюкозо-образующим тканям, нежели к глюкозо-потребляющим. В абсорбтивном периоде в печень поступает 60-100 грамм глюкозы, которые полностью утилизируются. Усиление обмена глюкозы при этом происходит за счет 5-ти механизмов:~~

~~1) усиление фосфорилирования глюкозы (глюкокиназа активируется высокой внутриклеточной концентрацией глюкозы в гепатоците);~~

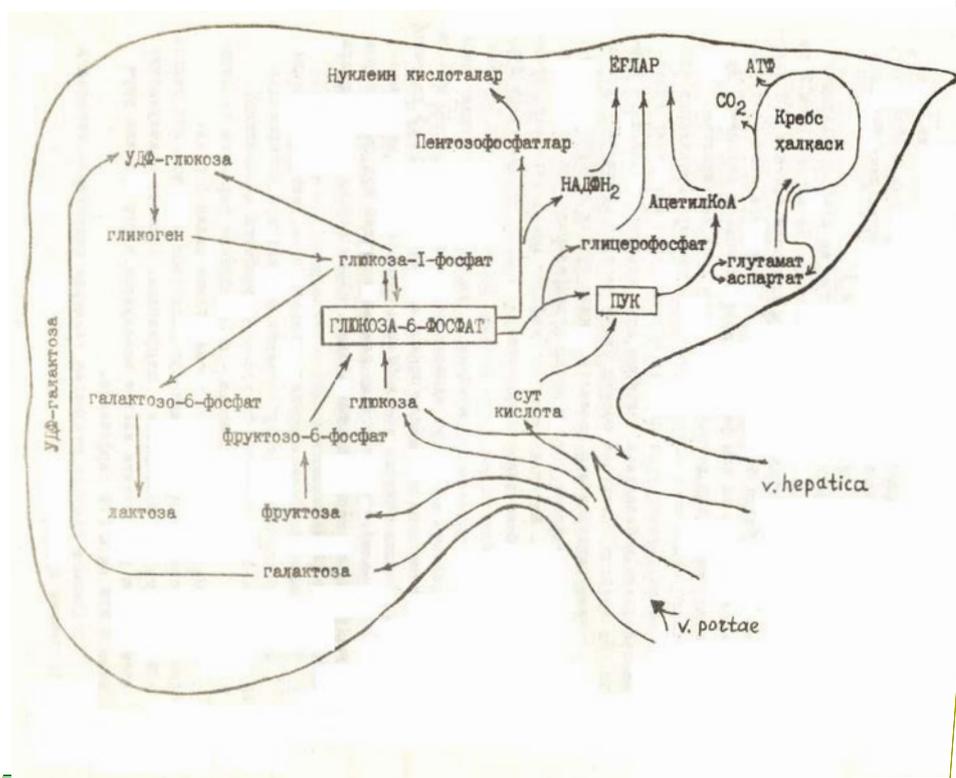
~~2) усиление синтеза гликогена (увеличивается соотношение инсулин/глюкагон, вследствие высокой концентрации инсулина активируется гликогенсинтаза, угнетается гликогенфосфорилаза);~~

~~3) увеличение активности гексозомонофосфатного пути;~~

~~4) усиление гликолиза (активация фосфофруктокиназы инсулином);~~

~~5) снижения глюконеогенеза (ключевой фермент процесса фруктозо-1,6-бисфосфатаза ингибируется инсулином; низкая активность пируваткарбоксилазы).~~

~~При голодании в печени в первую очередь происходит распад гликогена, затем глюконеогенез для поддержания уровня глюкозы крови и обеспечения энергетического метаболизма мозга и других глюкозозависимых тканей (рис.).~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~Рис. Участие печени в обмене углеводов.~~

~~Особенности обмена фруктозы и галактозы в печени.~~

~~Печень — центральный орган обмена фруктозы. Кроме печени обмен фруктозы интенсивно протекает в почках, слизистой кишечника, т.к. эти ткани содержат фруктокиназу. Фруктокиназа превращает фруктозу во фруктозо-1-фосфат, которая далее под действием альдолазы В расщепляется на дигидроксиацетонфосфат и глицеральдегид. Фруктоза и галактоза в печени могут метаболизироваться по пути гликолиза или глюконеогенеза. Поражение печени возникает при дефиците альдолазы В при врожденной непереносимости фруктозы.~~

~~Участие печени в обмене липидов.~~

~~Печень является важной тканью, в которой синтезируются de novo жирные кислоты, кетоновые тела, холестерин, триглицериды, фосфолипиды. Исключительное значение имеет печень для синтеза липопротеинов — ЛПОНП, ЛПВП. В печени происходит катаболизм холестерина до желчных кислот; образуются активные метаболиты витамина Д — оксиколекальциферол; депонируется витамин А. Все эти процессы рассмотрены в предыдущих главах.~~

~~Состояние липидного обмена в печени при насыщении и голодании имеет следующие особенности. В абсорбтивном периоде в печени происходит 2 процесса:~~

~~1) усиливается синтез жирных кислот, т.к. увеличивается доступность субстратов — ацетил-КоА и НАДФН, получаемых как за счет метаболизма глюкозы, так и при активации ацетил-КоА-карбоксилазы, превращающей ацетил-КоА в малонил-КоА;~~

~~2) усиливается синтез триглицеридов (ТГ). ТГ затем в составе ЛПОНП выходят в кровоток и доставляются периферическим тканям; преимущественно в мышечную и жировую ткань.~~

~~При голодании в гепатоцитах усиливается окисление жирных кислот и кетогенез. Синтез кетоновых тел — 3-гидроксибутирата, ацетоацетата и ацетона — происходит исключительно в печени, утилизация 3-гидроксибутирата и ацетоацетата происходит в периферических тканях (мышцы, мозг и др., кроме печени), ацетон, не расщепляясь, выводится почками с мочой. Снижение способности периферических тканей окислять кетоновые тела и утилизировать ацетил-КоА в цикле Кребса в условиях дефицита углеводов (дефицит оксалоацетата) приводит к кетоацидозу и нейротоксичности ацетона.~~

~~Метионин, витамин В₁₂, холин являются липотронными веществами. В случае их дефицита наблюдается жировая дистрофия печени — накопление в печени нейтральных жиров, снижение синтеза фосфолипидов, снижение накопления гликогена. Жировая дистрофия печени наблюдается при алкоголизме, сахарном диабете.~~

~~Участие печени в обмене белков и аминокислот.~~

~~Значение печени в белковом обмене состоит в следующем: исключительно в печени происходит синтез мочевины; синтезируются белки плазмы крови (альбумин, гликопротеины, церулоплазмин, трансферрин, факторы свертывания крови — протромбин, фибриноген, проконвертин и проакцелерин); происходит промежуточный обмен аминокислот (общие пути катаболизма аминокислот — трансаминирование, дезаминирование (кроме лейцина, изолейцина, валина); специфические пути обмена отдельных аминокислот; синтез заменимых аминокислот); синтез холина. Также в печени синтезируется С-реактивный белок (СРБ) — маркер воспаления, коронарных событий, сепсиса.~~

~~Не останавливаясь подробно на общих и специфических путях обмена аминокислот, отметим, что печень не может катаболизировать аминокислоты~~

~~с разветвленной цепью — лейцин, изолейцин, валин — они расщепляются в мышцах.~~

~~У новорожденных может иметь место преходящая недостаточность ферментов белкового обмена в печени, что приводит к следующим состояниям:~~

- ~~1) гипопротейнемия, которая проходит на 2-3 году жизни;~~
- ~~2) гипопротромбинемия, нормализация происходит к 3-4 месяцам;~~
- ~~3) гиперфенилаланинемия и гипертирозинемия (дефицит фенилаланин гидроксилазы и тирозинтрансминазы), к 2-4 месяцам жизни активность этих ферментов нормализуется;~~
- ~~4) гистидинемия (дефицит гистидин-аммиак-лиазы);~~
- ~~5) гипераммониемия (дефицит орнитинкарбамоилтрансферазы и карбамоилфосфатсинтазы).~~

~~В абсорбтивном периоде в печени усиливается синтез белков, в том числе и на экспорт, а при голодании, наоборот, усиливается катаболизм аминокислот для обеспечения глюконеогенеза.~~

9.3. Метаболизм и экскреция билирубина, синдром желтухи

~~Билирубин — продукт катаболизма гема, образующегося преимущественно при распаде эритроцитов, а также цитохромов и миоглобина. В крови билирубин присутствует в виде 2-х фракций: свободного и связанного билирубина.~~

~~**Свободный билирубин** составляет более 90% общего билирубина крови; не растворим в воде, поэтому в крови циркулирует в комплексе с альбумином; хорошо растворим в липидах, в связи с чем токсичен для ЦНС;~~

~~не проходит через почечный барьер, поэтому в моче не определяется при повышении концентрации в крови; в печени он метаболизируется в связанный билирубин.~~

~~**Связанный билирубин** представляет собой билирубин-диглюкуронид, водорастворим, в норме выделяется с желчью в кишечник, в крови содержится в незначительном количестве, свободно проходит почечный барьер, обнаруживается в моче при увеличении его концентрации в крови, придавая моче цвет пива.~~

~~Преобразование свободного билирубина в связанный в печени происходит путем конъюгации с глюкуроновой кислотой в ее активной форме УДФГК под действием фермента УДФГК-билирубин-трансферазы (рис.).~~

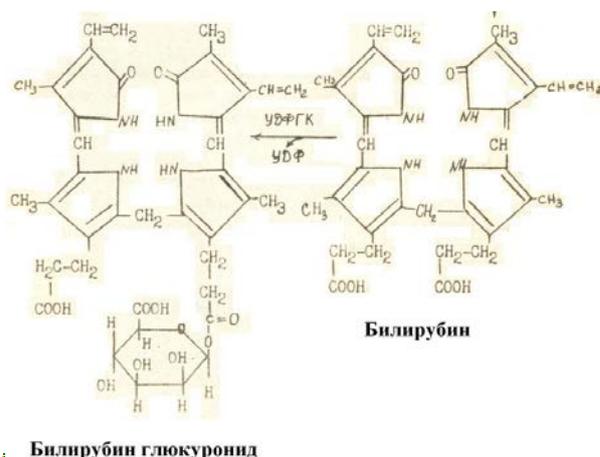


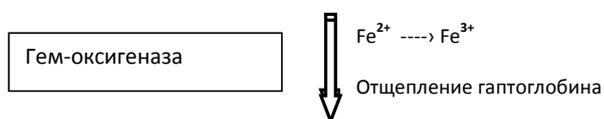
Рис. Конъюгация билирубина в печени.

~~Ежедневно в печени образуется около 300 мг связанного билирубина, хотя здоровая печень способна экскретировать в 10 раз больше. Билирубин-диглюкуронид (связанный билирубин), попадая в кишечник, под действием ферментов бактерий превращается в уробилиноген и стеркобилиноген,~~

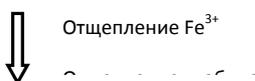
Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt

которые в прямой кишке окисляются в уробилин и стеркобилин и выделяются с калом, придавая ему темный цвет. Частично уробилиноген всасывается в тонком кишечнике, с током крови через воротную вену попадает в печень и расщепляется там до ди- и трипирролов. Появление уробилина в моче свидетельствует о поражении печени. Стеркобилиноген всасывается в незначительном количестве через геморроидальные вены, попадает в общий кровоток и выделяется с мочой (рис.)

~~Нв-гаптоглобин~~



~~Вердохромальдегид~~



~~Билирубин~~





Примечание [ПНЮ2]:

Рис. Катаболизм гема.

~~Увеличение концентрации общего билирубина в крови обуславливает развитие синдрома желтухи, т.к. билирубин способен окрашивать кожу и слизистые, склеры в желтый цвет.~~

~~По механизму развития выделяют 3 вида желтухи:~~

- ~~• надпеченочная (гемолитическая);~~
- ~~• печеночно-клеточная (при поражении гепатоцитов);~~
- ~~• подпеченочная (механическая, обтурационная при нарушении оттока желчи).~~

Таблица

Дифференциация вида желтухи осуществляется по следующим признакам

Вид желтухи	Надпеченочная	Печеночная-клеточная	Подпеченочная
Причина	Гемолиз эритроцитов, неэффективный эритропоэз	Гепатит, цирроз, амилоидоз	Холестаз: желчные камни, стеноз желчных протоков, карцинома желчных протоков и/или поджелудочной железы, холангит; атрезия желчных путей у новорожденных; ятрогенное (перевязка общего желчного протока или повреждение внутрипеченочных протоков при операциях на печени и удалении желчного пузыря).
Свободный билирубин в крови	Увеличен до 100 мкмоль/л	Увеличен за счет снижения конъюгации в печени	Незначительно увеличен
Связанный	В норме	Увеличен за счет	Резко увеличен до 300 мкмоль/л

билирубин в крови		увеличения проницаемости мембран гепатоцитов, когда компоненты желчи попадают в кровь	
При знаки в крови	Увеличивает ея уробилиноген в крови. Снижение гемоглобина, гаптоглобина. Умеренное повышение активности АСТ, гидроксибутиратде гидрогеназы	Увеличен а-активность АЛТ, АСТ, ГГТ.	Увеличена ЦФ, в крови присутствует особая фракция билирубина — конъюгированный билирубин, связанный ковалентно с альбумином; он появляется при длительной гипербилирубинемии
При знаки в моче	Увеличивает ея уробилиноген	Увеличив ается уробилиноген	Уробилина и етерробилина в моче нет
Цве т мочи	Не изменен	Интенсив но-желтый	Темно-коричневый (цвет пива)
Цве т кала	Темно коричневый	Коричнев ый	Бесцветный («собачий»)
Цве	Зеленовато-	Желтый	Шафраново-желтый

#-кожен	желтый		
--------------------	-------------------	--	--

~~Существуют также наследственные дефекты метаболизма билирубина, физиологическая желтуха новорожденных.~~

~~**Физиологическая желтуха новорожденных** развивается за счет сниженной активности глюкуронил-трансферазы, а также в виду усиленного распада эритроцитов. Физиологическая желтуха самопроизвольно купируется к 10 дню жизни.~~

~~**Синдром Жильбера** — нарушен захват билирубина гепатоцитами из крови, сниженная конъюгация и экскреция билирубина, проявляется преходящей гипербилирубинемией за счет свободного билирубина (желтуха слабая, непостоянная, усиливается при голодании и инфекционных заболеваниях), биохимия печени нормальная, продолжительность жизни не нарушена.~~

~~**Синдром Криглера-Найра** — дефект глюкуронил-трансферазы. Характеризуется резким увеличением у новорожденного свободного билирубина (до 340 мкмоль/л) за счет:~~

~~1) отсутствия глюкуронил-трансферазы (аутосомно-рецессивный тип), ранняя смерть от ядерной желтухи;~~

~~2) низкой активности глюкуронил-трансферазы (частичная недостаточность фермента при аутосомно-доминантном типе), хорошо поддается лечению фенобарбиталом, фототерапией.~~

~~**Синдром Дабина-Джонса** — нарушено выделение (экскреция) билирубина в желчь, проявляется преходящей гипербилирубинемией за счет конъюгированного билирубина, отложение меланина в печени, продолжительность жизни нормальная.~~

~~**Синдром Ротора** — проявления сходны с таковыми при синдроме Дабина-Джонса, но отложения меланина в печени отсутствуют.~~

~~**9.4. Обезвреживающая функция печени: детоксикация эндотоксинов и ксенобиотиков, химический канцерогенез.**~~

~~Печень является важнейшим органом, обеспечивающим освобождение организма от «отработавших» биологически активных веществ эндогенного происхождения (стероидные гормоны, катехоламины, простагландины, билирубин, продукты гниения белков в кишечнике) и от ксенобиотиков. **Ксенобиотики** — вещества, поступающие в организм через ЖКТ, кожу, легкие и не используемые для пластических и энергетических целей. К ним относятся лекарства, консерванты, токсины.~~

~~Обезвреживание происходит в гладком эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) гепатоцита. При центрифугировании ЭПР образует пузырьки — микросомы, поэтому реакции, протекающие в гладком ЭПР, получили название микросомального окисления.~~

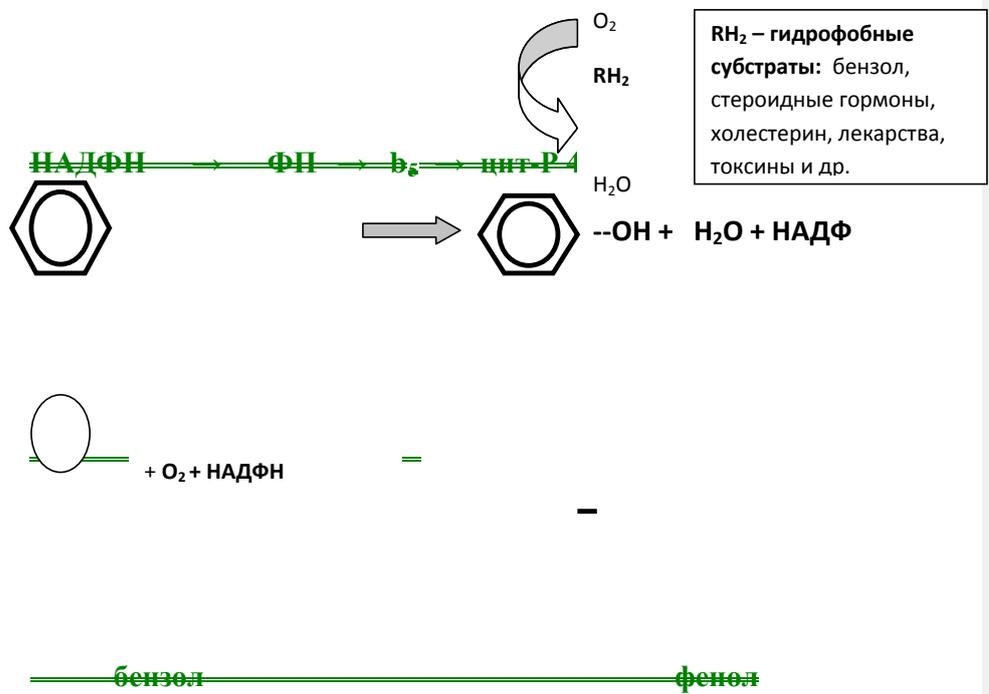
~~Обезвреживание субстратов в гепатоцитах происходит в два этапа (иногда состоит из одного этапа):~~

~~**Первый этап — микросомальное окисление** — заключается в химической модификации гидрофобных веществ в гидрофильные путем гидроксилирования, окисления, восстановления.~~

~~**Второй этап — реакции конъюгации** с глюкуроновой, серной кислотой, глицином, глутамином, ацетильным остатком, а также метилирование. Продукт этих реакций, как правило, хорошо растворим в воде, легко удаляется из организма.~~

1 этап. Микросомальное окисление. Компоненты цепи микросомальной окислительной системы (МОС): цитохром Р-450 (СYP), цитохром Р-450 редуктаза (флавопротеин, имеет кофермент ФАД или ФМН); цитохром b5. Суть микросомального окисления состоит в том, что в молекулу гидрофобного субстрата (R-H₂) внедряется атом кислорода, что превращает субстрат в гидрофильное вещество (R-OH), чем значительно облегчается его дальнейший метаболизм. Донором электронов для активации кислорода служит НАДФН, он окисляется под действием цитохром Р-450 редуктазы, электроны переносятся на цитохром b5, затем на цитохром Р-450. Ключевой компонент цепи МОС — цитохром Р-450: он непосредственно активирует кислород, связывает субстрат и внедряет в него атом кислорода (рис.)

1 стадия: микросомальное окисление



~~Рис. Схема цепи митохондриального окисления.~~

~~Если в молекулу субстрата внедряется 1 атом кислорода, то реакция катализируется монооксигеназами; если — 2 атома кислорода — диоксигеназами. В монооксигеназных реакциях происходит образование тройного комплекса: *цитохром P-450 — субстрат — кислород* с последующей активацией кислорода и внедрением одного его атома в субстрат. Вторым атомом кислорода расходуется на образование воды. Донором электронов в этих реакциях служит восстановленный НАДФН. Почти весь клеточный НАДФН окисляется в митохондриях, а скорость его окисления регулируется скоростью переноса электронов с НАДФН на цитохром P-450-редуктазы на цитохром P-450; активация кислорода на цитохроме P-450 является лимитирующей стадией процесса.~~

~~В диоксигеназных реакциях (реакции перекисного окисления липидов — ПОЛ), когда в молекулу субстрата внедряется вся молекула кислорода, цитохром P-450 может быть центром радикалообразования, благодаря инициации ПОЛ на SH-группах его апофермента при связывании Fe, а также в случаях, когда цитохром P-450 выступает в роли гидропероксидазы при разрушении гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот.~~

~~В зависимости от типа субстрата в МОС протекают реакции:~~

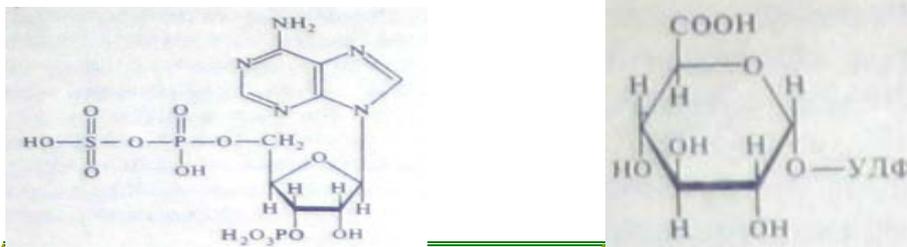
- ~~• гидроксилирования;~~
- ~~• эпоксилирования;~~
- ~~• N-окисления;~~
- ~~• N-, S-, O-деалкилирования;~~
- ~~• восстановление нитросоединений и др.~~

Благодаря реакциям микросомального окисления происходит гидроксилирование биогенных аминов (адреналина, триптамина, серотонина), окисление холестерина и желчных кислот, синтезируются простагландины, стероидные гормоны. Многие ароматические углеводороды обезвреживаются путем окисления с образованием соответствующих карбоновых кислот, нитробензол превращается в парааминофенол.

Отдельного внимания заслуживает **цитохром P-450**. Он обладает широкой субстратной специфичностью и может присоединять более 7000 различных субстратов. Существует более 70 изоформ цитохрома P-450, которые образуют 4 семейства: CYP1-4. В печени наиболее широко представлено семейство CYP3A, CYP2E. Цитохром P-450 может индуцироваться или ингибироваться, превращаясь в неактивную форму — цитохром P-420. Учитывая, что большинство субстратов цитохрома P-450 — это лекарства и ксенобиотики, длительность терапевтического действия лекарств определяется скоростью их метаболизма в печени. При ингибировании цитохрома P-450 обезвреживание лекарств замедляется, длительность их действия и токсичность — возрастают. При беременности также меняется активность цитохромов P-450, что обуславливает особенности метаболизма лекарств и токсинов. В ряде случаев, после биотрансформации в МОС вещество становится еще более токсичным, что приводит к химическому канцерогенезу.

2 этап. Реакции конъюгации. В реакциях конъюгации участвуют различные вещества в активной форме: серная кислота в виде фосфаденозилфососульфата (ФАФС), глюкуроновая кислота в виде УДФКГ, метионин в виде S-аденозил метионина; глицин, глутамин и др. (рис.)

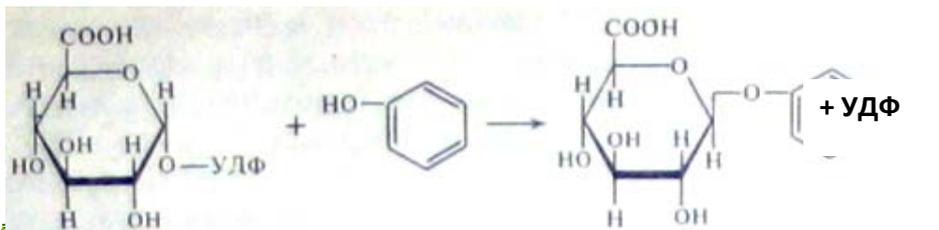
II стадия Реакции конъюгации



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~3'-фосфоаденозил-5'-фосфосульфат (ФАФС) — UDP-глюкуронат (УДФГК)~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~UDP-глюкуронат — фенол — фенолглюкуронид~~

~~Рис. Активная форма серной и глюкуроновой кислот, реакция конъюгации фенола.~~

~~В реакциях конъюгации обезвреживаются продукты гниения белков в кишечнике — фенол (образуется из тирозина), индол, скатол (образуются из триптофана). Индол, конъюгируя с ФАФС, превращается в индоксил, а затем, в животный индикан, который выводится с мочой. По количеству индикана в моче судят о скорости гниения белков в кишечнике и функциональном состоянии печени. Для оценки функционального состояния~~

~~печени использовали пробу Квика: бензойная кислота конъюгирует с глицином, образуя глипуровую кислоту, количество которой определяли в моче. Важное место в обезвреживании ксенобиотиков занимают глутатион S-трансферазы (ГТ), они восстанавливают цитотоксичные органические пероксиды до спиртов, глутатион участвует в обезвреживании эпоксидов, органических фосфатов, тиоцианатов, гетероциклических соединений; отдельного внимания заслуживает глутатионовая система в антиоксидантной защите организма (см. далее гл.10).~~

Обезвреживание гормонов:

~~Гормоны, оказав свое действие, подвергаются катаболизму в печени. Стероидные гормоны: тестостерон, альдостерон, эстрадиол гидроксилируются, а затем конъюгируют с ФАФС и УДФГК. Продукты гидроксилирования эстрадиола — 16-гидроксиэстрадиол и 4-гидроксиэстрадиол, особенно при избыточном образовании, в отличие от 2-гидроксиэстрадиола, обладают способностью провоцировать канцерогенез. При циррозе печени инактивация стероидных гормонов замедляется, что приводит к увеличению их концентрации в крови и последующей атрофии яичников, т.к. синтез гормонов регулируется по механизму отрицательной обратной связи. Тироксин обезвреживается трансаминированием в кетонпроизводное, а также конъюгируя по фенольной группе с ФАФС или УДФГК. Адреналин и норадреналин последовательно дезаминируются, метилируются и конъюгируют с ФАФС или УДФГК.~~

Обезвреживание лекарств:

~~Как было уже сказано выше, длительность терапевтического действия лекарств определяется скоростью их метаболизма в печени. Гидрофильные вещества могут выводиться из организма в неизмененном виде, однако в большинстве случаев лекарства подвергаются биотрансформации в печени. Результат биотрансформации может быть разным: инактивация (нитрилы,~~

~~фенобарбитал, эфедрин); активация (норморфин, метилдофа, бутадион);
появление метаболитов, токсичных для организма (фенацетин,
сульфаниламиды).~~

~~Примеры: **аспирин** конъюгирует с УДФГК или глицином, либо
превращается в гентизиновую кислоту; **фенобарбитал** гидроксилируется,
затем конъюгирует с УДФГК; **изониазид** ацетируется и выводится в виде
ацетилизониозида и изоникотиновой кислоты. **Морфин** под действием
цитохрома Р450 превращается в норморфин (в 6 раз токсичнее морфина),
который далее в реакции конъюгации с УДФГК образует глюкуронид-
норморфин. **Кодеин**, входящий в состав противокашлевых препаратов, под
действием цитохрома Р450 превращается в морфин, который
обезвреживается по ранее описанному механизму. **Фенацетин** под
действием цитохрома Р450 — 1А2 превращается в **ацетаминофен**
(парацетамол), который далее метаболизируется в 3 различных продукта в
зависимости от фермента: под действием УДФ-глюкуронилтрансферазы — в
глюкуронид ацетаминофен; под действием сульфотрансферазы — в сульфат-
аминофен; под действием цитохрома Р-450 — 1А и Р-450 — 3А — в N-ацетил-р-
бензохинонимин (гепатотоксичное вещество). Также **фенацетин** под
действием деацетилазы превращается в парафенетидин, который является
метгемоглобинообразователем и гепатотоксичен. Кофеин активирует
цитохром Р-450 — 3А, а на Р-450 — 1А оказывает ингибирующее действие.~~

~~**Метаболизм этанола.** Превращение этанола в печени осуществляется
тремя путями с образованием токсичного промежуточного продукта
ацетальдегида:~~

~~1) Этанол под действием НАД-зависимой алкогольдегидрогеназы
(АДГ) превращается в ацетальдегид с образованием НАДН. АДГ — цинк-
зависимый фермент, локализуется в цитоплазме и митохондриях, не
индуцируется, имеет 2 изоформы:~~

~~2) Этанол под действием цитохрома P450—2E1 и НАДФН образует ацетальдегид, при этом также образуется НАДФ. Этот путь протекает в ЭПР, фермент индуцируется, имеет значение при злоупотреблении алкоголем; сопровождается образованием активных форм кислорода.~~

~~3) Этанол при взаимодействии с перекисью водорода под действием каталазы превращается в ацетальдегид. Этот путь протекает в митохондриях.~~

~~Дальнейший метаболизм ацетальдегида происходит до образования уксусной кислоты 2 путями: под действием ФАД-зависимой альдегидоксидазы (с образованием перекиси водорода) и под действием НАД-зависимой ацетальдегиддегидрогеназы (с образованием НАДН). Альдегидоксидаза и ацетальдегиддегидрогеназа по-разному распределены в клетке: в цитозоле — 80/20%; в митохондриях — 20/80%.~~

~~**Факторы, влияющие на детоксикационную функцию печени.**~~

~~Интенсивность обезвреживания ксенобиотиков зависит от активности ферментов МОС и целостности мембран МОС. На активность МОС влияют содержание гликогена, фосфолипидов, белков, количество аскорбиновой кислоты в печени, а также дефицит селена, магния, железа. Снижение биотрансформации вследствие снижения активности МОС наблюдается у детей, стариков, при голодании, мембранодеструктивных процессах в МОС, окислительном стрессе. Увеличение активности ферментов МОС наблюдается под действием тестостерона и кортизола. Существуют вещества, оказывающие индуцирующее и ингибирующее действие на ферменты МОС. **Индукторы:** их 2 типа — фенобарбиталового типа (усиливают синтез ферментов МОС) и метилхолантренового типа (увеличивают каталитическую активность цитохрома P-450). Пример: после введения фенобарбитала в 2 раза ускоряется биотрансформация нитроглицерина и исчезает его побочный эффект — головные боли. Введение фенобарбитала используют при лечении гемолитической болезни~~

~~новорожденных для усиления конъюгации билирубина в печени. Фенобарбитал и бензонал не используют при отравлении гепатотропными ядами. Ингибиторы МОС — гепатотропные яды, перекись водорода, алкоголь, ФОС, пестициды, гексахлоргекеидин и др. Ингибиторы цитохрома Р-450: аминазин, аллопуринол, тетурам, оральные контрацептивы, циклосерин.~~

~~**Химический канцерогенез.**~~

~~При биотрансформации в МОС печени ряд соединений становится еще более токсичными, превращаясь в канцерогены. Эти вещества называют проканцерогенами. К ним относятся следующие (таблица).~~

Источник проканцерогена	Название проканцерогена	Название канцерогена, образующегося при «обезвреживании»	Патологическое состояние, обусловленное действием канцерогена
Табачный дым	Бензпирен	оксibenзпирен	Рак легких и др.
Продукты горения (каменноугольная сажа), табачный дым, выхлопные газы, коксохимическое производство	Полициклические ароматические углеводороды: бензантрацен, метилхолантрен, бензол	Эпоксид бензантрацена способен алкилировать ДНК, РНК, белки	Рак кожи
Производит	Ароматические	Повреждение	Рак

во анилиновых красителей	амины: нафтиламин, метиламинобензол,	ДНК	мочевого пузыря
Производит во дефолиантов, целлюлозно-бумажная промышленность, горящие свалки, хлорирование воды	Дioxины: тетрахлорбензодioxин	Повреждение ДНК	Повреждение ДНК
Инсектициды	Ацетиламинофл юорен	Ацетиламинофл юорен-сульфат	Рак печени
Плесневые грибы зерновых продуктов	Микотоксины: афлатоксин	Повреждение ДНК	Первичный рак печени
Консерванты рыбы и мясных продуктов колбас	Нитрозамины: диметилнитрозамин, диэтилнитрозамин	Преобразуют цитозин в урацил в молекуле ДНК, обуславливая мутации; нитраты являются сильными окислителями	Рак печени, почек, легких, желудка, мочевода.

Как видно из таблицы, химические канцерогены способны повреждать ДНК. Второй механизм развития химического канцерогенеза — это трансформация протоонкогенов в онкогены. Протоонкоген — нормальный ген, содержащий информацию о белке, регулирующем нормальную пролиферацию. Онкоген — ген, экспрессия которого приводит к неконтролируемой пролиферации клеток. Протоонкоген способен

~~превратиться в онкоген при изменении регуляторных или структурных генов, входящих в состав его оперона.~~

~~9.5. Желчь и дисхолия~~

~~Желчь — жидкий секрет желтовато-коричневого цвета, вырабатывается в печени в количестве 10 мл/кг массы тела (примерно 500-700 мл/сут). Вне пищеварения печеночная желчь переходит в желчный пузырь, где происходит ее депонирование, сгущение (в 5-10 раз за счет всасывания воды и электролитов). Функции желчи: участие в переваривании липидов — эмульгирование жиров, активация панкреатической липазы, участие в образовании мицелл при всасывании компонентов гидролиза жиров. К основным компонентам желчи относят желчные кислоты, холестерин, фосфолипиды, билирубин, соли, также желчь содержит муцин, ферменты, электролиты, продукты биodeградации лекарств. Основной компонент желчи — желчные кислоты. Синтез желчных кислот из холестерина описан в предыдущих главах. Нарушение состава желчи — дисхолия. Дисхолия наблюдается при изменении соотношения желчные кислоты/холестерин; при снижении содержания желчных кислот и увеличении концентрации холестерина, он начинает выпадать в осадок, что способствует образованию желчных камней, особенно при застое желчи и наличии инфекции.~~

~~**Гепатотоксичность.** Некоторые лекарства способны вызвать поражение печени: дозозависимая гепатотоксичность — имеется у парацетамола, салицилатов, тетрациклинов, азатиоприна, метотрексата; идиосинкразическая гепатотоксичность — у изониазида, галотана, метил-ДОФА, рифампицина, дантролена, нитрофурантоина; дозозависимый холестаза вызывает метилтестостерон; идиосинкразический холестатический гепатит — хлопромазин, толбутамид, эритромицин. Гепатотропными ядами являются четыреххлористый углерод, пестициды, ФОС.~~

Глава 12.

~~АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И АНТИОКСИДАНТЫ~~

~~Использование кислорода организмами в процессе жизнедеятельности началось около 1.4 миллиарда лет назад. Древнейшие организмы были анаэробами, но, когда за счет солнечной энергии возник фотосинтез и на Земле появился кислород, то представлялась возможность из органических веществ и кислорода получить «биологическую энергию» — АТФ. Этот процесс и положил начало зарождению аэробных (кислород-потребляющих) форм живых существ, т.е. появлению более сложных форм жизни. Так кислород сыграл исключительно важную роль в эволюции живой материи и в регуляции клеточного деления. Современные организмы активно используют~~

~~кислород для запасания энергии, в основном в форме АТФ, которая, в свою очередь, расходуется на все нужды клетки.~~

~~В то же время живым организмам пришлось приспособляться к «токсичности» кислорода. В виду особенностей климата, сильнейшей солнечной радиации, имевшихся в то время на Земле, и уникальности своей электронной структуры кислород оказался «губительным» для организмов, т.к. в этих условиях образовывались его свободные радикалы — **активные формы кислорода (АФК)** — промежуточные метаболиты в процессе ступенчатого восстановления кислорода. Они оказывали разрушительное действие на органические молекулы — повреждали липиды клеточных мембран, белки, ДНК. Более того, окисление органических молекул под действием АФК происходит по цепному механизму — т.е. лавинообразно, когда в процессе реакции образуется все большее и большее количество радикалов, разветвляющих цепи окисления. Чтобы выжить, организмам необходимо было создать мощную систему защиты от АФК — **антиоксидантную систему**. Так появились ферменты, каталаза, супероксиддисмутаза и пероксидаза, составляющие основу антиоксидантной системы организма (АОС). Обитатели океанов, выжившие в палеозойскую эру, содержат огромное количество антиоксидантов в своем организме. В тоже время молекулярный кислород и продукт его полного восстановления — вода, не представляют никакой опасности для клеток.~~

~~Говоря об АФК и процессах свободно-радикального окисления (СРО) в клетках, необходимо подчеркнуть их удивительную распространенность и значимость для организма. В норме АФК необходимы для регуляции фосфолипидного состава мембран клеток, передачи сигнала в клетки, активации путей пролиферации и дифференциации клеток, однако избыток АФК оказывает мембранодеструктивное, цитонатическое и цитостатическое действие. АФК — сенсоры изменения концентрации кислорода в клетке, регуляторы апоптоза, сосудистого тонуса, клеточной пролиферации и роста,~~

посредством АФК осуществляется интеграция между всеми типами клеточных элементов тканей, чувствительность этих клеток к действию стресс-фактора.

В норме в организме всегда имеется баланс АФК и антиоксидантов. За счет ограничивающего действия АОС синтез АФК поддерживается на постоянном низком уровне, необходимом для поддержания физиологических функций. Отклонение интенсивности СРО от стационарного уровня считается универсальным механизмом повреждения мембран клеток, ведет к увеличению их проницаемости и нарушению клеточного гомеостаза. Помимо этого, активные формы кислорода выполняют роль сигнальных молекул, инициируя апоптогенные сигналы и участвуя таким образом в программируемой гибели клеток.

Т.е., продукция АФК постоянно происходящий в организме процесс, физиологически сбалансированный за счет активности эндогенных антиоксидантных систем. При чрезмерном увеличении продукции свободных радикалов вследствие прооксидантных воздействий и/или несостоятельности антиоксидантной защиты развивается *окислительный стресс*, сопровождающийся повреждением белков, липидов и ДНК. Эти процессы значительно усиливаются на фоне снижения активности антиоксидантных систем организма, защищающих клетки и ткани от губительного действия свободных радикалов. В дальнейшем это приводит к развитию главных болезней человечества: атеросклероза, ИБС, сахарного диабета, артериальной гипертензии, иммунодефицитных состояний, злокачественных новообразований и к преждевременному старению.

10.1. Активные формы кислорода в живых системах

В органических молекулах электроны на внешней электронной оболочке располагаются парами — одна пара на каждой орбитали. Свободные радикалы отличаются от обычных молекул тем, что у них на внешней электронной оболочке имеется *неспаренный* (одиночный) электрон.

~~Свободные радикалы~~ — это частицы с неспаренными электронами на внешних атомных орбиталях, отличающиеся высокой реакционной способностью. Неспаренный электрон в радикалах принято обозначать точкой (*). Свободный радикал всегда стремится «украсть» электрон у другой молекулы, окисляя её, чтобы стабилизировать свою собственную структуру. К свободным радикалам относятся активные формы кислорода (АФК, ROS) и азота (АФА, RNS):

~~К активным формам кислорода~~ относятся 6 его производных: атомарный кислород — O , озон — O_3 , синглетный кислород — 1O_2 , супероксидный радикал — $(*OO^{\cdot})$, гидроксильный радикал — HO^{\cdot} и гидропероксидный (перекисный) радикал. Если атомарный кислород и озон не относятся к продуктам жизнедеятельности, то четыре другие активные формы O_2 непрерывно образуются в сложной цепи окислительных реакций живого организма:

Выделяют ~~природные и чужеродные радикалы кислорода~~. Чужеродные радикалы образуются при действии ионизирующей радиации, ультрафиолетового облучения (УФО), а также при обезвреживании ксенобиотиков. Природные радикалы образуются в организме ферментативным путем, их разделяют на ~~первичные и вторичные~~. Первичные: это прежде всего ~~супероксид радикал, нитроксид, семихиноны~~, они образуются в кислородтранспортных системах клетки — митохондриях, микросомах. Вторичные радикалы образуются в результате дальнейших превращений первичных радикалов, а также в ряде других реакций с участием металлов переменной валентности (Fe) из перекиси водорода, гинохлорита и гидроперекисей липидов. Вторичные радикалы ~~гидроксила радикал и радикалы липидов~~ оказывают разрушительное действие на клеточные структуры. Существуют также ~~третичные~~ радикалы — это радикалы антиоксидантов (таблица).

~~Классификация свободных радикалов по Ю.А. Владимирову (2001)~~

ПРИРОДНЫЕ			ЧУЖЕРОДНЫЕ
Первичные	Вторичные	Третичные	
Супероксид (*OO ⁻)	Гидроксилен (*OH)		Радикалы воды и биомолекул (образуются под действием радиации)
Нитроген (*NO)	Радикалы липидов: LO*, L*, LOO*	Радикалы антиоксидантов	Радикалы молекул хромофоров (образуются под действием УФО)
Семикиноны: коэнзим Q (H ₂ Q*), флавосемикиноны			Радикалы токсических веществ (образуются при обезвреживании ксенобиотиков)

Отформатировано: русский

Отформатировано: русский

Отформатировано: русский

Физиологически свободные радикалы кислорода и азота образуются в результате естественных окислительно-восстановительных реакций в электрон-транспортных системах клетки: митохондриях (супероксид-радикал и перекись водорода), микросомах (супероксид-радикал), пероксиосомах (перекись водорода), а также в результате активации НАДФН-оксидазы фагоцитов, T-лимфоцитов (оксид азота, гипохлорит) при иммунном ответе и метаболизме арахидоновой кислоты. Превращения веществ с участием цитохрома P-450 также сопровождаются генерацией АФК (перекисей, гидроксилен-радикала, супероксид-аниона, окиси углерода), образующихся при переносе электронов от НАДФН на кислород. Гемоксигеназа-1 фермент, обеспечивающий цитопroteкцию от АФК: она конкурирует с цитохромом P-450 за связывание НАДФН-цитохром P-450-редуктазой, снижая таким образом цитохром P-450-ассоциированную продукцию АФК. Механизмы контроля гена изоформ цитохрома P-450

~~СУР3А4 и СУР3А7 зависят от экспрессии гена гипоксия-индуцибельного фактора альфа (НФ-1α), они ингибированы при гипоксии, менее выражены у плодов относительно взрослых и различны у взрослых и новорожденных.~~

~~Таким образом, в результате потребления клетками молекулярного кислорода в ходе реакций неизбежно синтезируются его активные формы. Как в митохондриальной, так и в микросомальной системах происходит взаимодействие кислорода с восстановителями, в результате которого образуются свободные радикалы. Физиологический баланс регулируется эндогенной АОС; также имеет значение уровень транскрипции генов: гемоксигеназы I, тиоредоксина, сульфуредоксина, ферритина II, каталитической субъединицы глутаматцистеинлигазы, глутатионсинтетазы.~~

~~10.2. Механизмы образования и обезвреживания АФК, ценной механизм реакций свободно-радикального окисления~~

~~Супероксид-радикал и продукты его метаболизма. Супероксидные радикалы ($^{\bullet}O_2^-$, либо $^*OO^{\bullet}$) образуются при восстановлении молекулярного кислорода ферментом НАДФН-оксидазой: $НАДФН + 2O=O \longrightarrow НАД + 2(^{\bullet}OO^{\bullet})$. Схематически это уравнение выглядит так: $O_2 + e^- \longrightarrow ^{\bullet}OO^{\bullet}$~~

~~Основным продуцентом супероксидрадикала являются клетки фагоциты: в крови это нейтрофилы и моноциты, в тканях макрофаги. Все эти клетки, соприкасаясь с поверхностью клеток бактерий, начинают энергично выделять свободные радикалы, выполняющие антимикробную функцию. Уничтожая микробы, супероксид-радикалы могут нанести вред, как самим фагоцитам, так и другим клеткам крови. Естественно, что все эти клетки стараются избавиться от супероксид-радикалов, для чего они вырабатывают ферменты, называемые супероксиддисмутазами (СОД). Различаясь по строению активного центра и структуре полипептидной цепи,~~

~~Участие супероксидных радикалов в процессе повреждения биологических структур: инициация перекисного окисления липидов, повреждение молекул ДНК, окисление SH-групп белков, инактивация ферментов, деполимеризация полисахаридов не вызывает сомнения. Однако непосредственный повреждающий эффект в большинстве случаев обусловлен значительно более активным **гидроксильным радикалом** и **синглетным кислородом**, образующимися при взаимодействии супероксидных радикалов и перекиси водорода в ходе реакции Габера-Вейса:~~



~~Образование гидроксильных радикалов происходит также в реакции Фентона из H_2O_2 в присутствии ионов металлов переменной валентности: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{HO}^{\cdot}$. Синтез гидроксильных радикалов приводит к печальным последствиям для окружающих клеток, т.к. HO^{\cdot} по праву считается наиболее агрессивным и опасным врагом для органических молекул. Радикал гидроксила чрезвычайно активен химически и разрушает почти любую, встретившуюся ему молекулу. Он почти мгновенно (в течение $7 \cdot 10^{-10}$ с) вступает в реакции с белками, нуклеиновыми кислотами, липидами, разрушая клеточные структуры и способствуя образованию продуктов свободно-радикального окисления — перекисей, альдегидов, кетонов, представляющих собой высокотоксичные соединения. Действуя на SH-группы, гистидиновые и другие аминокислотные остатки белков, HO^{\cdot} вызывает денатурацию последних и инактивирует ферменты. В нуклеиновых кислотах HO^{\cdot} разрушает углеводные мостики между нуклеотидами и, таким образом, разрывает цепи ДНК и РНК, в результате чего происходят мутации и гибель клеток. Внедряясь в липидный слой клеточных мембран, радикал гидроксила запускает реакции цепного окисления липидов, что приводит к повреждению мембран, нарушению их функций и гибели клеток. Окисление Fe^{2+} гемоглобина гидроксил-радикалом интенсифицирует процессы СРО, в результате чего образуется метгемоглобин. Таким образом, радикал HO^{\cdot} — это радикал-разрушитель, радикал-убийца. До сих пор не обнаружено~~

компонента антиоксидантной системы, который бы специфически обезвреживал гидроксил-радикал. Гидроксильный радикал образуется не только в реакциях Габера-Вейса и Фентона. Показано, что радикалы гидроксила образуются также при взаимодействии ионов железа (Fe^{2+}) с гипохлоритом. При этом радикал гидроксила выделяется даже с более высоким выходом, чем в реакции Фентона:



Обобщая, укажем реакции образования гидроксил-радикала:



Генерация супероксидных радикалов усиливается в очагах воспаления при контакте макрофагов с антигеном. Находясь в избытке, супероксидные радикалы могут давать неблагоприятные эффекты, главным образом в результате двух реакций: образования ионов двухвалентного железа (из трехвалентного) и связывание оксида азота. **Оксид азота (NO)** относится к активным формам азота, ещё один тип свободных радикалов, который наиболее интенсивно изучается в последнее время. NO образуется эндотелиальными и гладкомышечными клетками стенок кровеносных сосудов, фагоцитами, нервными и многими другими клетками. Реакция катализируется гемсодержащими ферментами — **NO-синтазами**. **Существуют 3 изоформы NO-синтазы**: nNOS — нейронная — регулирует ангиогенез и ремоделирование, ее активность зависит от ионов Ca^{2+} ; e-NOS — эндотелиальная, также кальций-зависимая, регулирует сосудистый тонус, вазодилатацию; i-NOS — индуцибельная — присутствует в макрофагах и астроцитах, она индуцируется цитокинами, независима от Ca^{2+} . Оксид азота относительно стабилен (время жизни составляет несколько секунд) и

Отформатировано: русский

способен проникать через клеточные мембраны, выступая в качестве вторичного посредника в передаче сигналов. Природный свободный радикал (*NO), выполняет в организме несколько функций. Во-первых, в присутствии соединений, содержащих SH-группы, из NO образуется предшественник выделяемого клетками эндотелия стенок кровеносных сосудов «**фактор расслабления**» (*EDRF* — Endothelium derived relaxing factor), играющий ведущую роль в регуляции тонуса сосудов и кровяного давления. Недостаток «фактора расслабления» приводит к гипертонии, избыток — к гипотонии. Во-вторых, NO выделяется макрофагами крови и тканей и играет роль **противогрибкового фактора**. Полагают, что цитотоксическое действие NO обусловлено его реакцией с супероксидом. Окись азота — весьма реактивное соединение, легко образующее комплексы с окружающими молекулами, например, сывороточным альбумином и гемоглобином. В присутствии кислорода как сама NO, так и ее комплексы постепенно окисляются с образованием нитратов и других соединений. Имеются данные о том, что светочувствительные комплексы NO существуют в тканях и распадаются при освещении. Это приводит к феномену фоторелаксации — расслаблению стенок кровеносных сосудов при освещении в ближней ультрафиолетовой области. Однако какие именно соединения могут распадаться в живой ткани с образованием окиси азота, остается загадкой. При повышении уровня супероксид-радикалов NO входит в реакцию с ними и образует цитотоксический **пероксинитрит**, который вызывает повреждение тканей воспалительного характера:



Пероксинитрит, образующийся в этой реакции, может разлагаться с образованием *OH:



Образование пероксинитрита и радикала гидроксила приводит к повреждению клеток. Хорошо, если повреждающее действие системы (*NO + супероксид) направлено на безвредные микроорганизмы. Плохо, если

оно направлено на свои собственные клетки и ткани. Поэтому в тех участках кровяного русла, где выделяется NO* (как необходимый регулятор кровяного давления), не должно быть супероксидных радикалов. Для этого, в частности, в этих местах синтезируется фермент СОД, который удаляет супероксид. В частности, при гипоксии и при возбуждении N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторов в мозге продукция NO под действием nNOS усиливается, при этом NO-радикал оказывает повреждающее действие на нейронную ДНК, а взаимодействие его с супероксид-радикалом приводит к образованию пероксинитрита и гидроксил-аниона. Супероксид-анион связывает NO-радикал, обладающий вазодилатирующим действием, а образовавшийся в ходе реакции пероксинитрит вызывает вазоспазм. Использование статинов способствует увеличению биодоступности оксида азота и его вазодилатирующего действия, что позволяет снизить периферическую вазоконстрикцию и «обкрадывание» мозга у плода и новорожденных. Некоторые авторы предполагают, что потеря барорефлекторной чувствительности в регуляции сердечного ритма при гипоксии обусловлена избирательной гибелью клеток Nucleus ambiguus под действием пероксинитрита, чем и обусловлена тахикардия.

Железо и многие другие биологически значимые металлы обладают способностью связывать ненарный электрон NO-молекулы. Связывание металлоосодержащих белков с NO приводит к ингибированию ферментов, содержащих гемовое и негемовое железо. При этом угнетение активности цитохромоксидазы, цитохрома P-450, оксидоредуктаз, нитроредуктаз, NOS и других может быть, как обратимым, так и необратимым. Длительная продукция NO, обусловленная скоплением супрессора опухолевого роста 53, приводит к индукции апоптоза. Несмотря на то, что супероксиданион также вызывает индукцию апоптоза, одновременное существование этих двух радикалов в сбалансированной пропорции оказывает перекрестный защитный эффект и апоптоз значительно тормозится. Оксид азота — регулятор дыхания в митохондриях — конкурирует с кислородом за

~~связывание с цитохромом a_2 ионами меди в активном центре цитохромоксидазы. Таким образом NO ингибирует дыхание в митохондриях и, разумеется, синтез АТФ, вызывая потерю мембранного потенциала. Будучи конкурентным ингибитором цитохромоксидазы, конкурируя с кислородом, NO проявляет тем большую токсичность, чем меньше давление кислорода, что имеет место при гипоксии.~~

~~**Семикиноны.** Важными источниками АФК являются радикал коэнзима Q (**семидубинион, *QH**) под действием НАДН-убихинонредуктазы и убихинон-цитохром С-редуктазы, либо при одноэлектронном окислении убихинола QH_2 (гидрохинона), либо при одноэлектронном восстановлении убихинона (Q). В норме этот радикал не более, чем рядовой участник процесса переноса электронов митохондриях, но может стать источником других, менее безобидных вторичных радикалов, а именно радикалов кислорода — супероксида радикала и гидроксила радикала. Общая схема образования и взаимодействия важнейших АФК представлена на рисе~~



~~Рис. Механизм синтеза и взаимодействия АФК.~~

~~**Вторичные радикалы.** Классическим путем образования вторичных свободных радикалов является образование **радикалов липидов** в результате перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот (ЛН), входящих в состав биологических мембран и липопротеинов плазмы крови. Также вторичными могут быть **гидроксила радикал и супероксид радикал.** **Радикалы липидов: липидный радикал жирной кислоты L^* , перекисный радикал LO^* , радикал липоперекиси LOO^* ,** образуются в результате следующих реакций:~~



где LH — ненасыщенная жирная кислота. Липидный радикал (L*) вступает в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом, при этом образуется радикал липоперекиси (LOO*): $\text{L}^* + \text{O}_2 \longrightarrow \text{LOO}^*$. Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипидов с образованием гидроперекиси липида LOOH и нового радикала L*: $\text{LOO}^* + \text{LH} \longrightarrow \text{LOOH} + \text{L}^*$. Существенное ускорение перекисидации липидов наблюдается в присутствии небольших количеств ионов двухвалентного железа. В этом случае происходит разветвление цепей в результате взаимодействия Fe^{2+} с гидроперекисями липидов: $\text{Fe}^{2+} + \text{LOOH} \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^* + \text{LO}^*$. Образующиеся радикалы LO^* инициируют новые цепи окисления липидов: $\text{LO}^* + \text{LH} \longrightarrow \text{LOH} + \text{L}^*$; $\text{L}^* + \text{O}_2 \longrightarrow \text{LOO}^*$ и так далее. Реакции свободно-радикального окисления липидов протекают по цепному механизму, т.е. характеризуются лавинообразным усилением процесса за счет увеличения количества (разветвления) цепей окисления. Выделяют 4 стадии реакции перекисидного окисления липидов: инициирование цепи, продолжение цепи, разветвление и обрыв цепи (рис.)



Рис. Схема цепных реакций СРОЛ.

Высокая уязвимость ненасыщенных жирных кислот в отношении свободных радикалов обусловлена наличием в их составе двойных связей. Энергия разрыва С—Н связи в молекуле жирной кислоты наименьшая у альфа-углеродного атома по отношению к двойной связи. Этим объясняется увеличение перекисидного окисления жирных кислот с увеличением в них числа двойных связей. Дивинилметановая структура, имеющаяся во всех

~~полиненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой, арахидоновой, эйкозопентаеновой и др.), легко вступает в реакцию отрыва атома водорода, что приводит к образованию довольно стойких свободных радикалов, а в присутствии кислорода — к инициированию радикальных цепей, т. е. к протеканию типичных реакций аутоокисления. На первой стадии процесса гидроксильный радикал выбивает протон из $-CH_2-$ группы, расположенной между $-CH=CH-$ группами полиненасыщенных жирных кислот (ЛН). При этом молекула полиненасыщенной жирной кислоты превращается в алкил-радикал жирной кислоты (L^*), в молекуле происходит делокализация двойной связи и появляется система сопряженных двойных связей. Молекулы с двумя сопряженными двойными связями называют *диеновыми конъюгатами*: $R-CH=CH-CH_2-CH=CH_2$. Из диеновых конъюгатов при дальнейшем воздействии на них гидроксильных радикалов образуются *гидроперекиси жирных кислот* мембранных липидов: $ROOH$ ($LOOH$), способствующие появлению в гидрофобном слое мембран гидрофильных «дыр». Реакция диспропорционирования радикалов LO_2^* интересна тем, что она сопровождается свечением — *хемилюминесценцией*: $LO_2^* + LO_2^* \rightarrow L=O + LOH + \text{фотон}$. Обрыв цепей происходит также при наличии в системе «перехватчиков» свободных радикалов (InH): $L^* + InH \rightarrow LH + In^*$. К числу молекул-перехватчиков радикалов относятся витамин E, женские половые гормоны, убихинон, многие другие соединения. Радикалы этих соединений — ингибиторов недостаточно активны, чтобы оторвать атом водорода от молекул жирных кислот, и поэтому не инициируют новых цепей окисления. Образующиеся в реакции радикалы антиоксидантов (In^*) обычно не токсичны и быстро исчезают, например, вследствие взаимодействия друг с другом: $In^* + In^* \rightarrow In-In$. Антиоксидантными свойствами в определённых условиях обладают ионы металлов переменной валентности в восстановленной форме, в частности, ионы Fe^{2+} . Они также способны перехватывать свободные радикалы в одной из следующих реакций:~~

~~Наиболее широко используемая классификация антиоксидантов предусматривает их деление на первичные (обрывающие цепи окисления) и вторичные (предотвращающие инициацию новых цепей). Механизм антиоксидантного действия состоит в удалении свободных радикалов; разрушении гидроперекисей, связывании ионов металлов переменной валентности. Как правило, в действительности имеет место сочетание нескольких механизмов действия, чем и обусловлен эффект антиоксиданта.~~

~~Принято выделять антирадикальную и антиоксидантную активность, которые не являются синонимами. **Антирадикальная активность индивидуального антиоксиданта** (антипероксидальная активность) — свойство, постоянное для каждого антиоксиданта, характеризуемое константой скорости k_7 элементарной реакции взаимодействия пероксильных радикалов с ингибитором при отсутствии побочных реакций радикалов ингибитора. Наибольший вклад в скорость окисления вносят пероксильные радикалы, с которыми ферменты антиоксидантного действия не реагируют и с которыми взаимодействуют только ингибиторы свободно радикальных процессов окисления.~~

~~**Антиоксидантная система организма** предотвращает окислительное повреждение и контролирует его распространение, она включает механизмы, направленные на репарацию, удаление, замещение поврежденных молекул. АОС представлена **ферментативным** (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатион S-трансферазы, церулоплазмин) и **неферментативными** (тиоредоксин, убихинон, α -токоферол и др.) компонентами. Существуют **природные (биологические) и синтетические антиоксиданты**. **Биоантиоксидантами** являются α -токоферол (наиболее мощный антиоксидант), убихинон, биофлавоноиды, стероидные гормоны, витамины А, К, β -каротин, аскорбиновая кислота, серосодержащие соединения — цистеин, глутатион; тироксин, а также белки, связывающие железо: церулоплазмин, гаптоглобин, гемопексин. В группу **синтетических**~~

~~антиоксидантов входят дибунол, фенозаны, оксипиридины. В зависимости от химических свойств различают **водорастворимые** (гидрофильные) и **жирорастворимые** (гидрофобные) антиоксиданты. Жирорастворимые антиоксиданты (α -токоферол, каротиноиды) играют главную роль в защите основных структурных компонентов биомембран, таких, как фосфолипиды и погруженные в липидный слой белки. Водорастворимые антиоксиданты (тиоловые соединения, аскорбиновая кислота), в свою очередь, проявляют защитное действие в водной среде — цитоплазме клетки или плазме крови, инактивируя попадающие туда свободные радикалы. В число **микроэлементов**, обладающих антиоксидантными свойствами, входят селен, цинк, медь, магний и кобальт. Функционирование различных компонентов АОС требует тесного взаимодействия. Суммарное действие всех компонентов антиоксидантной системы получило название суммарной антиокислительной активности организма. Суммарная антиокислительная активность присуща плазме крови и отдельным тканям организма. В зависимости от степени ее выраженности все органы человека можно разделить на 3 группы. I группа — ткани с высоким содержанием фосфолипидов и высокой концентрацией антиоксидантов. В эту группу входит нервная ткань: кора головного мозга, мозжечок, энцефалон, гипофиз, зрительный бугор, спинной мозг, а также легкие. II группа — ткани со средним содержанием фосфолипидов и умеренной концентрацией антиоксидантов. В эту группу входят печень, селезенка, сердце, почки, желудок, щитовидная железа, простата. III группа — ткани с низкой антиоксидантной активностью и низким содержанием фосфолипидов: подкожная жировая клетчатка, мышцы, вилочковая железа, поджелудочная железа.~~

~~**Ферменты антиоксидантной защиты. Супероксиддисмутаза.** СОД катализирует реакцию дисмутации — взаимодействия двух супероксидных радикалов друг с другом, превращая токсичный $\text{O}_2^{\cdot -}$ в менее~~

~~тожеиную перекись водорода. Более 80% активности СОД определяется в цитозоле, а остальные 20% — в органоидах, главным образом, в митохондриях. Активный центр СОД может содержать медь, цинк и марганец, в зависимости выделяют 3 изоформы СОД. Цинк-, медьсодержащая форма фермента состоит из двух идентичных субъединиц, каждая из которых имеет внутри полипептидной цепи сульфгидрильный мостик, одну сульфгидрильную группу и ацетилированную концевую аминокислоту. Марганецзависимая СОД состоит из четырех субъединиц. Полагают, что атомы цинка служат для стабилизации белковой молекулы, а атомы меди непосредственно участвуют в катализе, попеременно восстанавливаясь одним супероксидным радикалом. Самая высокая активность цинк-, медь- и марганецзависимой СОД обнаружена в печени, значительно превышающая активность этого фермента в других органах, в частности, в головном мозге. Резкое снижение активности СОД отмечено в процессе развития гипоксии печени крыс. Возможно, угнетение активности происходит вследствие механизма обратной связи в результате ингибирования фермента избытком субстрата (супероксид-аниона). Поскольку увеличение в клетке концентрации H_2O_2 , образовавшейся в результате супероксиддисмутазной и ряда других реакций, представляет для клетки не меньшую опасность, чем увеличение супероксид-анионов из-за возможности образования гидроксильных радикалов, необходима ее постоянная инактивация в реакции, катализируемой каталазой. Каталаза содержится преимущественно в пероксиосомах, а также в цитозоле и митохондриях. Особенностью фермента является то, что он обладает как каталазной, так и пероксидазной активностью, часть H_2O_2 в клетке разлагается глутатионпероксидазой. Каталаза, как и СОД, относится к числу очень активных ферментов. Она фактически не требует никакой энергии активации и скорость катализируемой ею реакции определяется диффузией H_2O_2 . Одна молекула каталазы способна разложить 44000 молекул H_2O_2 в минуту. Пара супероксиддисмутазы и каталазы — это очень~~

~~мощный антиокислительный тандем, который теоретически исключает возможность протекания свободнорадикальных реакций.~~

~~Важную роль во внутриклеточной регуляции уровня промежуточных продуктов восстановления кислорода играет **глутатионовая система**: **восстановленный глутатион (G-SH)**, **глутатионпероксидаза (ГП)** и **глутатионредуктаза (ГР)**. Эта мощная система непосредственно обезвреживает активные формы кислорода, либо, как вторая линия обороны организма (после микросомальных ферментов и СОД), дополняет и завершает работу первой линии или исправляет ее ошибки. **Восстановленный глутатион (G-SH)** является трипептидом γ -глутамилцистеинилглицином. Он содержит в своем составе активную SH-группу, способную отщеплять атом водорода. Эффект G-SH может быть опосредован восстановлением некоторых «тушителей» активных форм кислорода, в частности аскорбата и токоферола, а также клеточных белков, являющихся основной мишенью для активных форм кислорода. SH-группы глутатиона окисляются гораздо легче, чем SH-группы в белковых молекулах, защищая тем самым белки от окислительной модификации. Глутатион способен также с высокой скоростью реагировать со свободными радикалами, превращаясь при этом в присутствии кислорода в окисленную форму.~~

~~Поскольку концентрация кислорода в клетках сопоставима с содержанием G-SH, имеет место быстрое образование **пероксирадикалов**. В этом случае функция G-SH сводится к участию в реакции инактивации перекисных соединений, катализируемой **глутатионпероксидазой**:~~



~~Глутатионпероксидаза способна восстанавливать перекись водорода, гидроперекиси ненасыщенных жирных кислот, холестерина, кортикостероидных гормонов, переокисленную ДНК, промежуточные продукты биосинтеза простагландинов. Биосинтез ГП в тканях зависит от~~

Отформатировано: русский

~~наличия селена, входящего в активный центр фермента. Наибольшая активность ГП обнаружена в печени. При этом 60% активности приходится на цитозольную фракцию энзима, 28% — на митохондриальную, а на микросомальную и лизосомальную — лишь 2%. В механизме антиокислительного действия фермента лежит ее строгая специфичность к восстановленному глутатиону и отсутствие специфичности к перекисным субстратам. Присоединение восстановленного глутатиона к некоторым экзогенным и эндогенным веществам, в частности, к гидроперекисям ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов мембранных структур, в результате реакции, катализируемой глутатион-S-трансферазой, приводит к детоксикации их с последующим выведением из организма. Образующийся при окислении G-SH глутатиондисульфид, обычно присутствует в клетках в гораздо более низких концентрациях ($6 \cdot 10^{-6}$ — $200 \cdot 10^{-6}$ М), чем восстановленный глутатион ($1 \cdot 10^{-4}$ — $50 \cdot 10^{-4}$ М), однако колебание его концентрации может оказаться критическим для регуляции некоторых физиологических процессов. Поэтому происходит непрерывное восстановление его в результате реакции, катализируемой глутатионредуктазой:~~



~~Глутатионредуктаза (ГР) представляет собой флавопротеид с молекулярной массой 102000-250000 (в зависимости от источника выделения). Молекула фермента состоит из 2 субъединиц с молекулярной массой 44000 и 60000, содержащих по одной молекуле ФАД. Активность энзима снижается при недостаточном поступлении рибофлавина с пищей. Несмотря на то, что ГР не является лимитирующим звеном в цепи ферментов, поддерживающих глутатиондисульфидное равновесие, торможение ее in vivo может оказать влияние на эффективность инактивации перекисных соединений. Восстановленный глутатион играет важную роль в детоксикационных механизмах, происходящих в печени, изменение уровня его в эритроцитах обладает высокой информативностью при оценке~~

Отформатировано: русский

активности патологического процесса и может служить критерием эффективности фармакотерапии. Примечательно, что эффективность реакции восстановления глутатиондисульфида в значительной мере зависит от скорости восстановления образующегося НАДФ. Этот процесс осуществляется в результате реакций, катализируемых ферментами **пентозофосфатного** шунта (пентозофосфатного) пути обмена углеводов. Скорость реакций окислительной ветви последнего, ответственных за генерацию НАДФН, лимитируется активностью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (Г-6-ФДГ), а реакции пентозного цикла в целом являются лимитирующим звеном в цепи процессов, поддерживающих глутатиондисульфидное равновесие. Интенсификация СРО приводит к активации в клетке не только ферментов АОС, но и ферментов пентозофосфатного пути.

Функционирование различных компонентов АОС требует тесного взаимодействия с другими системами клеточного метаболизма. Для работы системы репарации липидов требуется постоянное наличие в клетке резервного пула жирных кислот, связанных с коферментом А. Важную роль играет также митохондриальная система регенерации токоферолов.

Биоантиоксиданты. α -Токоферол (витамин Е) — важнейший жирорастворимый антиоксидант, расположенный в клеточной мембране. α -Токоферол содержит фенольное кольцо с системой сопряженных двойных связей, поэтому он легко отдает электрон свободным радикалам, восстанавливая их до стабильных продуктов. **Феноксил-радикал**, который при этом образуется, сам по себе достаточно стабилен и в продолжении цепи не участвует. Преимущества витамина Е перед другими антиоксидантами состоят в том, что он обладает наибольшей мощностью антиоксидантного действия. Эффективность действия α -токоферола обусловлена, во-первых, его исключительно высокой антирадикальной активностью за счет способности вступать в непосредственное взаимодействие со свободными радикалами и, во-вторых, способностью стабилизировать липидный бислой

мембран путем образования прочных комплексов с полиненасыщенными жирными кислотами мембранных липидов. Взаимодействие альфа-токоферола со свободными радикалами осуществляется по уравнению $\text{ROO}^\bullet + \text{InH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{In}^\bullet$, где витамин E (In) выступает в качестве донора водорода. Константа скорости этой реакции имеет порядок 10^6 л/моль·с, что на 1-2 порядка выше, чем для других антиоксидантов. Это придает токоферолам определенную уникальность в процессах регуляции ПОЛ, т.к. при столь высокой эффективности их взаимодействия с перекисными радикалами даже незначительное количество ингибитора (т.е. токоферола) будет оказывать существенное влияние на скорость окисления. С синглетным кислородом α -токоферол реагирует двумя путями: физически (тушение) и химически с образованием очень нестабильного гидропероксиданиона. Тушение синглетного кислорода α -токоферолом является доминирующим процессом. Взаимодействие с супероксид-радикалом приводит к образованию хроманоксильных радикалов, протекает медленно и в живых системах лимитируется малой доступностью витамина E в липидном биослое для супероксид-радикала. Образующиеся в результате взаимодействия α -токоферола с активными формами кислорода продукты хиноновой структуры могут осуществлять акцептирование избыточного числа электронов с компонентов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). В этом случае ингибирующее действие токоферола может реализоваться как вследствие конкуренции за восстановленные эквиваленты ЭТЦ — генераторы активных форм кислорода, так и за счет собственно антирадикального действия, что особенно существенно для клеточных структур, лишенных ферментных систем защиты от O_2^\bullet .

Примечательно, что токоферолы, обладающие максимальной антирадикальной активностью, нередко имеют низкие антиоксидантные свойства, вследствие высокой реакционной способности образующихся хроманоксильных *радикалов*. Однако при наличии в системе веществ, способных выводить токоферил-радикалы из сферы реакции или

~~восстанавливать окисленные формы токоферола, наблюдается увеличение антиоксидантной активности. Например, в присутствии аскорбиновой или лимонной кислот хроманоксильные радикалы восстанавливаются в исходный токоферол, что поддерживает его стационарный уровень, предотвращает образование токсического токоферилхинона, обладающего повреждающим действием на белки. Окисленная аскорбиновая или лимонная кислота далее восстанавливается под действием глутатиона, который переходит в окисленную форму, но быстро регенерируется под влиянием глутатионредуктазы с участием восстановленного НАДФН. Такая система циклов регенерации исключает побочные реакции токоферил радикала, обуславливая не только высокую антирадикальную, но и антиоксидантную активность α -токоферола. Регенерация токоферил радикалов и токоферилхинона в токоферолы и токотриенолы происходит также с участием биофлавоноидов, глутатиона, восстановленной лимонной кислоты, убихинона, лецитина и других фосфолипидов, карнозина, ансерина, β -каротина, витамина К. Использование витамина Е с указанными восстановителями обладает выраженным синергизмом действия. Важную роль играет также митохондриальная система регенерации токоферолов.~~

~~Стабилизация липидной структуры мембранного белка под действием витамина Е достигается за счет того, что он способен специфически физико-химически взаимодействовать своей фитильной боковой цепью с жирными кислотами. Результатом такого взаимодействия является упорядочение жидкокристаллической структуры липидного матрикса мембран и более плотная упаковка углеводородных цепей, что ведет к изменению микровязкости гидрофобной зоны мембраны. В случае дефицита витамина Е микровязкость мембран достоверно снижается.~~

~~При введении α -токоферола происходит изменение проницаемости мембран клеток для определенных субстратов, следствием чего является изменение окислительно-восстановительного потенциала клетки. Так, под~~

~~влиянием витамина Е увеличивается содержание НАДФН и уменьшается отношение НАДН/НАДФН и НАД⁺/НАДН. Возможно, это обусловлено изменением активности глутаматдегидрогеназы (ГДГ), АЛТ и АСТ, регулирующих соотношение НАД⁺/НАДН, а также активацией НАД-киназы, катализирующей синтез НАДФН. Кроме того, витамин Е стимулирует синтез убихинонзависимых ферментов, основная роль которых «разгрузка» клеток от Н⁺ и е⁻. Дефицит α-токоферола сопровождается ростом активности ферментов гликолиза с увеличением образования Н⁺ и е⁻, что морфологически выражается гипертрофией митохондрий при уменьшении саркоплазматического ретикулума, а также уменьшением микровязкости мембран и активацией процессов ПОЛ в клетке, что приводит к дезинтеграции метаболических процессов. Мембранотропные эффекты витамина Е не только поддерживают необходимую плотность упаковки фосфолипидов, ограничивают доступ кислорода к ацильным цепям, препятствуют синтезу перекисных радикалов, но и обеспечивают условия для выполнения в биомембранах антиоксидантной функции. Как антиоксидант витамин Е действует наиболее эффективно вместе с другими компонентами.~~

~~К числу основных направлений исследования эффектов α-токоферола и других компонентов витамина Е относятся: а) изучение способности альфа-токоферола и других компонентов витамина Е прерывать свободнорадикальные цепи, непосредственно реагировать со свободными радикалами, превращая их в более стабильные соединения, лишенные неспаренного электрона, что приводит к снижению интенсивности окислительного стресса в клетках и к предотвращению окислительных повреждений молекул; б) изучение модуляции альфа-токоферолом и другими компонентами витамина Е процессов трансдукции сигналов в клетках и генной экспрессии, их не антиоксидантных и антиоксидантных эффектов, связанных с модуляцией сигнальных систем.~~

~~Т.о., благодаря своей липофильности, локализуется во всех биологических мембранах, а токоферол оказывает влияние как на антиокислительную активность липидов, так и на их структурное состояние, являющееся центральными звеньями в цикле липопероксидации. Обнаружено ингибирующее влияние α-токоферола на процессы апоптоза, рассматриваемого как механизм поддержания гомеостаза. Исследуется участие α-токоферола в реализации клеточного иммунитета, процессах канцерогенеза. Всё чаще обсуждается вопрос о его неантиоксидантных свойствах: показано участие α-токоферола и его комплекса с токоферол-связывающими белками на синтез РНК в изолированных ядрах и субъядерных структурах аналогично действию стероидных гормонов. Установлена способность α-токоферола влиять на активность ферментов, связанных с обменом арахидоновой кислоты, синтезом простагландинов и лейкотриенов. Сочетание витаминов Е и С позволяет осуществить защиту клетки по аддитивному механизму: аскорбиновая кислота — в водной среде, прилегающей к биомембране, а токоферол — в липидном слое. Показано положительное влияние этого комплекса на толерантность к алло- и аутоантигенам. Синергизм прослеживается также в тройных и более сложных системах: витамин Е — витамин С — селен; витамин Е — витамин А — селен; убихинон — витамин Е — витамин А — биофлавоноиды. В многокомпонентных природных антиоксидантных системах скорость распада компонентов различна и зависит от условий.~~

~~**Биофлавоноиды** — большая группа полифенолов, которые содержатся в водных экстрактах различных растений. Некоторые биофлавоноиды действуют как ловушки гидроксил-радикала (катехин, эпикатехин, рутин). Другие (кверцетин) не снижают содержание гидроксила, зато ингибируют продукцию супероксиданион-радикала (СОД-подобная активность). Третьи (морин) не влияют ни на гидроксила, ни на супероксиданион-радикал, но, тем не менее, проявляют высокую антиоксидантную активность.~~

~~**Каротиноиды** — красные и оранжевые растительные пигменты. Относятся к жирорастворимым антиоксидантам. Наиболее известен β-каротин, который является предшественником витамина А. Все каротиноиды в той или иной степени являются ловушками синглетного кислорода. Каротиноиды содержатся в красных и оранжевых фруктах и овощах, а также, соответственно, в их масляных экстрактах и некоторых маслах. Наиболее богато каротиноидами масло облепихи, шиповника, пальмовое масло.~~

~~**Убихинон (коэнзим Q)** — фенол, по химической структуре близок к токоферолам. При отсутствии высоких концентраций убихинона в мембранах обеспечивает антиоксидантное действие CoQ10, прямую реакцию с радикалами и регенерацию токоферола. Убихинон обладает высокой антиоксидантной активностью, причем его эффективность в пять раз выше, чем у витамина Е. Это весьма существенно для митохондрий, где идут активные окислительные процессы и постоянно образуются свободные формы кислорода. Показано, что коэнзим Q10 не обладает собственным мутагенным эффектом, не потенцирует действие ряда мутагенов — ксенобиотиков, в реализации цитогенетических эффектов которых ведущая роль связана с процессами свободно-радикального окисления. Антимутагенная активность коэнзима Q10 проявляется в широком диапазоне концентраций, для данного антиоксиданта отсутствует возможность инверсии защитного действия, что составляет его очевидные преимущества по сравнению с другими антиоксидантами.~~

~~**Порфирины** — билирубин проявляет антиоксидантные свойства за счет способности выступать в роли комплексообразователя, ингибирующего металло-зависимые реакции СРО за счет связывания катионов металлов переходной валентности, а также донора протона.~~

~~**Церулоплазмин** — является белком плазмы крови (гликопротеин α-глобулиновой фракции), выполняющий в организме ряд важных биологических функций; повышает стабильность клеточных мембран,~~

участвует в иммунологических реакциях, ионном обмене, оказывает антиоксидантное действие, стимулирует гемопоэз.

Минероэлементы, обладающие антиоксидантными свойствами, представлены селеном, цинком, медью, магнием и кобальтом. Селен играет исключительную роль в антиоксидантной системе, т.к. он входит в активный центр глутатионпероксидазы и участвует в биосинтезе глутатиона. Установлено, что селеноаминокислоты селенметионин, селениметионин обладают радиопротекторным действием, уменьшая число свободных радикалов, нарушающих активность и свойства ферментов и аминокислот, возникающие при действии ионизирующей радиации. Селен, вводимый в организм перед облучением, благодаря обрыву цепи неуправляемых окислительных реакций, предотвращает разрушение лизосом и выход из них протеолитических ферментов. Среди главных биохимических функций селена в организме выделяют следующие: 1) участие в функционировании системы оксидазы α -кетоглутаровой кислоты; 2) катализ окисления α -кетоглутаровой и пировиноградной кислот в цикле Кребса; 3) связь с процессами фосфорилирования путем влияния на активность неспецифических фосфатаз и АТФ-азы; 4) антиоксидантная активность.

Фундаментальное понимание проблемы окислительного стресса послужило основой для разработки широкого спектра антиоксидантных препаратов.

Синтетические антиоксиданты.

Ионол (2,6-дитретбутил-4-метилфенол, бутилгидрокситолуол, дибунол) является жирорастворимым экранированным фенолом. Его окисленная форма представляет радикал, стабилизированный двумя боковыми третбутильными группировками, а поэтому более стабильный, чем у токоферолов. Ионол успешно применяется для профилактики острых ишемических повреждений органов и постинемических расстройств. Он высоко эффективен при лечении лучевых и трофических поражений кожи и слизистых оболочек, успешно используется в терапии больных дерматозами,

~~способствует быстрому заживлению язвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки. При дозировках 20-50 мг/кг показано его достаточно выраженное противоишемическое, противогингивальное и ангиопротекторное действие.~~

~~Механизм действия другого экранированного фенола — пробуккола — обусловлен торможением перекисного окисления липопротеидов низкой плотности, что значительно снижает их атерогенность. Показано антиатерогенное действие пробуккола у больных сахарным диабетом.~~

~~Фенольным АО последнего поколения является препарат олифен, в молекуле которого представлены более 10 фенольных гидроксильных групп, способных обеспечить связывание большого числа АФК. Препарат обладает выраженным пролонгированным антиоксидантным действием, способствуя активации микроциркуляции и обменных процессов в организме, в том числе в тканях мозга, в том числе за счет своего выраженного мембранопротекторного действия.~~

~~Фенозаны (K^+ или Li^+ соли 4-гидрокси-3,5-дитретбутилфенилпропионовой кислоты) синтезированы в ИХФ РАН, являются водорастворимыми производными ионола. Фенозан калия — пространственно экранированный фенол — сильный антиоксидант, влияющий на структуру и функции мембран.~~

10.4. Токсическое действие продуктов пероксидации биомолекул

~~Избыточная генерация АФК и АФА вызывает окислительный стресс (ОС) и накопление таких токсичных веществ, как ацилгидроперекиси липидов (первичные продукты), окисленные фосфолипиды, малоновый диальдегид, 4-гидрокси-2-ноненаль (продукт окисления омега-6 жирных кислот), 4-гидрокси-2-гексеналь (продукт окисления омега-3 жирных кислот), акролеин, альдегид фосфатидилхолина (1-пальмитоил-2-(9-оксононаноил) фосфатидилхолин), гидроперекиси фосфолипидов, способных мигрировать через мембраны с высокой скоростью и оказывать повреждающий эффект. Триеновые конъюгаты, шиффовы основания и~~

~~продукты рекомбинации липидных радикалов способны откладываться в клетках в виде липофусцинового пигмента.~~

~~Образование 1-пальмитоил-2-(9-оксононанонил)-фосфатидилхолина происходит под действием липооксигеназ в присутствии гемопroteинов — метгемоглобина, цитохрома *c*. При этом гемопroteины участвуют как в образовании поеналей и альдегидов фосфатидилхолина (ФХ), так и в их распаде.~~

~~В настоящее время получены данные, свидетельствующие о том, что при повреждении белков под действием АФК возникает ряд окисленных продуктов — образуются долгоживущие радикалы белков (ДЖРБ), время полужизни которых достигает свыше 20 ч., они могут длительное время генерировать АФК в водном окружении *in vitro*. Наличие ДЖРБ может быть причиной длительного протекания окислительного стресса и повреждений ДНК *in vivo* с образованием микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга у крыс и мышей.~~

~~АФК также способны модифицировать углеводы — глюкозу с образованием альдегидов: глиоксаля, метилглиоксаля, глюкозона, сходных по строению с малоновым диальдегидом и 4-гидрокси-2-алкеналем. Обнаружено, что при автоокислении глюкозы образуется супероксид-радикал.~~

~~МДА вступает во взаимодействие с молекулами нуклеиновых кислот — пуриновыми основаниями, индуцируя образование различных аддуктов — пиримидино-1,2- α -пурин-10(3Н) — деоксирибозы (М1Г). Этот опасный метаболит способен вызывать мутации со сдвигом рамки в микробных и животных клетках. МДА способен реагировать с Г, А, Ц основаниями в составе ДНК с образованием аддуктов М1Г, М1А, М1Ц, которые можно обнаружить с частотой 1,2 аддукта на 10^6 нуклеозидов — т.е. 6000 аддуктов на 1 клетку. В составе ДНК можно обнаружить гидроксипропан-~~

~~деожигуанозин, образующийся в результате реакции ДНК с акролеином и кротондальдегидом, генерируемых в результате липопероксидации.~~

~~Есть сведения о способности МДА инициировать образование ДНК-белковых сшивок (между ДНК и гистонами), при этом МДА сначала связывается с белком. МДА реагирует *in vitro* с первичными аминами с образованием с N-2-пропеналя-лизина и может генерировать лизин-лизинные мостики. Эта реакция наблюдается в апо-В фракции окисленных липопротеинов и имеет значение для их атерогенности.~~

~~МДА взаимодействует с коллагеном, образуя внутримолекулярные сшивки, что нарушает структуру коллагена сосудистой стенки.~~

~~Гидроксиноненаль способен взаимодействовать с сульфгидрильными группами цистеина, имидазольным кольцом гистидина, с аминогруппой лизина, восстанавливать остатки липоевой кислоты в составе белков, образуя ковалентно-модифицированные белки с нарушенной функцией. Гидроксиноненаль реагирует с первичными аминами и сульфгидрильными группами, модифицируя белки, в том числе ковалентно модифицирует интегральные мембранные белки. Инкубация МХ с 4-гидрокси-2-ноненалем вызывает быстрое снижение интенсивности дыхания в 3-ем комплексе дыхательной цепи. ГНЕ оказывает сильное влияние на пути сигнальной трансдукции.~~

~~Переключатель водорода вовлечена в активацию как ядерных, так и митохондриальных генов, в том числе, контролирующих биогенез МХ, транскрипцию и репликацию митохондриального генома. Мутации МХ генов, кодирующих I, III, IV, V ферментативные комплексы способствуют развитию рака, включение фрагментов МХ ДНК в состав ядерной ДНК — один из возможных механизмов онкогенеза.~~

4.5. Окислительный стресс в патогенезе заболеваний

~~Патогенетически значимый окислительный стресс установлен при заболеваниях сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, ишемия/реперфузия; рестеноз, гипертензия); злокачественных и воспалительных заболеваниях (синдром острой дыхательной недостаточности, астма, воспалительные заболевания кишечника, глаз, кожи, артриты); при метаболических заболеваниях (сахарный диабет); патологии центральной нервной системы (боковой амиотрофический склероз, болезнь Альцгеймера, Паркинсонизм, инсульт, хроническая ишемия мозга); при эндотоксемиях, нарушениях иммунной системы, катаракте, дегенеративных поражениях сетчатки, раке, старении, гломерулонефрите, трансплантации почек.~~

~~Окислительный стресс составляет основу патогенеза микробного поражения, воспаления, гипоксии, а также ряда неотложных состояний: сепсис, острый респираторный дистресс-синдром, ДВС, синдром полиорганной недостаточности.~~

~~Интенсивность окислительного стресса в организме может быть оценена по следующим параметрам:~~

- ~~5) — уровню окисления ДНК (8-гидрокси-2-дезоксигуанозин);~~
- ~~6) — уровню активности антиоксидантных ферментов — СОД, каталазы, глутатионпероксидазы;~~
- ~~7) — по уровню низкомолекулярных антиоксидантов — мочевой кислоты, глутатиона, флавоноидов, катехинов, витамина С, Е, β-каротина;~~
- ~~8) — по количеству ТБК-АП (продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой) и модифицированных остатков тирозина в белках.~~

Глава 13.

БИОХИМИЯ МЫШЦ

~~Мышцы или мускулы (от лат. *musculus* — мышца) — часть опорно-двигательного аппарата в совокупности с костями организма, способная к сокращению. Предназначены для выполнения различных действий: движения тела, поддержания позы, сокращения голосовых связок, дыхания. Мышцы состоят из упругой, эластичной мышечной ткани, которую, в свою очередь, представляют клетки миоциты (мышечные клетки). Мышцы способны сокращаться под влиянием нервных импульсов. Для мышц характерно утомление, которое проявляется при интенсивной работе или нагрузке.~~

~~Мышцы позволяют менять положение частей тела в пространстве. Человек выполняет любые движения — от таких простейших, как моргание~~

~~или улыбка, до тонких и энергичных, какие мы наблюдаем у ювелиров или спортсменов — благодаря способности мышечных тканей сокращаться. От неправильной работы мышц, состоящих из трёх основных групп, зависит не только подвижность организма, но и функционирование всех физиологических процессов. Работой всех мышечных тканей управляет нервная система, которая обеспечивает их связь с головным и спинным мозгом и регулирует преобразование химической энергии в механическую.~~

~~Химический состав мышц колеблется в зависимости от вида и возраста животного, типа и функционального состояния М. и ряда др. факторов. Основные вещества, входящие в состав поперечнополосатых М. человека и животных, и их содержание (в % к сырой массе) представлены ниже:~~

Вода.....	72 — 80
Плотные вещества.....	20 — 28
В том числе:	
Белки.....	16,5 — 20,9
Гликоген.....	0,3 — 3,0
Фосфатиды.....	0,4 — 1,0
Холестерин.....	0,06 — 0,2
Креатин + креатинфосфат.....	0,2 — 0,55
Креатинин.....	0,003 — 0,005
АТФ.....	0,25 — 0,4
Карнозин.....	0,2 — 0,3
Карнитин.....	0,02 — 0,05
Анзерин.....	0,09 — 0,15
Свободные аминокислоты.....	0,1 — 0,7
Молочная кислота.....	0,01 — 0,02
Зелла.....	1,0 — 1,5

~~В среднем около 75% сырой массы М. составляет вода. Основное количество плотных веществ приходится на долю белков. Различают белки~~

~~миофибриллярные (сократительные) — миозин, актин и их комплексы — актомиозин, тропомиозин и ряд так называемых минорных белков (а и в-актинины, тропонин и др.), и саркоплазматические — глобулины X, миогены, дыхательные пигменты, в частности миоглобин, нуклеопротеиды и ферменты, участвующие в процессах обмена веществ в М. Из др. соединений важнейшими являются эстративные, принимающие участие в обмене веществ и осуществлении сократительной функции М.: АТФ, фосфокреатин, карнозин, анзериин и др.; фосфолипиды, играющие важную роль в образовании клеточных микроструктур и в обменных процессах; безазотистые вещества: гликоген и продукты его распада (глюкоза, молочная кислота и др.), нейтральные жиры, холестерин и др.; минеральные вещества — соли K, Na, Ca, Mg. Гладкие мышцы существенно отличаются по химическому составу от поперечнополосатых (более низкое содержание контрактальных белков — актомиозина, макроэргических соединений, динуклеотидов и др.). В скелетной мышце выделяют сухожильную головку, которой мышца начинается на кости, мышечное брюшко, состоящее из волокон, и сухожильный хвост, которым мышца заканчивается на другой кости.~~

~~Мышечное волокно — структурная единица мышцы. Известны три типа мышечных волокон: белые быстро сокращающиеся (VT), промежуточные (FR) и медленно сокращающиеся (ST). Биохимически они различаются механизмами энергетического обеспечения мышечного сокращения. Их иннервируют разные мотонейроны, чем обусловлены неодновременность включения в работу и различная скорость сокращения волокон. Разные мышцы имеют разное сочетание типов волокон.~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~Каждая мышца состоит из нескольких тысяч мышечных волокон, объединяемых соединительными прослойками и такой же оболочкой. Мышца представляет собой многокомпонентный комплекс. Чтобы разобраться в строении мышцы следует изучить все уровни ее организации и структуры, входящие в ее состав (схема 6).~~



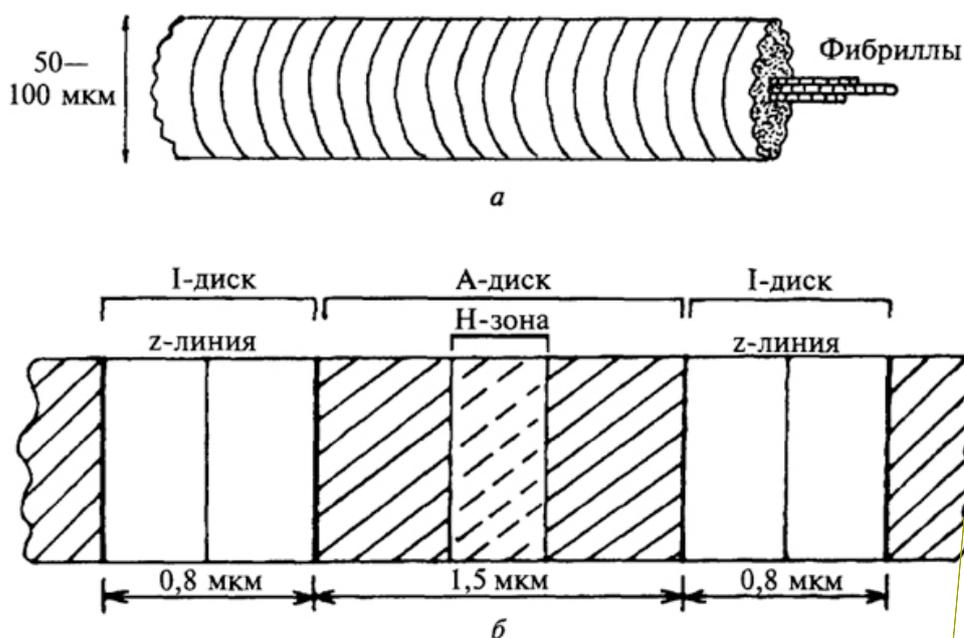
Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~Схема 6. Уровни структурной организации мышцы~~

~~Строение мышечного волокна. Мышечные волокна построены из продольно расположенных **миофибрилл** диаметром около 1 мкм, в которых видны чередующиеся темные и светлые диски. Темные диски обладают двойным лучепреломлением и называются~~

~~**A** (анизотропными) дисками; светлые диски, необладающие двойным лучепреломлением, называются **I** (изотропными) дисками (рис. 29). В середине диска **I** расположена плотная линия **Z**, которая пронизывает все волокно, как бы удерживая миофибриллы в пучке и одновременно упорядочивая расположение **A** и **I** дисков многих миофибрилл. Пучок миофибрилл от одной до другой **Z** линии называется **саркомером**. Диски **A** имеют в середине более светлую полосу — зону **H**, пересекемую более темной **M** зоной. В одной миофибрилле может содержаться до 1000—1200~~

саркомеров. Каждый саркомер включает: 1) сеть поперечных трубочек, ориентированных под углом 90° к продольной оси волокна и соединяющих ее наружную поверхность клетки; 2) саркоплазматический ретикулум, составляющий 8–10% объема клетки; 3) несколько митохондрий.

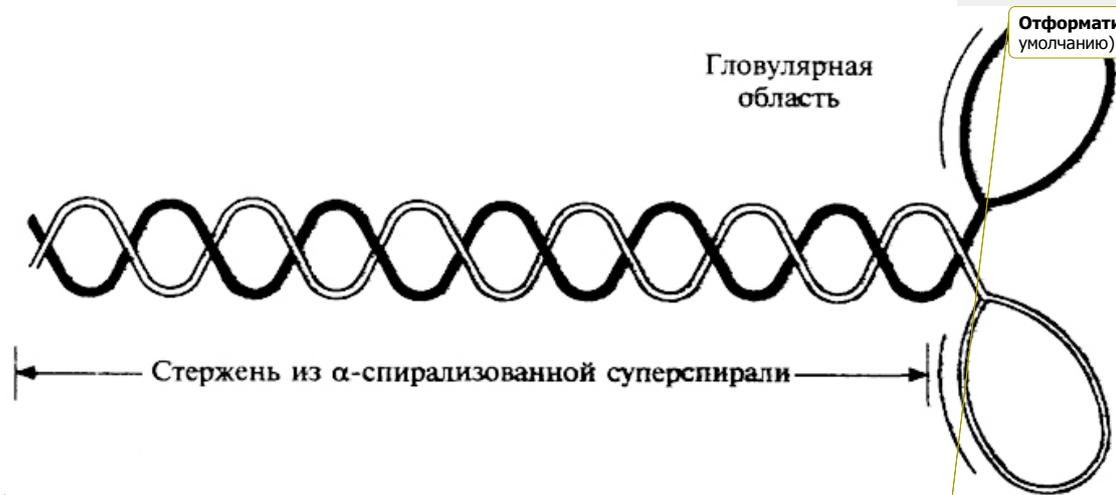


Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Структура мышцы на разных уровнях организации: а — мышечное волокно; б — расположение миофибриллы в покоящейся мышце

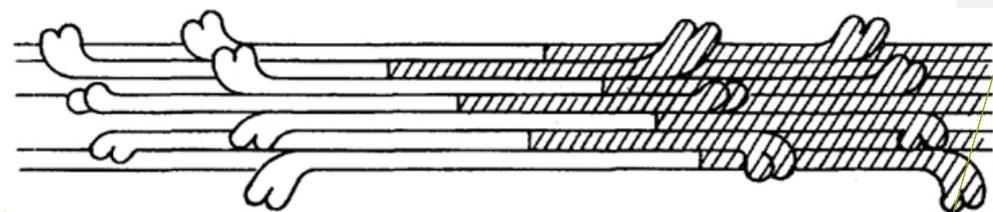
Мультифибрилярные структуры представляют собой агрегаты, состоящие из толстых филаментов диаметром около 14 нм и из расположенных между ними тонких филаментов диаметром 7–8 нм. Филаменты располагаются таким образом, что тонкие входят своими концами в промежутки между толстыми. Диски I состоят только из тонких филаментов, а диски А — из филаментов двух типов. Зона Н содержит только толстые филаменты, линия Z крепляет тонкие филаменты между собой. Между толстыми и тонкими филаментами расположены поперечные мостики (снейки) толщиной около 3 нм; расстояние между этими мостиками 40 нм.

~~Толстые филаменты состоят из белка **миозина**. Общая структура миозина показана на рисунке 30. Палочковидная молекула миозина состоит из двух идентичных основных цепей (по 200 кДа) и четырех легких цепей (по 20 кДа), общая масса миозина около 500 кДа. Миозин состоит из глобулярной, образующей две головки, части, присоединенной к очень длинному стержню. Стержень представляет собой двухцепочечную α -спирализованную суперспираль.~~



~~Рис. 30. Схематическое изображение молекулы миозина~~

~~Молекулы миозина объединяются, образуя филаменты, состоящие примерно из 400 палочковидных молекул, связанных друг с другом таким образом, что пары головок миозиновых молекул ложатся на расстоянии 14,3 нм друг от друга; они располагаются по спирали (рис. 31). Миозиновые нити сближаются "хвост к хвосту".~~



~~Упаковка миозиновых молекул при образовании толстого филамента~~

~~**Миозин выполняет три биологически важные функции:**~~

~~• При физиологических значениях ионной силы и pH молекулы миозина спонтанно образуют волокно.~~

~~• Миозин обладает каталитической активностью, т.е. является ферментом. В 1939 г. В.А. Энгельгардт и М.Н. Любимова обнаружили, что миозин способен катализировать гидролиз АТФ. Эта реакция является непосредственным источником свободной энергии, необходимой для мышечного сокращения.~~

~~• Миозин связывает полимеризованную форму актина — основного белкового компонента тонких миофибрилл. Именно это взаимодействие, как будет показано ниже, играет ключевую роль в мышечном сокращении.~~

~~Тонкие филаменты состоят из актина, тропомиозина и тропонина. Основным компонентом тонких филаментов является **актин** — водорастворимый глобулярный белок с молекулярной массой 42 кДа; эта форма актина обозначается как G-актин. В мышечном волокне актин находится в полимеризованной форме, которая обозначается как F-актин. Тонкие филаменты мышцы образованы двунитчатыми актиновыми структурами, связанными между собой нековалентными связями.~~

~~**Тропомиозин** представляет собой палочкообразную молекулу с молекулярной массой 70 кДа, состоящую из двух разных α -спиральных полипептидных цепей, закрученных относительно друг друга. Эта сравнительно жесткая молекула располагается в желобке спиральной цепочки F-актина; ее протяженность соответствует 7 G-актиновым мономерам.~~

~~Третий компонент тонких филаментов — **тропонин** (Тп), молекулярная масса которого около 76 кДа. Он представляет собой сферическую молекулу, состоящую из трех разных субъединиц, получивших название в соответствии с выполняемыми функциями: тропомиозинсвязывающей (Тп-Т),~~

~~ингибирующей (Тн-І) и кальцийсвязывающей (Тн-С). Каждый компонент тонких филаментов соединяется с двумя другими нековалентными связями:~~

~~В мышце, где все рассмотренные компоненты собраны вместе в тонком филаменте (рис. 32), тропомиозин блокирует присоединение миозиновой головки к находящемуся рядом F-актиновому мономеру. Кальций, связываясь с Тн-С, значительно изменяет конформацию белка, увеличивая степень взаимодействия между субъединицами тропонина и одновременно ослабляя связь между Тн-І и F-актином. Это приводит к перемещению молекулы тропомиозина по желобку тонкого филамента. Результатом такого движения является открытие миозинсвязывающего центра на поверхности актина:~~



~~Взаиморасположение тропомиозина, тропонина и актина в тонком филаменте мышцы. Актин-тропомиозин-тропонин-миозиновый комплекс характеризуется как Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза.~~

~~Мышечное волокно состоит из клеток, окруженных электровозбудимой мембраной — сарколеммой, которая, как и любая другая мембрана, имеет липопротеиновую природу (толщина бимолекулярного слоя около 10 нм). Сарколемма отгораживает внутреннее содержимое мышечного волокна от межклеточной жидкости. Подобно другим мембранам, сарколемма имеет избирательную проницаемость для различных веществ. Через нее не проходят высокомолекулярные вещества (белки, полисахариды и др.), но проходят глюкоза, молочная и пировиноградная кислоты, кетоновые тела, аминокислоты и короткие пептиды.~~

~~Перенос через сарколемму носит активный характер (осуществляется с помощью посредников), что позволяет накапливать внутри клетки некоторые вещества в большей концентрации, чем снаружи. Избирательная проницаемость сарколеммы играет большую роль в возникновении возбуждения в мышечном волокне. Сарколемма проницаема для катионов калия, которые накапливаются внутри мышечного волокна. В то же время она содержит "ионный насос", выводящий из клетки катионы натрия. Концентрация катионов натрия в межклеточной жидкости выше, чем концентрация катионов калия внутри клетки; кроме того, во внутренних зонах волокна содержится значительное количество органических анионов. Все это приводит к возникновению на наружной поверхности сарколеммы избытка положительных, а на внутренней — отрицательных зарядов. Разность зарядов приводит к возникновению мембранного потенциала, который в состоянии покоя мышечного волокна равен 90 — 100 мВ и является необходимым условием возникновения и проведения возбуждения.~~

~~Внутриклеточная жидкость называется *саркоплазмой*. В саркоплазме локализованы органические вещества, минеральные соли, а также субклеточные частицы: ядра, митохондрии, рибосомы, функция которых заключается в регуляции обмена веществ в мышечном волокне путем воздействия на синтез специфических мышечных белков.~~

~~Внутри саркоплазмы находится система продольных и поперечных трубочек, мембран, пузырьков, носящая название *саркоплазматический ретикулум* (SR). Толщина мембран SR около 6 нм. Саркоплазматический ретикулум делит саркоплазму на отдельные отсеки, в которых протекают различные биохимические процессы. Пузырьки и трубочки оплетают каждую миофибриллу. Через трубочки, связанные с наружной клеточной мембраной, возможен прямой обмен веществами между клеточными органеллами и межклеточной жидкостью. Трубочки могут служить и для распространения волны возбуждения от наружной мембраны волокна к внутренним его зонам.~~

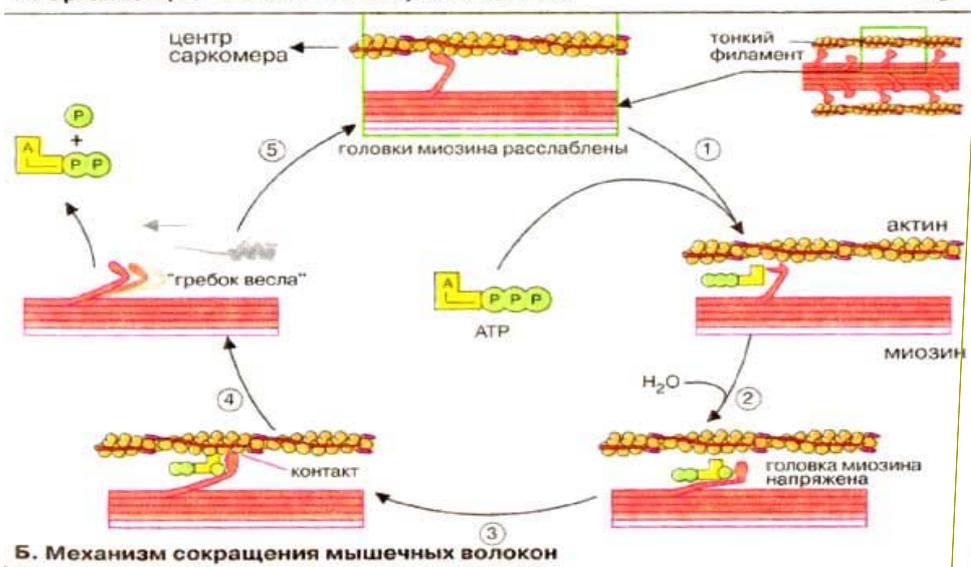
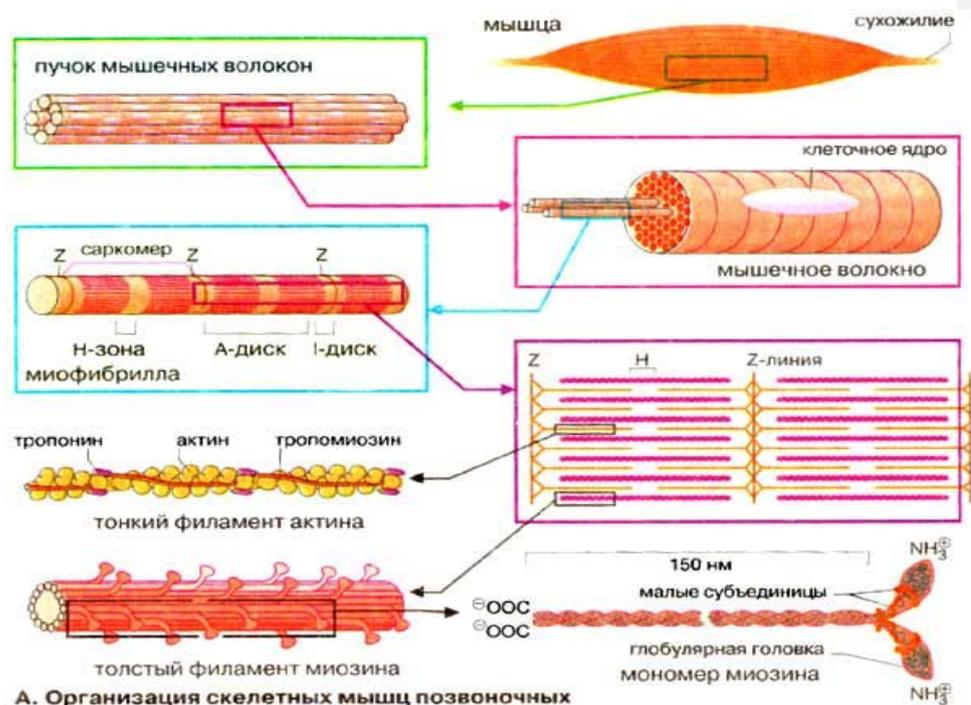
~~Мембраны пузырьков, прилегающих к миофибриллам, содержат белки, связывающие катионы кальция.~~

~~Значение саркоплазматического ретикулума очень велико. Он связан непосредственно с сокращением и расслаблением мышцы, регулируя освобождение катионов кальция в мышечном волокне. Кроме того, к части саркоплазматического ретикулума прикреплены рибосомы, назначением которых является синтез белков. В той части ретикулума, где нет рибосом, синтезируется ряд необходимых мышечному волокну веществ: липидов, кинкогена.~~

~~Одним из важнейших структурных компонентов мышечного волокна являются митохондрии. Число митохондрий в мышечном волокне очень велико, и располагаются они цепочками вдоль миофибрилл, тесно прилегая к мембранам ретикулума.~~

~~Как и у всякой клетки (оговоримся, что применение этого термина к мышечному волокну не совсем корректно), у мышечного волокна есть ядра, которые располагаются под сарколеммой. Ядро отделено от саркоплазмы двумя мембранами, одну из которых (внутреннюю) можно назвать ядерной, а вторая (наружная) является оболочкой ядра, переходящей в мембрану ретикулума. Пространство между этими двумя мембранами сообщается с канальцами саркоплазматического ретикулума. Внутри ядра находится ядрышко и хроматин. В состав хроматина входит ДНК, белки и низкомолекулярные РНК. В ДНК закодирована информация о структуре всех белков, синтезируемых в мышечном волокне.~~

~~В мышечном волокне есть и лизосомы, в которых локализованы гидролитические ферменты, расщепляющие белки, липиды и полисахариды. При очень интенсивной мышечной работе происходит нарушение мембран лизосом (либо увеличение их проницаемости) и в саркоплазму выходят ферменты, расщепляющие локализованные в ней биополимеры. Но это явление не дисфункция.~~



Механизм мышечного сокращения

Рассмотрим, к чему сводятся представления о механизме попеременного сокращения и расслабления мышц. В настоящее время принято считать, что биохимический цикл мышечного сокращения состоит из 5 стадий (рис. 20.8):

1) ~~миозиновая «головка» может гидролизовать АТФ до АДФ и $H_2PO_4(P_i)$, но не обеспечивает освобождения продуктов гидролиза. Поэтому данный процесс носит скорее стехиометрический, чем каталитический, характер (см. рис. 20.8, а);~~

2) ~~содержащая АДФ и H_2PO_4 миозиновая «головка» может свободно вращаться под большим углом и (при достижении нужного положения) связываться с F-актином, образуя с осью фибриллы угол около 90° (см. рис. 22.8, б);~~

3) ~~это взаимодействие обеспечивает высвобождение АДФ и H_2PO_4 из актин-миозинового комплекса. Актин-миозиновая связь имеет наименьшую энергию при величине угла 45° , поэтому изменяется угол миозина с осью фибриллы с 90° на 45° (примерно) и происходит продвижение актина (на 10–15 нм) в направлении центра саркомера (см. рис. 20.8, в);~~

4) ~~новая молекула АТФ связывается с комплексом миозин-F-актин (см. рис. 20.8, г);~~

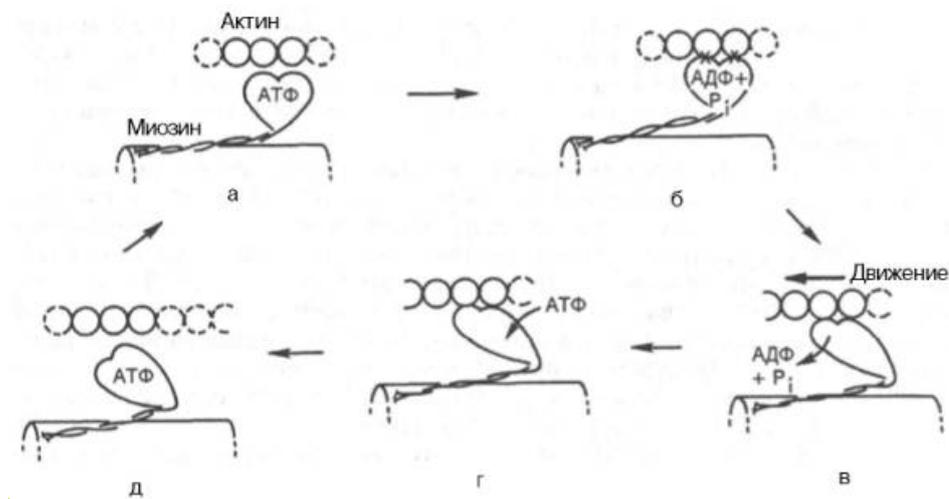


Рис. 20.8. Биохимический цикл мышечного сокращения. Объяснение в тексте.

5) ~~комплекс миозин-АТФ обладает низким сродством к актину, и поэтому происходит отделение миозиновой (АТФ) «головки» от F-актина.~~

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt

~~Последняя стадия и есть собственно расслабление, которое отчетливо зависит от связывания АТФ с актин-миозиновым комплексом (см. рис. 20.8, д). Затем цикл возобновляется.~~

~~**Регуляция сокращения и расслабления мышц.** Сокращение любых мышц происходит по общему механизму, описанному ранее. Мышечные волокна разных органов могут обладать различными молекулярными механизмами регуляции сокращения и расслабления, однако всегда ключевая регуляторная роль принадлежит ионам Ca^{2+} . Установлено, что миофибриллы обладают способностью взаимодействовать с АТФ и сокращаться в его присутствии лишь при наличии в среде определенных концентраций ионов кальция. Наибольшая сократительная активность наблюдается при концентрации ионов Ca^{2+} около 10^{-6} – 10^{-5} М. При понижении концентрации до 10^{-7} М или ниже мышечные волокна теряют способность к укорочению и развитию напряжения в присутствии АТФ.~~

~~По современным представлениям, в покоящейся мышце (в миофибриллах и межфибрилярном пространстве) концентрация ионов Ca^{2+} поддерживается ниже пороговой величины в результате связывания их структурами (трубочками и пузырьками) саркоплазматической сети и так называемой Т-системой при участии особого Ca^{2+} -связывающего белка, получившего название кальсеквестрина, входящего в состав этих структур.~~

~~Связывание ионов Ca^{2+} разветвленной сетью трубочек и цистерн саркоплазматической сети не является простой адсорбцией. Это активный физиологический процесс, который осуществляется за счет энергии, освобождающейся при расщеплении АТФ Ca^{2+} -зависимой АТФазой саркоплазматической сети. При этом наблюдается весьма своеобразная картина: скорость выкачивания ионов Ca^{2+} из межфибрилярного пространства стимулируется этими же ионами. В целом~~

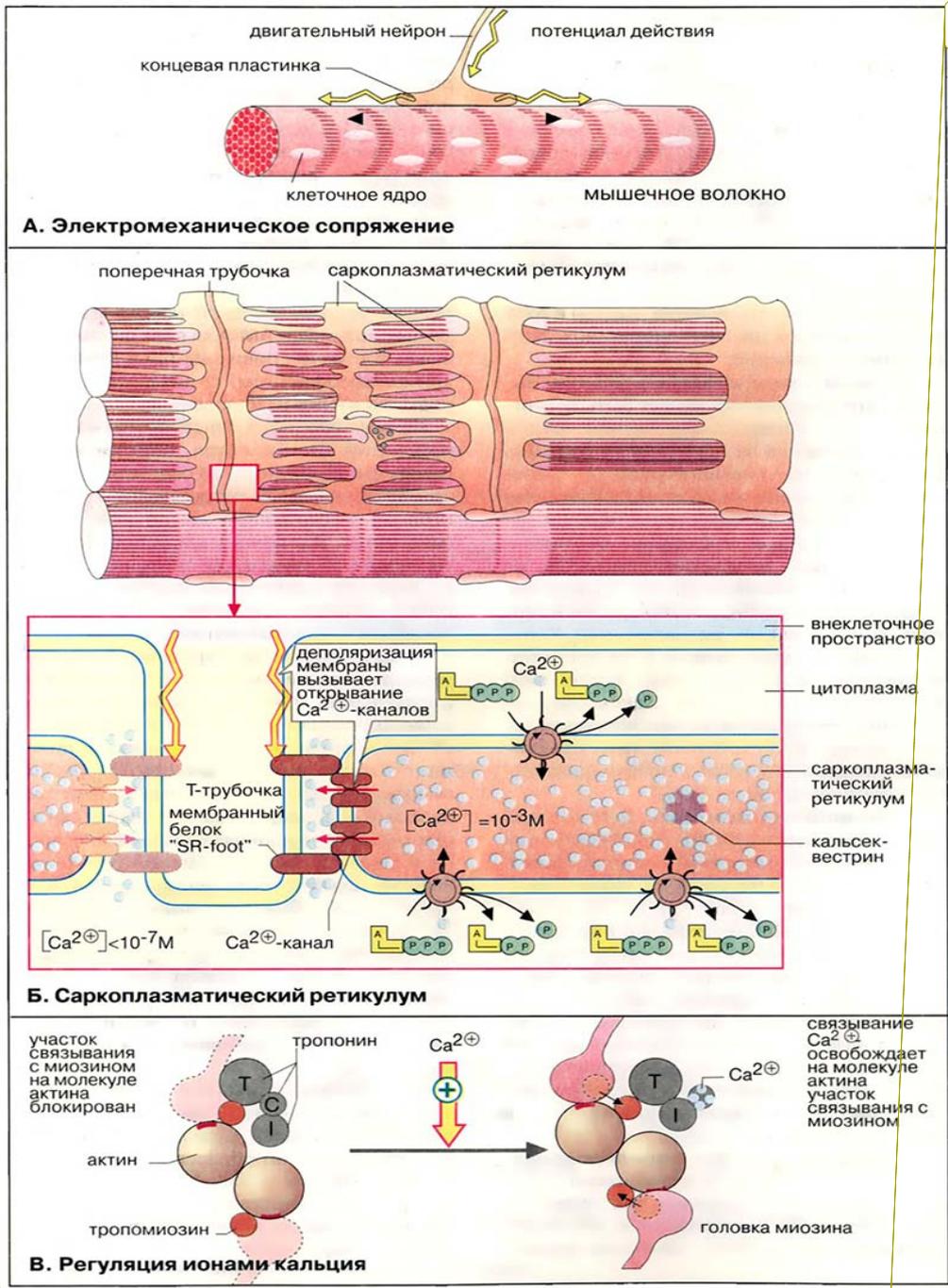
такой механизм получил название «кальциевая помпа» по аналогии с хорошо известным в физиологии натриевым насосом.

Возможность пребывания живой мышцы в расслабленном состоянии при наличии в ней достаточно высокой концентрации АТФ объясняется снижением в результате действия кальциевой помпы концентрации ионов Ca^{2+} в среде, окружающей миофибриллы, ниже того предела, при котором еще возможны проявление АТФазной активности и сократимость акто-миозиновых структур волокна. Быстрое сокращение мышечного волокна при его раздражении от нерва (или электрическим током) является результатом внезапного изменения проницаемости мембран и как следствие выхода из цистерн и трубочек саркоплазматической сети и Т-системы некоторого количества ионов Ca^{2+} в саркоплазму.

Как отмечалось, «чувствительность» актомиозиновой системы к ионам Ca^{2+} (т.е. потеря актомиозином способности расщеплять АТФ и сокращаться в присутствии АТФ при снижении концентрации ионов Ca^{2+} до 10^{-7}M) обусловлена присутствием в контрактильной системе (на нитях F-актина) белка тропонина, связанного с тропомиозином. В тропонин-тропомиозиновом комплексе ионы Ca^{2+} связываются именно с тропонином. В молекуле тропонина при этом происходят конформационные изменения, которые, по видимому, приводят к сдвигу всего тропонин-тропомиозинового стержня и деблокировке активных центров актина, способных взаимодействовать с миозином с образованием сократительного комплекса и активной Mg^{2+} -АТФазы.

В продвижении актиновых нитей вдоль миозиновых, по данным Э. Хаксли, важную роль играют временно замыкающиеся между нитями поперечные мостики, которые являются «головками» миозиновых молекул. Итак, чем большее число мостиков прикреплено в данный момент к актиновым нитям, тем больше сила мышечного сокращения.

~~Наконец, если возбуждение прекращается, содержание ионов Ca^{2+} в саркоплазме снижается (кальциевая помпа), то циклы прикрепление-освобождение прекращаются, т.е. «головки» миозиновых нитей перестают прикрепляться к актиновым нитям. В присутствии АТФ мышца расслабляется и ее длина достигает исходной. Если прекращается поступление АТФ (аноксия, отравление дыхательными ядами или смерть), то мышца переходит в состояние окоченения. Почти все поперечные мостики толстых (миозиновых) нитей присоединены при этом к тонким актиновым нитям, следствием чего и является полная неподвижность мышцы.~~



~~Виды сокращений. В зависимости от условий, в которых происходит сокращение, различают два его типа — **изотоническое и изометрическое**. Изотоническим называется такое сокращение мышцы, при котором ее~~

~~волокна укорачиваются, но напряжение остается прежним. Примером является укорочение без нагрузки. Изометрическим называется такое сокращение, при котором мышца укорачиваться не может (когда ее концы неподвижно закреплены). В этом случае длина мышечных волокон остается неизменной, но напряжение их растет (подъем непосильного груза).~~

~~Естественные сокращения мышц в организме никогда не бывают чисто изотоническими или изометрическими.~~

~~— **Одиночное сокращение.** Раздражение мышцы или иннервирующего ее двигательного нерва одиночным стимулом вызывает одиночное сокращение мышцы. В нем различают две основные фазы: фазу сокращения и фазу расслабления. Сокращение мышечного волокна начинается уже во время восходящей ветви ПД. Длительность сокращения в каждой точке мышечного волокна в десятки раз превышает продолжительность ПД. Поэтому наступает момент, когда ПД прошел вдоль всего волокна и закончился, волна же сокращения охватила все волокно и оно продолжает быть укороченным. Это соответствует моменту максимального укорочения или напряжения мышечного волокна.~~

~~— Сокращение каждого отдельного мышечного волокна при одиночных сокращениях подчиняется закону "все или ничего". Это означает, что сокращение, возникающее как при пороговом, так и при сверхпороговом раздражении, имеет максимальную амплитуду. Величина же одиночного сокращения всей мышцы зависит от силы раздражения. При пороговом раздражении сокращение ее едва заметно, с увеличением же силы раздражения оно нарастает, пока не достигнет известной высоты, после чего уже остается неизменной (максимальное сокращение). Это объясняется тем, что возбудимость отдельных мышечных волокон неодинакова, и поэтому только часть их возбуждается при слабом раздражении. При максимальном сокращении они возбуждены все. Скорость проведения волны сокращения мышцы совпадает со скоростью распространения ПД. В двуглавой мышце плеча она равна 3,5-5,0 м/сек.~~

~~Гладкие мышцы. Функции гладких мышц в разных органах.~~

~~Гладкая мускулатура в организме находится во внутренних органах, сосудах, коже. Гладкие мышцы способны осуществлять относительно медленные движения и длительные тонические сокращения.~~

~~Относительно медленные, часто ритмические сокращения гладких мышц стенок полых органов (желудка, кишок, протоков пищеварительных желез, мочеточников, мочевого пузыря, желчного пузыря и т.д.) обеспечивают перемещение содержимого. Длительные тонические сокращения гладких мышц особенно резко выражены в сфинктерах полых органов; их сокращение препятствует выходу содержимого.~~

~~В состоянии постоянного тонического сокращения находятся также гладкие мышцы стенок кровеносных сосудов, особенно артерий и артериол. Тонус мышечного слоя стенок артерий регулирует величину их просвета и тем самым уровень кровяного давления и кровоснабжения органов. Тонус и двигательная функция гладких мышц регулируется импульсами, поступающими по вегетативным нервам, гуморальными влияниями.~~

~~**Физиологические особенности гладких мышц.** Важным свойством гладкой мышцы является ее большая *пластичность*, т.е. способность сохранять приданную растяжением длину без изменения напряжения. Скелетная мышца, наоборот, сразу укорачивается после снятия груза. Гладкая мышца остается растянутой до тех пор, пока под влиянием какого-либо раздражения не возникает ее активного сокращения. Свойство пластичности имеет большое значение для нормальной деятельности полых органов — благодаря ему давление внутри полого органа относительно мало изменяется при разной степени его наполнения.~~

~~Существуют различные типы гладких мышц. В стенках большинства полых органов находятся мышечные волокна длиной 50-200 мкм и диаметром 4-8 мкм, которые очень тесно примыкают друг к другу, и потому при рассмотрении их в микроскоп создается впечатление, что они~~

~~морфологически составляют одно целое. Электронно-микроскопическое исследование показывает, однако, что они отделены друг от друга межклеточными щелями, ширина которых может быть равна 600-1500 ангстрем. Несмотря на это, гладкая мышца функционирует как одно целое. Это выражается в том, что ПД и медленные волны деполяризации беспрепятственно распространяются с одного волокна на другое.~~

~~В некоторых гладких мышцах, например, в ресничной мышце глаза, или мышцах радужной оболочки, волокна расположены раздельно, и каждое имеет свою иннервацию. У большинства же гладких мышц двигательные нервные волокна расположены только на небольшом числе волокон.~~

~~Потенциал покоя гладкомышечных волокон, обладающих автоматией, обнаруживает постоянные небольшие колебания. Величина его при внутриклеточном отведении равна 30-70 мВ. Потенциал покоя гладкомышечных волокон, не обладающих автоматией, стабилен и равен 60-70 мВ. В обоих случаях его величина меньше потенциала покоя скелетной мышцы. Это связано с тем, что мембрана гладкомышечных волокон в покое характеризуется относительно высокой проницаемостью для ионов Na. Потенциалы действия в гладких мышцах также несколько ниже, чем в скелетных. Превышение над потенциалом покоя не больше 10-20 мВ.~~

~~Ионный механизм возникновения ПД в гладких мышцах несколько отличается от имеющегося в скелетных. Установлено, что регенеративная деполяризация мембраны, лежащая в основе потенциала действия в ряде гладких мышц, связана с повышением проницаемости мембраны для ионов Ca^{++} , а не Na^{+} .~~

~~Многим гладким мышцам свойственна спонтанная, автоматическая активность. Для нее характерно медленное снижение мембранного потенциала покоя, которое при достижении определенного уровня сопровождается возникновением ПД.~~

~~Проведение возбуждения по гладкой мышце. В нервных и скелетных мышечных волокнах возбуждение распространяется посредством локальных электрических токов, возникающих между деполяризованным и соседними покоящимися участками клеточной мембраны. Этот же механизм свойственен и гладким мышцам. Однако, в отличие от того, что имеет место в скелетных мышцах, в гладких потенциал действия, возникающий в одном волокне, может распространяться на соседние волокна. Обусловлено это тем, что в мембране гладкомышечных клеток в области контактов с соседними имеются участки относительно малого сопротивления, через которые петли тока, возникшие в одном волокне, легко переходят на соседние, вызывая деполяризацию их мембран. В этом отношении гладкая мышца сходна с сердечной. Отличие заключается только в том, что в сердце от одной клетки возбуждается вся мышца, а в гладких мышцах ПД, возникший в одном участке, распространяется от него лишь на определенное расстояние, которое зависит от силы приложенного стимула.~~

~~Другая существенная особенность гладких мышц заключается в том, что распространяющийся ПД возникает в них только в том случае, если приложенный стимул возбуждает одновременно некоторое минимальное число мышечных клеток. Эта "критическая зона" имеет диаметр около 100 мкм, что соответствует 20-30 параллельно лежащим клеткам. Скорость проведения возбуждения в различных гладких мышцах составляет от 2 до 15 см/сек, т.е. значительно меньше, чем в скелетной мышце.~~

~~Так же, как и в скелетной мускулатуре, в гладкой потенциалы действия имеют пусковое значение для начала сократительного процесса. Связь между возбуждением и сокращением здесь также осуществляется с помощью Ca^{++} . Однако в гладкомышечных волокнах саркоплазматический ретикулум плохо выражен, поэтому ведущую роль в механизме возникновения сокращения отводят тем ионам Ca^{++} , которые проникают внутрь мышечного волокна во время генерации ПД.~~

~~При большой силе одиночного раздражения может возникнуть сокращение гладкой мышцы. Латентный период сокращения ее значительно больше, чем скелетной, достигая 0,25-1 сек. Продолжительность самого сокращения тоже велика — до 1 минуты. Особенно медленно протекает расслабление после сокращения. Волна сокращения распространяется по гладкой мускулатуре с той же скоростью, что и волна возбуждения (2-15 см/сек). Но эта медленность сократительной активности сочетается с большой силой сокращения гладкой мышцы. Так, мускулатура желудка птиц способна поднимать 2 кг на 1 кв.мм. своего поперечного сечения.~~

~~Вследствие медленности сокращения гладкая мышца даже при редких ритмических раздражениях (10-12 в мин) легко переходит в длительное состояние стойкого сокращения, напоминающее тетанус скелетных мышц. Однако энергетические расходы при таком сокращении очень низки.~~

~~Способность к автоматии гладких мышц присуща их мышечным волокнам и регулируется нервными элементами, которые находятся в стенках гладко-мышечных органов. Многочленная природа автоматии доказана опытами на полосках мышц кишечной стенки, освобожденных от нервных элементов. На все внешние воздействия гладкая мышца реагирует изменением частоты спонтанной ритмики, следствием чего являются сокращения или расслабления мышцы. Эффект раздражения гладкой мускулатуры кишки зависит от соотношения между частотой стимуляции и собственной частотой спонтанной ритмики: при низком тоне редких спонтанных ПД приложенное раздражение усиливает тоне, при высоком тоне в ответ на раздражение возникает расслабление, так как чрезмерное учащение импульсации приводит к тому, что каждый следующий импульс попадает в фазу рефрактерности от предыдущего.~~

~~**Раздражители гладких мышц.** Одним из важных физиологически адекватных раздражителей гладких мышц является их быстрое и сильное растяжение. Оно вызывает деполяризацию мембраны мышечного волокна и~~

~~возникновение распространяющегося ПД. В результате мышца сокращается. Характерной особенностью гладких мышц является их высокая чувствительность к некоторым химическим раздражителям, в частности, к ацетилхолину, норадреналину, адреналину, гистамину, серотонину, простагландинам. Эффекты, вызываемые одним и тем же химическим агентом, в разных мышцах и при различном их состоянии могут быть неодинаковы. Так, АХ возбуждает гладкие мышцы большинства органов, но тормозит мышцы сосудов. Адреналин расслабляет небеременную матку, но сокращает беременную. Эти различия связаны с тем, что указанные агенты реагируют на мембране с различными химическим рецепторами (холино-рецепторами, альфа и бета адренорецепторами), и в итоге по-разному изменяют ионную проницаемость и мембранный потенциал гладкомышечных клеток. В тех случаях, когда раздражающий агент вызывает деполяризацию мембраны, возникает возбуждение, и, наоборот, гиперполяризация мембраны под влиянием химического агента приводит к торможению активности и расслаблению гладкой мышцы.~~

Оксид азота и его значение для мышц

~~Вы, наверняка, слышали о продуктах, которые, как считается, усиливают выработку оксида азота. В последние годы такие продукты стали достаточно популярны в индустрии пищевых добавок. Считается, что добавки, усиливающие выработку оксида азота, оказывают положительное воздействие на организм атлета за счет увеличения притока крови к скелетным мышцам.~~

~~Ученые Техасского университета собрали данные о кинетике поглощения аминокислот и пришли к выводу, что стадией, ограничивающей скорость поступления аминокислот в мышечные ткани, является не прохождение их через клеточную мембрану, а транспорт через кровь и межклеточную~~

~~жидкость. Отсюда следует, что усиление притока крови к скелетным мышцам, в сочетании с увеличением концентрации аминокислот в крови, может обеспечить более активное поглощение аминокислот мышечными клетками. Оксид азота (ОА) синтезируется из аминокислоты L-аргинина в эндотелии кровеносных сосудов под воздействием фермента синтазы оксида азота (СОА). Данный фермент катализирует реакцию превращения L-аргинина в оксид азота и цитруллин. Цитруллин может быть повторно превращен в аргинин путем соединения с аспартатом, вновь становясь доступным для СОА. Оксид азота является мощным вазодилатирующим средством, т.е. ее действие направлено на расслабление гладкомышечных клеток кровеносных сосудов, что ведет к увеличению диаметра сосуда и обеспечивает усиление кровотока. Представьте себе, что будет, если плотно сжать водяной шланг и включить воду. Поток воды на этом участке уменьшится. Если ослабить хватку, вода потечет быстрее. Шланг — это кровеносные сосуды, рука — гладкие мышцы, а вода — кровь (транспортирующая питательные вещества).~~

~~Расслабление гладкомышечных клеток кровеносных сосудов обеспечивает прохождение большого количества питательных веществ (включая аминокислоты), которые могут быть использованы мышцами. Помимо того, что оксид азота сам по себе является мощным вазодилатирующим средством, он также стимулирует выработку циклического гуанозинмонофосфата, еще одного активного вазодилататора.~~

~~Ранее было установлено, что упражнения увеличивают выработку оксида азота и усиливают приток крови к соответствующему участку тела. Тем не менее, значимость данного процесса только начали изучать. Некоторые исследователи считают, что увеличение притока крови к скелетным мышцам может быть одним из механизмов, обеспечивающих усиление синтеза белка после тренировки.~~

~~Увеличение кровотока наблюдается только в тренируемых мышцах, и только в этих мышцах усиливается синтез белка. К примеру, при работе над квадрицепсами приток крови ощущается только в этом месте, а вовсе не в бицепсах бедра. Аналогичным образом, только в квадрицепсах усиливается синтез белка. Если сосудорасширяющее действие оксида азота является важным механизмом для увеличения посттренировочного синтеза белка, то, весьма вероятно, увеличение выработки оксида азота окажет благоприятное действие на восстановление тренируемых мышц!~~

~~Сократительные и двигательные белки — белки, которые обеспечивают клетку или организм двигательной функцией, способностью сокращаться, изменять форму и передвигаться.~~

~~Белками с такой функцией являются актин и миозин, представляющие собой нитевидные белки, функционирующие в сократительной системе скелетной мышцы, а также во многих немембранных тканях (микрофиламенты эукариотических клеток). Другим примером таких белков служит тубулин — белок из которого построены микротрубочки, являющиеся важными элементами ресничек и жгутиков, при помощи которых клетки передвигаются. Длинные клетки нервной системы животных также содержат микротрубочки.~~

Белки мышц

- Основные белки **актин** и **миозин**
- Они связаны в высокоорганизованный комплекс – актомиозин
- Актин и миозин найдены в немышечных клетках, где обеспечивают клеточную и внутриклеточную подвижность (адгезия, фагоцитоз, изменение поверхности и др.)

MyShared

~~Источники энергии для мышечной работы~~

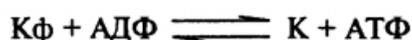
~~Покоящаяся мышца, подобно другим тканям, для поддержания постоянства своего состава и непрерывного протекания метаболических процессов, требует постоянного обеспечения АТФ. В то же время мышца сильно отличается от других тканей тем, что ее потребность в энергии в форме АТФ при сокращении мышцы может почти мгновенно возрастать в 200 раз.~~

~~Содержание АТФ в мышце относительно постоянно: около 0,25% массы мышцы. Большая концентрация АТФ приводит к угнетению миозиновой АТФазы, что препятствует образованию саркомера между миозином и актином, а следовательно – мышечному сокращению. С другой стороны, концентрация АТФ не может быть ниже 0,1%, поскольку при этом перестает действовать кальциевый насос в пузырьках саркоплазматического ретикулума, и мышца будет сокращаться вплоть до полного исчерпания запасов АТФ и развития *ригора* – стойкого непроходящего сокращения. Запасов АТФ в мышце достаточно на 3 – 4 одиночных сокращения. Следовательно, необходимо постоянное и весьма интенсивное восполнение АТФ ее синтезом.~~

~~Ресинтез АТФ при мышечной деятельности может осуществляться как в ходе реакций, идущих в анаэробных условиях, так и за счет окислительных превращений в клетках, связанных с потреблением кислорода. В скелетных мышцах выявлены три вида анаэробных процессов, в ходе которых возможен ресинтез АТФ, и один аэробный.~~

~~Рассмотрим все процессы ресинтеза АТФ в мышце и порядок их включения:~~

~~**Креатинкиназная реакция.** Первым и самым быстрым процессом ресинтеза АТФ является Креатинкиназная реакция. Креатинфосфат (Кф) — макроэргическое вещество (глава 5), которое при истощении запасов АТФ в работающей мышце отдаст фосфорильную группу на АДФ:~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt

~~Катализирует этот процесс креатинкиназа, которая относится к фосфотрансферазам (по названию фермента назван рассматриваемый процесс):~~

~~АТФ и креатин находятся рядом и вблизи от сократительных элементов мышечного волокна. Как только уровень АТФ начинает снижаться, немедленно запускается Креатинкиназная реакция, обеспечивающая ресинтез АТФ. Скорость расщепления Кф в работающей мышце прямо пропорциональна интенсивности выполняемой работы и величине мышечного напряжения.~~

~~В первые секунды после начала работы, пока концентрация Кф высока, высока и активность креатинкиназы. Почти все количество АДФ, образовавшейся при распаде АТФ, вовлекается в этот процесс, блокируя тем самым другие процессы ресинтеза АТФ в мышце. После того как запасы Кф в мышцах будут истощены примерно на 1/3, скорость креатинкиназной реакции будет снижаться, это вызовет включение других процессов ресинтеза АТФ.~~

~~Креатинкиназная реакция обратима. Во время мышечной работы преобладает прямая реакция, пополняющая запасы АТФ, в период покоя — обратная реакция, восстанавливающая концентрацию Кф в мышце. Однако ресинтез Кф возможен отчасти и по ходу длительной мышечной работы, совершаемой в аэробных условиях.~~

~~Креатинкиназная реакция играет основную роль в энергообеспечении кратковременных упражнений максимальной мощности — бег на короткие дистанции, прыжки, метание, тяжелоатлетические упражнения.~~

~~Гликолиз. Следующий путь ресинтеза АТФ — гликолиз. Ферменты, катализирующие реакции гликолиза, локализованы на мембранах саркоплазматического ретикулума и в саркоплазме мышечных клеток. Гликогенфосфорилаза и гекеокиназа — ферменты гликогенолиза и первой реакции гликолиза — активируются при повышении в саркоплазме содержания АДФ и фосфорной кислоты.~~

~~Как было показано выше, энергетический эффект гликолиза невелик и составляет всего 2 моль АТФ на 1 моль глюкозо-1-фосфата, полученного при фосфороллизе гликогена. Кроме того, следует учесть, что примерно половина всей выделяемой энергии в данном процессе превращается в тепло и не может использоваться при работе мышц; при этом температура мышц повышается до 41—42°C.~~

~~Конечным продуктом гликолиза является молочная кислота. Накапливаясь в мышцах, она вызывает изменение концентрации ионов водорода во внутриклеточной среде, т.е. происходит сдвиг рН среды в кислую область. В слабокислой среде происходит активация ферментов цепи дыхания в митохондриях, с одной стороны, и угнетение ферментов, регулирующих сокращение мышц (АТФазы миофибрилл) и скорость ресинтеза АТФ в анаэробных условиях, с другой. Но, прежде чем перейти к рассмотрению процесса ресинтеза АТФ в аэробных условиях, отметим, что гликолиз играет важную роль в энергообеспечении упражнений, продолжительность которых составляет от 30 до 150 с. К ним относятся бег~~

~~на средние дистанции, плавание на 100 и 200 м, велосипедные гонки на треке и др. За счет гликолиза совершаются длительные ускорения по ходу упражнения и на финише дистанции.~~

~~**Ресинтез АТФ в аэробных условиях.** Аэробным процессом ресинтеза АТФ служит окисление глюкозы до оксида углерода (IV) и воды. В главе 6 был подробно рассмотрен этот многостадийный процесс, а в главе 9 рассчитан его энергетический эффект. Сопоставляя энергетические эффекты гликолиза и полного распада глюкозы в аэробных условиях, можно констатировать, что второй процесс отличается наибольшей производительностью. Общий выход энергии при аэробном процессе в 19 раз превышает таковой при гликолизе.~~

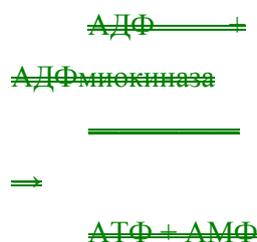
~~Обратим внимание на тот факт, что АТФ, образующаяся в митохондриях при окислительном фосфорилировании, недоступна АТФазам, локализованным в саркоплазме мышечных клеток, так как внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для заряженных нуклеотидов. Поэтому существует система активного транспорта АТФ из матрикса митохондрий в саркоплазму.~~

~~Сначала транслоказа осуществляет перенос АТФ из матрикса через внутреннюю мембрану в межмембранное пространство, где АТФ вступает во взаимодействие с креатином, проникающим из саркоплазмы. Это взаимодействие катализирует митохондриальная креатинкиназа, которая локализована во внешней мембране митохондрий. Образующийся креатинфосфат снова переходит в саркоплазму, где отдает снятый с АТФ остаток фосфорной кислоты на саркоплазматическую АДФ.~~

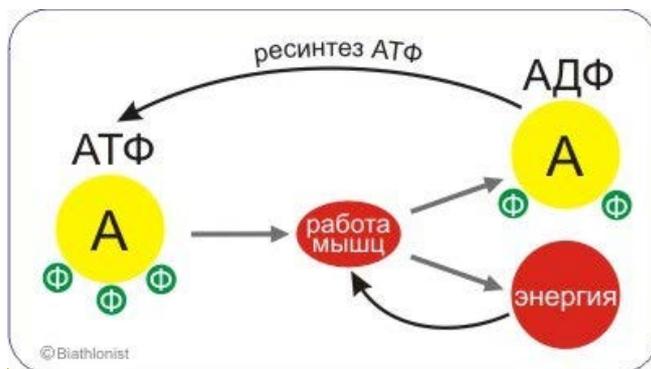
~~Эффективность образования АТФ в процессе окислительного фосфорилирования зависит от снабжения мышцы кислородом. В работающей мышце запасы кислорода невелики: небольшое количество кислорода растворено в саркоплазме, часть кислорода находится в связанном с миоглобином мышц состоянии. Основное количество кислорода, нужного мышце для аэробного ресинтеза АТФ, доставляется через систему легочного~~

~~дыхания и кровообращения. Для образования 1 моль АТФ в процессе окислительного фосфорилирования требуется 3,45 л кислорода; такое количество кислорода потребляется в покое за 10 – 15 мин, а при интенсивной мышечной деятельности – за 1 мин.~~

~~**Миокиназная реакция** происходит в мышце при значительном увеличении концентрации АДФ в саркоплазме, когда возможности других путей почти исчерпаны или близки к тому. Суть этой реакции состоит в том, что при взаимодействии 2 молекул АДФ образуется 1 молекула АТФ:~~



~~Условия для включения миокиназной реакции возникают при выраженном мышечном утомлении. Поэтому миокиназную реакцию следует рассматривать как "аварийный" механизм. Миокиназная реакция мало эффективна, так как из двух молекул АДФ образуется только одна молекула АТФ. Возникшая в результате миокиназной реакции АМФ может путем дезаминирования превращаться в инозинмонофосфат, который не является участником энергетического обмена. Однако увеличение концентрации АМФ в саркоплазме оказывает активирующее действие на ряд ферментов гликолиза, что приводит к повышению скорости анаэробного ресинтеза АТФ. В данном случае миокиназная реакция выполняет роль своеобразного метаболического усилителя, способствующего передаче сигнала от АТФазы миофибрилл на АТФ-синтезирующие системы клетки.~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ И ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ~~

~~Сердечная мышца по содержанию ряда химических соединений занимает промежуточное положение между скелетной мускулатурой и гладкими мышцами. Так, общее содержание белкового азота в скелетных мышцах кролика составляет 30-31 мг/г, а в гладкой мускулатуре (миометрий) — до 20,3 мг/г. В сердечной мышце и особенно в гладких мышцах значительно меньше миофибриллярных белков, чем в скелетной мышце. Общее содержание миофибриллярных белков в гладкой мышечной ткани желудка примерно в 2 раза ниже, чем в скелетных мышцах. Концентрация белков стромы в гладких мышцах и миокарде выше, чем в скелетной мускулатуре. Известно, что миозин, тропомиозин и тропонин сердечной мышцы и гладкой мускулатуры заметно отличаются по своим физико-химическим свойствам от соответствующих белков скелетной мускулатуры. Отмечены определенные особенности и во фракциях саркоплазматических белков. Саркоплазма гладкой мускулатуры и миокарда в процентном отношении содержит больше миоальбумина, чем саркоплазма скелетной мускулатуры. Содержание АТФ в сердечной мышце на 1 г ткани (2,60 мкмоль) ниже, чем в скелетной (4,43 мкмоль), и выше, чем в гладкой мускулатуре (1,38 мкмоль). По содержанию гликогена сердечная мышца также занимает промежуточное положение между скелетной и~~

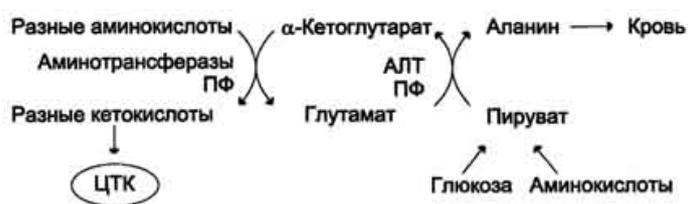
гладкой мускулатурой. По данным С.Е. Северина (1965), как в сердечной, так и в гладкой мускулатуре обнаруживаются лишь следы асерина и карнозина (не более 0,1 г на 1 кг сырой массы):

Имеется определенная зависимость между характером работы мышц и содержанием фосфолипидов. Миокард по сравнению с другими мышечными тканями богаче фосфолипидами, при окислении которых, по-видимому, вырабатывается значительная часть энергии, необходимой для его сокращения.

Образование аланина в мышцах

Из мышц и кишечника избыток аммиака выводится преимущественно в виде аланина. Этот механизм необходим, так как активность глутаматдегидрогеназы в мышцах невелика и не прямое дезаминирование аминокислот малоэффективно. Поэтому в мышцах существует ещё один путь выведения азота. Образование аланина в этих органах можно представить следующей схемой (см. схему ниже):

Аминогруппы разных аминокислот посредством реакций трансаминирования переносятся на пируват, основным источником которого служит процесс окисления глюкозы. Мышцы выделяют особенно много аланина в силу их большой массы, активного потребления



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, полужирный

глюкозы при физической работе, а также потому, что часть энергии они получают за счёт распада аминокислот. Образовавшийся аланин поступает в печень, где подвергается непрямому дезаминированию. Выделившийся

~~аммиак обезвреживается, а пируват включается в глюконеогенез. Глюкоза из печени поступает в ткани и там, в процессе гликолиза, опять окисляется до пирувата. Образование аланина в мышцах, его перенос в печень и перенос глюкозы, синтезированной в печени, обратно в мышцы составляют глюкозо-аланиновый цикл, работа которого сопряжена с работой глюкозо-лактатного цикла.~~

~~БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ПРИ ПАТОЛОГИИ~~

~~Общими для большинства заболеваний мышц (прогрессирующие мышечные дистрофии, атрофия мышц в результате их денервации, тенотомия, полимиозит, некоторые авитаминозы и т.д.) являются резкое снижение в мышцах содержания миофибриллярных белков, возрастание концентрации белков стромы и некоторых саркоплазматических белков, в том числе миоальбумина. Наряду с изменениями фракционного состава мышечных белков при поражениях мышц наблюдается снижение уровня АТФ и креатинфосфата. Например, через 12 дней после денервации содержание АТФ в денервированной икроножной мышце кролика снижается более чем в 2 раза. Отмечаются также снижение АТФазной активности контрактильных белков (миозина), уменьшение количества имидазолсодержащих дипептидов.~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt, полужирный

~~Схематическое изображение происхождения креатинурии при прогрессирующей мышечной дистрофии (по Д.П. Ферману).~~

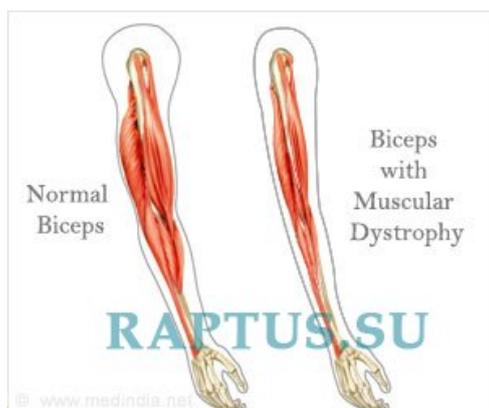
~~При прогрессирующих мышечных дистрофиях и других заболеваниях, связанных с расщеплением мышечной ткани, часто отмечаются сдвиги в фосфолипидном составе мышц: значительно снижается уровень фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, концентрация сфингомиелина и лизофосфатидилхолина повышается. До сих пор нетипичные механизмы изменения фосфолипидного состава мышечной ткани при патологии не выявлены, неизвестна также роль этих сдвигов в патогенезе мышечных дистрофий.~~

~~Для многих форм патологии мышечной ткани характерны нарушение метаболизма креатина и его усиленное выделение с мочой (креатинурия). Несмотря на многочисленные исследования и обилие фактического материала, вопрос о причинах креатинурии при заболеваниях мышц не может считаться окончательно решенным.~~

~~Принято считать, что креатинурия у больных миопатией является результатом нарушения в скелетной мускулатуре процессов фиксации (удержания) креатина и его фосфорилирования. Если нарушен процесс синтеза креатинфосфата, то не образуется и креатинин; содержание последнего в моче резко снижается. В результате креатинурии и нарушения синтеза креатинина резко повышается креатининный показатель (креатинин/креатинин) мочи. Данный механизм представлен на рис. 20.9.~~

~~При патологии мышечной ткани можно наблюдать определенную закономерность в изменении активности ферментов в мышцах: уменьшается активность ферментов, локализованных в саркоплазме; незначительно изменяется активность ферментов, связанных с митохондриями; заметно возрастает активность лизосомальных ферментов. Наконец, показано, что при многих заболеваниях мышечной системы наступают сдвиги в системе ЦАМФ: снижается~~

содержание цАМФ в мышечной ткани; повышается активность фосфодиэстеразы и нарушается способность аденилатциклазы активироваться под влиянием адреналина и фторида натрия.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Нарушение метаболизма сердечной мышцы при ишемической болезни сердца. Для индемизированного миокарда характерны сниженное окислительное фосфорилирование и повышенный анаэробный обмен. Раннее увеличение гликогенолиза и гликолиза за счет имеющегося в сердечной мышце гликогена и глюкозы, усиленно поглощаемой миокардом в начальной стадии ишемии, происходит в результате повышения внутриклеточной концентрации катехоламинов и цАМФ, что в свою очередь стимулирует образование активной формы фосфорилазы — фосфорилазы а и активацию фосфофруктокиназы — ключевого фермента гликолиза. Однако даже максимально усиленный анаэробный метаболизм не способен длительно защищать уже поврежденный гипоксический миокард. Очень скоро запасы гликогена истощаются, гликолиз замедляется в следствие внутриклеточного ацидоза, который ингибирует фосфофруктокиназу.

Содержание АТФ и креатинфосфата в клетке резко снижается в результате нарушения окислительного фосфорилирования в митохондриях. Одно из первых проявлений этого состояния — нарушение мембранной

проницаемости. Нарушение целостности мембран способствует выходу из клетки ионов, в том числе ионов K^+ , а также ферментов. Дефицит энергетических ресурсов и нарушение ионного состава, существенные изменения различных мембранных «резервуаров», обеспечивающих контроль за уровнем внутриклеточного кальция, обуславливают торможение функциональной активности мышечных клеток и их постепенную гибель. В этот же период выявляются изменения состава белков миокарда (резкое снижение содержания миофибриллярных белков и накопление белков стромы). Нарушение обмена углеводов, белков и липидов (свободные жирные кислоты не окисляются, а преимущественно включаются в триглицериды) при инфаркте миокарда находит отражение в жировой инфильтрации сердечной мышцы.

Размер повреждения миокарда при возникновении ишемии, снижение активности ферментов в сердечной мышце и возрастание активности соответствующих ферментов в сыворотке крови (например, креатинкиназы) в значительной мере коррелируют друг с другом. Следует признать, что в диагностике инфаркта миокарда определение активности креатинкиназы, АсАТ и ЛДГ в сыворотке крови наиболее чувствительные тесты. Повышение активности указанных ферментов, особенно креатинкиназы, является постоянным и наиболее высоким. Важно также исследование в сыворотке крови изоферментных спектров креатинкиназы (повышение активности изофермента MB) и ЛДГ (увеличение активности изоферментов ЛДГ₁ и ЛДГ₂). В последние годы четко показано, что определение в сыворотке крови миокардиально специфичных белков (миоглобин, тропонин Т и др.) весьма чувствительный ранний тест повреждения миокарда.

Креатинфосфат — это запас взрывной энергии

~~Креатин — вещество скелетных мышц, миокарда, нервной ткани. В виде креатинфосфата креатин является "депо" макроэнергических связей, и используется для быстрого ресинтеза АТФ во время работы клетки.~~



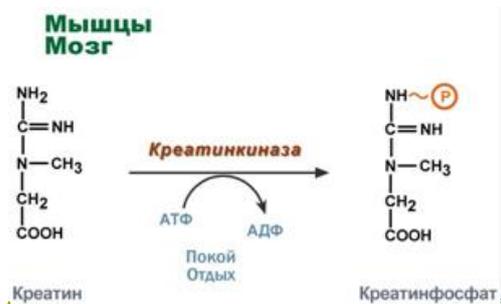
Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~Использование креатинфосфата для ресинтеза АТФ~~

~~Особенно показательна роль креатина в мышечной ткани. Креатинфосфат обеспечивает срочный ресинтез АТФ в первые секунды работы (5–10 сек), когда никакие другие источники энергии (анаэробный гликолиз, аэробное окисление глюкозы, β -окисление жирных кислот) еще не активированы, и кровоснабжение мышцы не увеличено. В клетках нервной ткани креатинфосфат поддерживает жизнеспособность клеток при отсутствии кислорода.~~

~~При мышечной работе ионы Ca^{2+} , вышедшие из саркоплазматического ретикулума, являются активаторами креатинкиназы. Реакция еще интересна тем, что на ее примере можно наблюдать обратную положительную связь — активацию фермента продуктом реакции креатином. Это позволяет избежать снижения скорости реакции по ходу работы, которое должно было бы произойти по закону действующих масс из-за снижения концентрации креатинфосфата в работающих мышцах.~~

~~Около 3% креатинфосфата постоянно в реакции неферментативного дефосфорилирования превращается в креатинин. Количество креатинина, выделяемое здоровым человеком в сутки, всегда почти одинаково и зависит только от объема мышечной массы. Уровень активности креатинкиназы в крови и концентрация креатинина в крови и моче являются ценными диагностическими показателями.~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~Синтез креатинфосфата~~

~~Если синтез креатина опережает возможность его фиксации в мышечной ткани, то развивается **креатинурия** — появление креатина в моче. **Физиологическая** креатинурия наблюдается в первые годы жизни ребенка. Иногда к физиологической относят и креатинурию стариков, которая возникает как следствие атрофии мышц и неполного использования образующегося в печени креатина. При заболеваниях мышечной системы (при миопатии или прогрессирующей мышечной дистрофии) в моче наблюдаются наибольшие концентрации креатина — **патологическая креатинурия**.~~

Глава 14

БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Соединительная ткань распределена по всему телу организма, она содержится в хрящах, связках, матриксе костной ткани. Эта ткань находится в почечной лоханке, области мочевых каналов, фиксирует сосуды; составляет основу межклеточного связывающего вещества в печени, мышцах и других паренхиматозных органах. Составляет примерно 50% от массы тела. Механическая и удерживающая функция соединительной ткани осуществляется за счёт нерастворимых нитей, расположенных на поверхности клетки. Они образованы из высокомолекулярных соединений, вдавленных в матрикс и называются основным веществом. Кроме ответственных за синтез растворимых нитей и растворимого матрикса клеток — хондроцитов и фибробластов в состав клеток соединительной ткани входят макрофаги, тучные клетки и не в большом количестве не дифференцированные клетки.



119-рис. Строение соединительной ткани (по А.И.Слутскому)

I — тучная клетка; II — ретикулиновые волокна; III — эластическое волокно;
IV — коллагеновые волокна; V — фибробласт

Все разновидности соединительной ткани, несмотря на их морфологические различия, построены по общим, единым принципам, которые в основном заключаются в следующем:

а) соединительная ткань, как всякая другая, содержит клетки, однако межклеточное вещество занимает больше места, чем клеточные элементы;

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

б) для соединительной ткани характерно наличие своеобразных волокнистых (фибриллярных) структур: коллагеновых, эластических и ретикулиновых волокон, расположенных в окружении межклеточной субстанции;

в) межклеточное вещество соединительной ткани имеет очень сложный химический состав.

Коллаген

Характерный компонент структуры соединительной ткани — нерастворимые волокна построены, в основном, из своеобразного белка коллагена. Коллаген составляет 25-33% от общего количества белка организма взрослого человека, или 6% от массы тела. $\frac{1}{2}$ всех его аминокислотных остатков составляет глицин, $\frac{1}{4}$ — пролин и 4-гидроксипролин, около 1% — гидроксилизин; некоторые молекулярные формы коллагена содержат также 3-гидроксипролин, хотя и в весьма ограниченном количестве (рис. X).

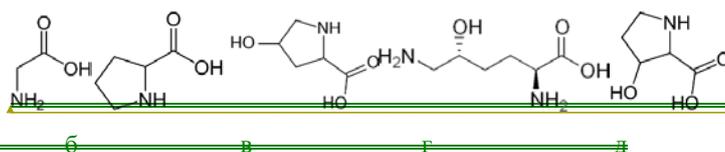
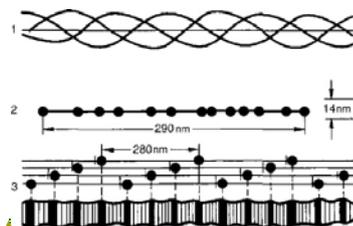


Рис. X. Аминокислоты, входящие в состав коллагена

а — глицин; б — пролин; в — 4-гидроксипролин; г — гидроксилизин;
д — 3-гидроксипролин

Видимые в оптическом микроскопе коллагеновые волокна состоят из различных в электронном микроскопе фибрилл с диаметром от 5 до 200 нм и имеют цилиндрическую форму. Фибриллы коллагена образованы из тропоколлагеновых единиц. Тропоколлаген — это белковая молекула и основная структурная единица коллагена (120 рис).

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

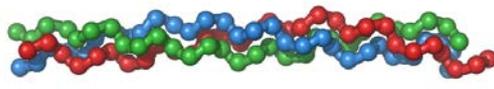


Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

120-рис. Различные уровни структурной организации коллагена (по Кону). 1 — третичная структура; 2 — молекула тропоколлагена; 3 — коллагеновое волокно.

Тропоколлагены выделенные из различных тканей отличаются своим составом, но в них много содержится глицина и содержат 5-оксипролин, 3-оксеи, алфа-оксеипролин.

Молекула тропоколлагена имеет ширину 1,5 нм и длину 300 нм, молекулярная масса 300000 Д. Тропоколлаген состоит из трёх полипептидных цепей одинакового размера, которые сливаются в спиралевидный триплет (рис. X).



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Рис. X. Спиралевидный триплет коллагена

Тройная спираль стабилизируется многочисленными межцепочечными поперечными сшивками между лизиновыми и гидроксильными остатками.

Николаев, 436 стр, рис. 18.5

Каждая полипептидная цепь тропоколлагена содержит около 1000 аминокислотных остатков. Таким образом, основная структурная единица коллагена имеет очень большие размеры, например, в 10 раз больше, чем химотрипсин. Изучение аминокислотного состава и последовательности чередования аминокислот в полипептидных цепях тропоколлагена показало, что существует два типа цепей — цепи $\alpha 1$ и $\alpha 2$, а также четыре разновидности цепи $\alpha 1: \alpha 1$ (I), $\alpha 1$ (II), $\alpha 1$ (III) и $\alpha 1$ (IV). I тип коллагена встречается в коже,

~~костях, связках, II тип — хряще, III тип — коже эмбриона, стенках сосудов, IV тип — соединительных мембранах:~~

~~— Фибриллы — коллагена — образованы — из — молекул тропоколлагена соединенных конец-конец и бок-бок. Коллаген синтезируется в виде высокомолекулярного предшественника — проколлагена.~~

~~Коллаген — внеклеточный белок, но он синтезируется в виде внутриклеточной молекулы предшественника, которая перед образованием фибрилл зрелого коллагена подвергается посттрансляционной модификации. Предшественник коллагена (сначала препроколлаген, а затем проколлаген) претерпевает процессинг в ходе прохождения через эндоплазматический ретикулум и комплексе Гольджи до появления во внеклеточном пространстве. Внеклеточные — амино — и — карбоксипротезапроколлагена — удаляют соответственно — аминоконцевой — и — карбоксиконцевойпропептиды. Вновь образованные молекулы коллагена спонтанно собираются в коллагеновые фибриллы(рис X).~~

~~Николаев, 434 стр. рис. 18.2~~

~~В результате перекрёстного связывания цепей и спиральных молекул фибрилл через основания Шиффа и альдольную конденсацию (т.е. перекрёстное связывание их рядом ковалентных связей) образовавшиеся фибриллы приобретают силу напряжения зрелых коллагеновых фибрилл.~~

~~Цепи — проколлагена и тропоколлагена — подвергаются — ряду посттрансляционных модификаций, они важны в формировании специфичной структуры коллагена. Оксипролин и оксизин в процессе биосинтеза в молекуле проколлагена не содержатся. Они образуются в результате гидроксилирования пролина и лизина во время трансляции мРНК коллагена в рибосомах до отделения полипептида и после образования трёх спиральной структуры — этот процесс завершается. Реакции гидроксилирования происходят под действием пролингидроксилазы, лизингидроксилазы, они связаны с мембраной микросом и происходят при участии Fe^{+2} , аскорбиновой~~

кислоты, α -кетоглутарата и O_2 ;

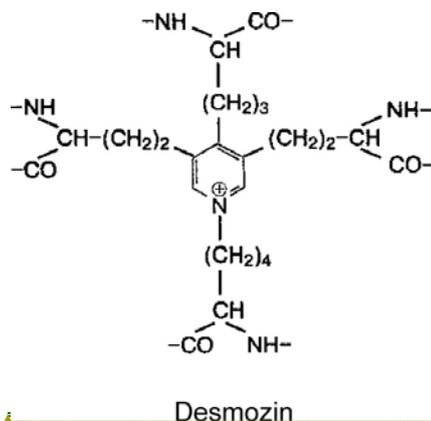
Николаев, 435 стр. рис.18.3

Недостаточность аскорбиновой кислоты в основном связан с нарушением функции мезенхимальных клеток. Нарушается синтез коллагена и хондроитинсульфата. В образовавшемся коллагене мало содержится оксипролина. При тяжело протекающей цинге образование основного вещества соединительной ткани нарушается, это приводит денолимеризации и растворению основных структур ткани, в результате могут открыться старые леченные раны.

Период полураспада коллагена длится несколько неделями и месяцами.

Эластин

Эластин второй основной белок соединительной ткани. В отличие от коллагена при кипячении не образует желатину. Его аминокислотный состав отличается от коллагена. Так, в его составе кроме глицина и пролина имеется в большом количестве валин (больше чем пролина). В молекуле мало гидроксипролина и вообще отсутствует гидроксилизин. Нативные волокна эластина построены из относительно небольших, почти сферических молекул, соединённых в волокнистые тяжи с помощью жёстких поперечных сшивок. Были идентифицированы две формы поперечных сшивок, обе с участием лизина. Из четырёхлизиновых остатков образуются соединения — десмозин и изодесмозин.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

~~Они образуются остатками, принадлежащими по крайней мере двум независимым цепям, однако они могут быть образованы также остатками, находящимися в трёх или четырёх различных пептидных цепях. Три лизиновых остатка вначале окисляются до соответствующих ϵ -альдегидов (аллизиновые остатки), а затем конденсируются с четвертым остатком лизина; при определённых комбинациях образуется либо десмозин, либо изодесмозин. Десмозин и изодесмозин участвуют при образовании поперечных сшивок. При образовании поперечных сшивок также участвуют лизин и орлейцин.~~

~~Нити нативного эластина не перевариваются трипсином или химотрипсином, но медленно гидролизуются пепсином при pH=2. Поджелудочная железа секретирует зимоген проэластазу, которая активируется трипсином с образованием эластазы и гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами остатков алифатических аминокислот. Эластин вместе с коллагеном, протеогликанами и рядом глико- и мукопротеинов является продуктом биосинтетической деятельности фибробластов. Непосредственным продуктом клеточного биосинтеза считается не эластин, а его предшественник тропоэластин (в коллагене — проколлаген). Тропоэластин не содержит поперечных связей, обладает растворимостью. В последующем тропоэластин превращается в зрелый эластин, нерастворимый, содержащий большое количество поперечных связей.~~

~~Эластин, в отличие от коллагена, обладает очень высокой растяжимостью. Поэтому он встречается в большом количестве именно в тканях, испытывающих растяжение и сокращение, такие как кровеносные сосуды, связки, лёгкие (рис. X). К примеру, в аорте эластин составляет 30-60% от массы вещества ткани, а в вийной связке — 70-80%.~~

~~Николаев, 438 стр., рис. 18.9~~

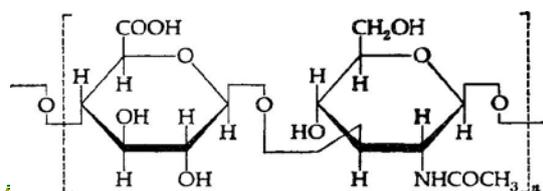
~~Время полужизни эластина составляет 75 лет.~~

~~Протеогликаны~~

Протеоглики образуют основное вещество внеклеточного матрикса соединительной ткани и могут составлять до 30% сухой массы ткани. Это полианионные вещества большой молекулярной массы, которые содержат большое число различных геерополисахаридных боковых цепей, ковалентно связанных полипептидным остовом. В отличие от простых гликопротеидов протеоглики могут содержать до 95% углеводов. По свойствам они более сходны с полисахаридами, чем с белками. Полисахаридные группы протеогликанов можно получить с хорошим выходом после обработки протеолитическими ферментами. Эти группы вначале назывались мукополисахаридами, но теперь предпочитают термин гликозамингликаны, так как все они содержат глюкозамин или галактозамин. Различают шесть основных классов гликозамингликанов:

- гиалуроновая кислота;
- хондроитин-4-сульфат;
- хондроитин-6-сульфат;
- дерматансульфат;
- кератансульфат I и II;
- гепарансульфат и гепарин.

Гиалуроновая кислота. Повторяющаяся дисахаридная единица этого гликозамингликана имеет следующую структуру:



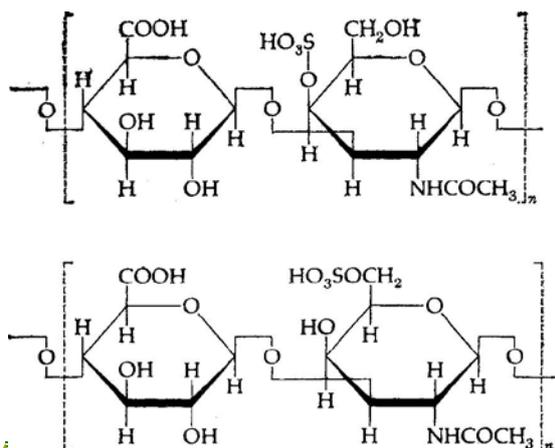
Остаток Остаток
D-глюкуроновой кислоты N-ацетилглюкозамина

Молекулярная масса в пределах от 10^5 до 10^7 . Во многих тканях гиалуроновая кислота находится в небольших количествах, однако она играет важную структурную роль в образовании агрегатов протеогликанов.

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Хондроитинсульфаты. Два широко

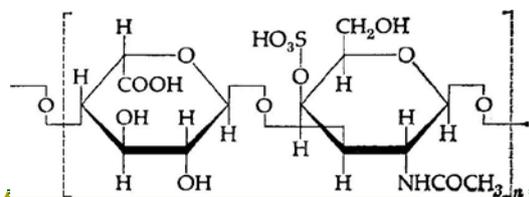
распространённых гликозаминогликана — хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат, различаются только по положению сульфатного эфира — по 4- или 6-гидроксилену N-ацетилгалактозамина соответственно:



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Молекулярная масса $1,10^4$ — $6,10^4$. Большинство препаратов являются полидисперсными. Препараты, выделенные из различных тканей, часто имеют различную степень сульфатирования. В тканях может находиться либо хондроитин-4-сульфат, либо хондроитин-6-сульфат, либо их смесь. Цепь из повторяющихся дисахаридных единиц ковалентно связана с серином полипептидного остова. При этом вставочным фрагментом является трисахарид галактозилгалактозил-келлоза.

Дерматансульфаты. Эти гликозаминогликаны в отличие от хондроитинсульфатов содержат L-идуроновую кислоту и имеют следующую повторяющуюся дисахаридную единицу:



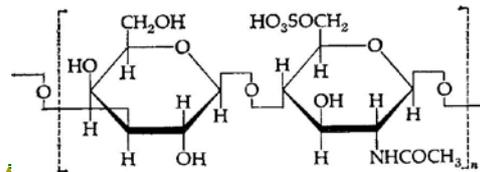
Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Повторяющаяся единица дерматаносульфата

В повторяющейся единице обнаружены также небольшие количества

~~глюкуроновой кислоты, заменяющей идуоновую кислоту. Эти гликозаминогликаны связаны с полипептидным остовом так же, как хондронтинсульфаты.~~

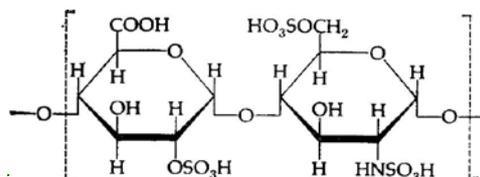
~~**Кератансульфаты.** Кератансульфат I и II содержат следующую повторяющуюся дисахаридную единицу:~~



~~Повторяющаяся единица кератансульфат I и II~~

~~Они, однако, отличаются друг от друга по суммарному содержанию углеводов и находятся в разных тканях. Кератансульфат I, выделенный из роговицы глаза, содержит также фукозу, сиаловую кислоту и маннозу. Его олигосахаридная цепь из повторяющихся единиц связана с полипептидным остовом так же, как и у сывороточных гликопротеидов, N-ацетилглюкозаминил-аспарагинильной связью, однако ещё не установлен характер связи между повторяющейся дисахаридной единицей и N-ацетилглюкозаминном. Кератансульфат II, выделенный из хряща и костей, помимо сахаров, которые входят в состав дисахаридной единицы, содержит также N-ацетилгалактозамин, фукозу, сиаловую кислоту и маннозу. Олигосахаридная цепь кератансульфата II присоединена к белку, по-видимому, через N-ацетилгалактозамин, образующий O-гликозидную связь с еерином или треонином.~~

~~**Гепарин и гепарансульфат.** Гепаринобнаруживается на поверхности многих клеток; он является внутриклеточным компонентом тучных клеток. Его повторяющаяся дисахаридная единица имеет следующую структуру:~~



~~Повторяющаяся структура гепарина~~

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

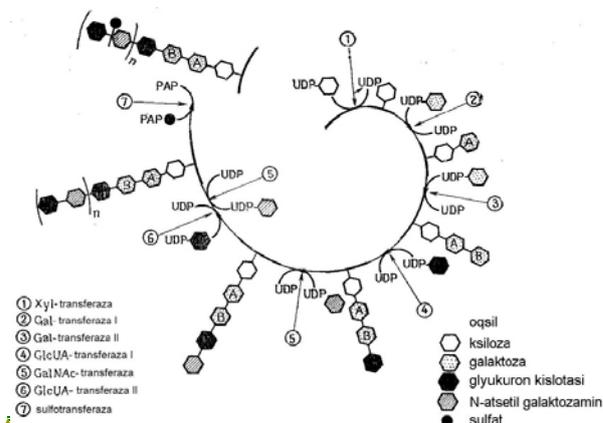
~~Некоторая часть гликозаминных остатков содержит N-ацетильные, а не N-сульфатные группы. Гепарансульфат содержит аналогичную дисахаридную единицу, но имеет больше N-ацетильных групп, меньше N-сульфатных групп и характеризуется меньшей степенью O-сульфатирования. Кроме того, также, как и дерматансульфаты, эти гликозамингликаны содержат некоторое количество L-идуроновой кислоты. Гепарин является важным антикоагулянтом.~~

~~Биосинтез протеогликанов~~

~~Каждый из уникальных олигосахаридных фрагментов протеогликанов синтезируется в результате последовательного действия ряда гликозилтрансфераз. Эти ферменты катализируют перенос моносахарида с нуклеотид сахара на соответствующий акцентор, которым может быть или другой сахар, или остаток аминокислоты в полипептиде. Олигосахаридная часть увеличивается ступенчато, каждый раз на один остаток, причём каждый последующий сахар присоединяется к передующему концу предыдущего(122 рис).~~

~~В биосинтезе хондроитинсульфата участвуют шесть различных гликозилтрансфераз и одна сульфотрансфераза. Гликозилирование происходит в аппарате Гольджи секреторных клеток, таких, как хондроциты хряща. После освобождения из рибосом полипептидная цепь протеогликана переходит по каналам эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи, где связанные с мембранами трансферазы начинают последовательный синтез олигосахаридных групп.~~

~~Полностью синтезированные молекулы поступают из аппарата Гольджи в область плазматической мембраны клетки и затем секретируются.~~



122-рис. Биосинтез протеогликанов (узбга перевод)

Выделенные из тканей протеогликаны называются агрегатами протеогликанов. Их основную часть составляют субъединицы протеогликанов. На долю гиалуроновой кислоты и связывающих белков приходится только около 1% общей массы. Стержнем субъединицы протеогликана является полипептидный остов. Полипептидные цепи отходят от гиалуроновой кислоты, образуя структуру, подобную ёршику (Рис. X).

Николаев, 442, рис. 18.12

Протеогликановые субъединицы связывают коллаген за счёт электростатических взаимодействий.

Функции протеогликанов

Наиболее интересное свойство различных протеогликанов состоит в том, что все они представляют собой поливалентные анионы, которые притягивают и прочно связывают катионы. Даже K^+ и Na^+ связываются так прочно, что их ионные свойства не проявляются. Все протеогликаны имеют тенденцию к агрегации; этот процесс ускоряется поливалентными катионами, такими, как, например, Ca^{+2} . Более длинные цепи, особенно цепи гиалуроновой кислоты, свёртываются относительно беспорядочным образом, занимая большое пространство, заполненное в основном молекулами растворителя воды. В это пространство (домен) имеют доступ небольшие

~~молекулы или ионы, однако крупные молекулы (например, сывороточный альбумин) не могут проникать в него.~~

~~Высокая вязкость растворов гиалуроновой кислоты позволяет предполагать, что она может служить смазочным материалом в суставах и изменение вязкости суставной жидкости при ревматических заболеваниях является следствием изменений, происходящих в структуре протеогликанов. Протеогликаны оказывают также сопротивление перемещению воды под внешним давлением и придают тканям эластичность и устойчивость по отношению к сжатию. Они функционируют как молекулярные сита, ограничивая перемещение крупных катионов и препятствуя проникновению внутрь доменов протеогликана молекул, имеющих размеры альбумина и иммуноглобулина.~~

~~Гиалуроновая кислота участвует также в морфогенезе и, по видимому, регулирует агрегацию мезенхимальных клеток в эмбриогенезе. Состав протеогликанов в клетках животных изменяется весьма закономерно в зависимости от возраста. Так, концентрация кератансульфатов в тканях (которые содержат эти соединения) увеличивается в течение жизни, в то время как содержание хондроитинсульфата в хрящах и межпозвоночных дисках, а также гиалуроновой кислоты в коже с возрастом уменьшается. Введение гормона роста в любом возрасте приводит к тому, что характер синтеза протеогликанов и их состав становится примерно такими же, как у очень молодых животных. Эффект гормона роста опосредуется действием соматомединов, при этом ускоряется пролиферация хрящевых клеток и стимулируется включение сульфата в протеогликаны. Введение тестостерона увеличивает скорость синтеза гиалуроновой кислоты в ряде тканей (клапаны сердца, кожа). В синовиальной жидкости суставов, поражённых ревматизмом или артритом, содержание гиалуроновой кислоты больше, чем в норме; она, однако, в значительной степени деполимеризована; введение ряда адренокортикостероидов вызывает быструю реполимеризацию гиалуроновой кислоты и в то же время резко угнетает синтез её de novo. Наблюдаемые при~~

~~сахарном диабете значительно большая восприимчивость к инфекциям, замедление заживления ран и ускорение дегенерации сосудов могут являться следствием уменьшения способности организма синтезировать мукополисахариды.~~

~~Фибронектин~~

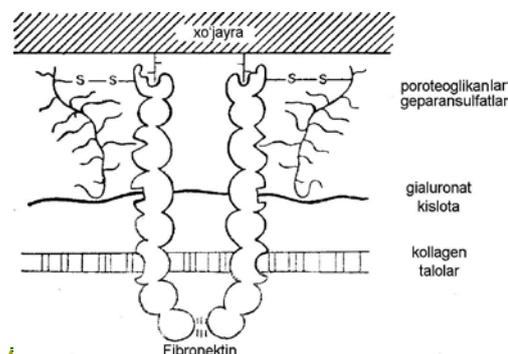
~~Фибронектин синтезируется многими клетками и выделяется межклеточное пространство. Фибронектин представляет собой димер одинаковых или немного различающихся субъединиц с молекулярной массой около 250 кДа, соединённых антипараллельно двумя дисульфидными связями в области С-концов. Пептидная цепь образует несколько глобулярных доменов. Молекулы имеют вытянутую форму. Молекула фибронектина содержит специфические центры связывания с другими молекулами — фибронектина, с коллагеном, сульфированными гликозамингликанами, интегринами (рис. X).~~

~~Николаев 438 стр. рис. 18.10~~

~~Кроме того, на молекуле фибронектина есть центр связывания трансглутаминазы фермента, который катализирует реакцию между остатками глутамина одной белковой молекулы и остатками лизина другой белковой молекулы, сшивая их друг с другом:~~



~~Присоединяясь к фибронектину, трансглутаминаза сшивает поперечными связями молекулы фибронектина друг с другом, с коллагеном и другими белками. Таким способом структуры, возникающие путём самосборки, фиксируются прочными ковалентными связями.~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт, Цвет шрифта: Черный

123-рис. Взаимодействие молекул межклеточных веществ (перевод на рус)

Изменение соединительной ткани при старении и коллагенозах

Общим возрастным изменением, которое свойственно всем видам соединительной ткани, является уменьшение содержания воды и отношения «основное вещество/волокна». Показатель этого соотношения уменьшается как за счёт нарастания содержания коллагена, так и в результате снижения концентрации гликозамингликанов. В первую очередь значительно снижается содержание гиалуроновой кислоты. Однако не только уменьшается общее количество кислых гликозамингликанов, но изменяется и количественное соотношение отдельных гликанов. Одновременно происходит также изменение физико-химических свойств коллагена (увеличение числа и прочности внутри- и межмолекулярных поперечных связей, снижение эластичности и способности к набуханию, развитие резистентности к коллагеназе и т.д.), повышается структурная стабильность коллагеновых волокон (прогрессирование процесса «созревания» фибриллярных структур соединительной ткани). Следует помнить, что старение коллагена *in vivo* неравнозначно износу. Оно является своеобразным итогом протекающих в организме метаболических процессов, влияющих на молекулярную структуру коллагена.

Среди многих поражений соединительной ткани особое место занимают коллагенозы. Для них характерно повреждение всех структурных составных частей соединительной ткани: волокон, клеток и межклеточного

~~основного вещества. К коллагенозам обычно относят ревматизм, ревматоидный артрит, системную красную волчанку, системную эклеродермию, дерматомиозит и узелковый периартериит. Каждое из этих заболеваний имеет своеобразное течение и сугубо индивидуальные проявления. Среди многочисленных теорий развития коллагенозов наибольшее признание получила теория инфекционно-аллергического происхождения.~~

~~Наконец, необходимо отметить, что нарушение процесса гидроксилирования коллагена — один из биохимических дефектов при цинге. Коллаген, синтезированный в отсутствие или при дефиците аскорбиновой кислоты, оказывается недогидроксилированным и, следовательно, имеет пониженную температуру плавления. Такой коллаген не может образовать нормальные по структуре волокна, что и приводит к поражению кожи и ломкости сосудов, столь чётко выраженных при цинге.~~

Глава 15

БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

~~Нервная система, являясь морфофункциональной совокупностью отдельных нейронов и других структур нервной ткани, объединяет деятельность всех органов и систем организма в его постоянном взаимодействии с внешней средой. Она воспринимает внешние и внутренние раздражители, анализирует и перерабатывает поступающую информацию, хранит следы прошлой активности (механизмы памяти) и соответственно регулирует и координирует функции организма.~~

~~На основании вышесказанного можно заключить, что нервная система выполняет коммуникативную, интегрирующую и адаптивную функцию всего организма.~~

~~Коммуникативная функция заключается в обеспечении структурно-функциональную взаимосвязь в организме, интегрирующая — регуляторную взаимосвязь между органами и тканями, а адаптивная — адекватную реакцию организма на внешние стимулы.~~

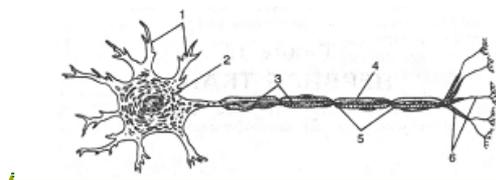
~~Нервная ткань имеет общие черты, присущие любым клеткам, а также специфические особенности. Особенности проявляются в химическом составе и в характере метаболизма нервной ткани.~~

~~Нервная ткань состоит из трех клеточных элементов: нейронов (собственно нервные клетки); нейроглии — клетки, окружающие нервные клетки в головном и спинном мозге; мезенхимных элементов, включающих микроглию — глияльные макрофаги (клетки Ортеги).~~

~~Основная масса головного мозга представлена нервными клетками и нейроглией. Серое вещество в большей степени состоит из нейронов (60–65% вещества головного мозга), а белое вещество ЦНС и периферические нервы — главным образом из элементов нейроглии и их производного — миелина.~~

~~СТРУКТУРА НЕЙРОНА~~

~~Головной мозг человека имеет порядка 10^{11} нейронов. Нейрон имеет тело, дендриты (многочисленные ветвящиеся короткие отростки) и аксон (один длинный отросток) (рис. 19.1). Дендриты и аксоны связывают каждый нейрон с другими нейронами, а аксоны также связывает нейроны с другими эффекторными клетками. Число нейрональных контактов, т.е. синапсов в мозге достигает порядка 10^{12} – 10^{14} . Через дендриты и аксоны проходит нервный импульс.~~



~~Рис. 19.1. Строение нейрона (схема по Шмитцу).~~

~~1 — дендриты; 2 — тело нейрона; 3 — аксон; 4 — миелиновая оболочка; 5 — перехваты узла; 6 — окончания.~~

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~Ультраструктура нейрона схематически приведена на рис. 19.2. Тело нейрона окружено плазматической мембраной — плазмалеммой. Основной ультраструктурой цитоплазмы нейрона является эндоплазматическая сеть, представляющая собой систему ограниченных мембраной пузырьков, трубочек и утолщенных мешочков, или цистерн. Рибосомы представлены в виде гранул, локализованные на мембранах эндоплазматической сети, а также свободно расположенные в цитоплазме. В подрисунке отмечены как полисомы.~~

~~Для нервной клетки характерной структурной является базофильное вещество, т.е. субстанция Ниссля, состоящая из РНК и белков. В цитоплазме нейрона выявляется сеть тонких нитей — нейрофибрилл, которые в совокупности образуют густую сеть. Нейрофибриллы — это структурное выражение правильной линейной ориентации белковых молекул.~~

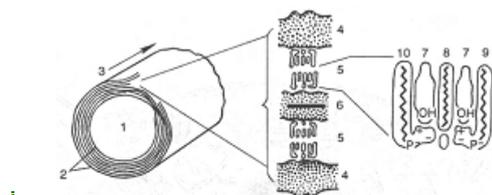
~~Пластинчатый комплекс (аппарат Гольджи) является важным компонентом цитоплазмы нейрона: там сосредоточены липидные компоненты клетки. Митохондрии нейронов содержат меньше ферментов, участвующих в процессах окисления жирных кислот и аминокислот, чем митохондрии других клеток.~~

Строение нервного волокна

Нервные волокна дендритов и аксонов представляют собой трубочку, являющаяся продолжением плазматической мембраны тела нейрона. Полость волокна содержит цитоплазму (аксоплазму), а основными ее органеллами являются микротрубочки, образованные белком тубулином. В аксоплазме также содержится нейрофиламенты (диаметр 10 нм) и микрофиламенты (диаметр 5 нм), образованные из актина. Роль этих структур заключается в создании аксоплазматического тока, т.е. движение аксоплазмы из тела нейрона к синапсам. Именно этим током в синаптические окончания перемещаются различные метаболиты, белки и даже субклеточные структуры — митохондрии, эндоплазматический ретикулум, лизосомы. Обратный ток, т.е. от синапсов к телу нейрона менее интенсивное. Нервные волокна окружены миелиновой оболочкой. В периферических нервных стволах миелиновая оболочка представлена леммоцитами, а в мозге клетки глии (олигодендроглиальные клетки).

По сути миелин — это система, образованная многократно налегающими мембранами клеток нейроглии вокруг нервных отростков.

Миелиновое вещество представляет собой сложный белково-липидный комплекс. При этом на долю липидов приходится до 80% плотного осадка; 90% всех липидов миелина представлено холестерином, фосфолипидами и цереброзидами. На рис. 19.3 схематически представлено молекулярное строение миелиновой оболочки.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt

Отформатировано: русский

~~Рис. 19.3. Молекулярная организация миелиновой оболочки (по Х. Хидену).~~

~~1 — аксон; 2 — миелин; 3 — ось волокна; 4 — белок (наружные слои); 5 — липиды; 6 — белок (внутренний слой); 7 — холестерин; 8 — цереброзид; 9 — ефингомиелин; 10 — фосфатидилсерин.~~

~~ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОЗГА~~

~~Серое вещество головного мозга представлено телами нейронов, а белое — аксонами. В этой связи оба отдела мозга существенно различаются по химическому составу. Различия носят прежде всего количественный характер. Содержание воды в сером веществе головного мозга заметно больше, чем в белом (табл. 19.1).~~

~~Основными веществами мозговой ткани являются белки и липиды. В сером веществе белки составляют половину плотных веществ, а в белом веществе — одну треть. Однако в пересчете на сырую массу мозга количество белков примерно одинаково, что обусловлено именно различием в количестве воды в этих отделах. На долю липидов в белом веществе приходится более половины сухого остатка, в сером веществе — лишь около 30%.~~

~~Таблица 19.1. Химический состав серого и белого вещества головного мозга человека (в процентах от массы сырой ткани)~~

Составные части	Серое вещество	Белое вещество
Вода	84	70
Сухой остаток	16	30
Белки	8	9
Липиды	5	17
Минеральные вещества	1	2

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Отформатировано: русский

~~**Белки.** Белки составляют примерно 40% от сухой массы головного мозга. А.Я. Данилевский впервые разделил белки мозговой ткани на две фракции: 1) растворимые в воде и солевых растворах и 2) нерастворимые белки. А.В. Палладин с сотрудниками разделили белки нервной ткани на 4 фракции: 1) извлекаемые водой, 2) 4,5% раствором KCl, 3) 0,1% раствором NaOH и 4) нерастворимый остаток. Серое вещество богаче растворимыми в воде белками, чем белое вещество (30 и 19% соответственно). Белое вещество, наоборот, содержит гораздо больше (22%) нерастворимого белкового остатка, чем серое вещество (5%). В настоящее время, сочетание различных современных методов выделения белков позволило разделить из ткани мозга около 100 различных растворимых белковых фракций.~~

~~В нервной ткани содержатся простые и сложные белки.~~

~~К простым белкам мозга относятся нейроальбумины, нейроглобулины, катионные белки (гистоны и др.) и опорные белки — нейросклеропротейны.~~

~~Количество нейроглобулинов в головном мозге в среднем 5% по отношению ко всем растворимым белкам. Нейроальбумины являются основным белковым компонентом фосфопротеинов нервной ткани, на их долю приходится основная масса растворимых белков (89-90%). Они в свободном состоянии встречаются редко; они, в основном, соединены с липидами, нуклеиновыми кислотами, углеводами и другими небелковыми компонентами.~~

~~Главнейшими представителями катионных белков нервной ткани являются гистоны, которые делятся на пять фракций в зависимости от содержания в них лизина, аргинина и глицина.~~

~~Нейросклеропротейны являются структурно опорными белками. Основными их представителями являются нейроколлагены, нейроэластины, нейростромнины и др. Они локализованы в основном в белом веществе~~

~~головного мозга и в периферической нервной системе и составляют примерно 8-10% от общего количества простых белков.~~

~~Сложные белки нервной ткани — это нуклеопротеины, липопротеины, протеолипиды, фосфопротеины и гликопротеины.~~

~~Нуклеопротеины принадлежат либо к дезоксирибонуклеопротеинам, либо к рибонуклеопротеинам. Часть этих белков из мозговой ткани извлекается водой, другая часть — солевыми средами, а третья — 0,1 М раствором щелочи.~~

~~Липопротеины составляют значительную часть водорастворимых белков мозговой ткани. Их липидный компонент — фосфолипиды и холестерин.~~

~~Протеолипиды — белково-липидные соединения, они экстрагируются из ткани мозга органическими растворителями. В отличие от липопротеинов тем, что они нерастворимы в воде, но растворимы в смеси хлороформ-метанол. Белки, освобожденные от липидов, растворимы в воде, а также (благодаря высокому содержанию гидрофобных аминокислот) в смеси хлороформ-метанол. Наибольшее количество протеолипидов сосредоточено в миелине, в небольших количествах они входят в состав синаптических мембран и синаптических пузырьков.~~

~~Фосфопротеины в головном мозге содержатся в большем количестве, чем в других органах и тканях (около 2% от общего количества всех сложных белков). Они обнаружены в мембранах различных морфологических структур нервной ткани.~~

~~Гликопротеины представляют собой чрезвычайно гетерогенную группу белков. По количеству белка и углеводов, их можно разделить на 2 группы:~~

- ~~гликопротеины, содержащие от 5 до 40% углеводов и их производных; белковая часть состоит преимущественно из альбуминов и глобулинов;~~
- ~~гликопротеины, содержащие от 40 до 85% углеводов, часто обнаруживается липидный компонент; по своему составу они могут быть отнесены к гликолипопротеинам.~~

~~В мозговой ткани также содержатся более сложные надмолекулярные образования: липонуклеопротеины, липогликопротеины и, возможно, липогликонуклеопротеиновые комплексы.~~

~~В нервной ткани обнаружены также ряд специфических белков, к примеру, белок S-100 и белок 14-3-2.~~

~~Белок S-100 (белок Мура, кислый белком) содержит большое количество остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот. Он сосредоточен в основном в нейроглии (85-90%), а в нейронах его не более 10-15% от общего количества белка. Интересно то, что его возрастает при обучении (т.е. тренировках) животных. Однако вопрос о его роли в формировании и хранении памяти остается открытым. Вероятно, он участвует в этих процессах опосредованно.~~

~~Белок 14-3-2 также является кислым белком. Он локализован в основном в нейронах; в нейроглиальных клетках его содержание невелико. Пока неясна роль белка 14-3-2 в выполнении специфических функций нервной ткани.~~

~~**Ферменты.** В мозговой ткани содержатся ферменты, катализирующие обмен углеводов, липидов и белков. В кристаллическом виде из ЦНС млекопитающих выделены лишь некоторые ферменты (ацетилхолинэстераза, креатинкиназа). Большое количество ферментов мозговой ткани находится в нескольких молекулярных формах (изоферменты): ЛДГ, альдолаза,~~

~~креатинкиназа, гексокиназа, малатдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа, холинэстераза, кислая фосфатаза, моноаминоксидаза и др.~~

~~**Липиды.** Липидный состав нервной ткани приведен в табл. Вообще, общее количество липидов в нервной ткани значительное. Липиды головного мозга представлены фосфолипидами, холестерином, сфингомиелинами, цереброзидами, ганглиозидами и в небольшом количестве нейтральным жиром. Обычно многие липиды нервной ткани образуют сложные системы типа протеолипидов.~~

~~В сером веществе головного мозга преобладают фосфолипиды (более 60% от всех липидов), а в белом веществе их около 40%. В белом веществе преобладают холестерин, сфингомиелины и цереброзиды.~~

~~Таблица 19.2. Липидный состав нервной ткани~~

~~Таблица 19.2. Липидный состав нервной ткани~~

	Серое вещество	Белое вещество	Миелин
Общее содержание липидов, % от сухой массы	32,7	54,9	70
В процентах от общих липидов			
Холестерин	22,0	27,5	27,7
Цереброзиды	5,4	19,8	22,7
Ганглиозиды	1,7	5,4	3,8
Фосфатидилэтаноламины	22,7	14,9	15,6
Фосфатидилхолины	26,7	12,8	11,2
Фосфатидилсерины	8,7	7,9	4,8
Фосфатидилинозитолы	2,7	0,9	0,6
Плазмалогены	8,8	11,2	12,3
Сфингомиелины	6,9	7,7	7,9

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Отформатировано: русский

~~**Углеводы.** Хотя в мозговой ткани имеются гликоген и глюкоза, но по сравнению с другими тканями она бедна углеводами. Содержание глюкозы в головном мозге разных животных составляет 1-4 ммоль/г ткани, а гликогена — 2,5-4,5 ммоль/г ткани. Интересно, что содержание гликогена в мозге эмбрионов и новорожденных животных значительно выше, чем в мозге взрослых. Например, у новорожденных мышей уровень гликогена в 3 раза выше, чем у взрослых особей. По мере роста и дифференцировки мозга концентрация гликогена быстро снижается и остается относительно постоянной у взрослого животного.~~

~~В мозговой ткани имеются также промежуточные продукты обмена углеводов: гекеозо- и триозофосфаты, молочная, пировиноградная и другие кислоты (табл. 19.3).~~

~~Таблица 19.3. Средние данные о содержании некоторых метаболитов обмена углеводов в головном мозге крыс~~

Таблица 19.3. Средние данные о содержании некоторых метаболитов обмена углеводов в головном мозге крыс

Метаболит	Содержание, мкмоль на 1 г сырой массы ткани	Метаболит	Содержание, мкмоль на 1 г сырой массы ткани
Глюкозо-6-фосфат	0,039-0,049	3-Фосфоглицерат	0,085-0,100
Фруктозо-6-фосфат	0,017-0,023	2-Фосфоглицерат	0,010-0,016
Фруктозо-1,6-бисфосфат	0,010-0,017	Фосфоенолпируват	0,035-0,097
Диоксинацетонфосфат	0,024	Пируват	0,120-0,190
Глицеральдегид-3-фосфат	0,021-0,046	Лактат	1,26-1,70

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 pt

Отформатировано: русский

~~Адениловые нуклеотиды и креатинфосфат. В мозговой ткани на долю адениннуклеотидов приходится около 84% от всех свободных нуклеотидов. Их распределение приведено в табл. Большую часть оставшихся нуклеотидов составляют производные гуанина. В целом количество высокоэнергетических соединений в нервной ткани невелико.~~

Табл.

~~Содержание нуклеотидов и креатинфосфата в головном мозге крыс~~

Высокоэнергетические вещества	мкмоль на 1 г сырой массы
АТФ	2,30—2,90
АДФ	0,30—0,50
АМФ	0,03—0,05
ГТФ	0,20—0,30
ГДФ	0,15—0,20

УГФ	0,17—0,25
креатинфосфат	3,50—4,75

~~Содержание циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) в головном мозге значительно выше, чем во многих других тканях. Уровень цАМФ в мозге в среднем 1-2, а цГМФ — до 0,2 нмоль/г ткани. Для мозга характерна также высокая активность ферментов метаболизма циклических нуклеотидов.~~

~~Минеральные вещества. Ионы Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} и Mn^{2+} распределены в головном мозге относительно равномерно в сером и белом веществе. Содержание фосфатов в белом веществе выше, чем в сером. Содержание ионов в головном мозге в сравнении с плазмой крови приведено на табл. 19.4.~~

~~Таблица 19.4. Содержание основных минеральных компонентов в ткани головного мозга и в плазме крови человека~~

~~Таблица 19.4. Содержание основных минеральных компонентов в ткани головного мозга и в плазме крови человека~~

Компонент	Мозговая ткань, ммоль/кг	Плазма крови, ммоль/л
Na^+	57	141
K^+	96	5
Ca^{2+}	1	2,5
Cl^-	37	101
HCO_3^-	12	28

~~Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт~~

~~Отформатировано: русский~~

~~Из данных таблицы 19.4 видно, что концентрация ионов Na^+ , K^+ , а также Cl^- в мозге резко отличается от концентрации их в плазме крови. Более того, видно, что количество катионов значительно превышает количество анионов. Это приводит к дефициту анионов. Считают, что данный дефицит анионов покрывается за счет липидов.~~

~~ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА НЕРВНОЙ ТКАНИ~~

Дыхание. Головной мозг составляет 2-3% от массы тела, однако потребление кислорода им в состоянии покоя достигает 20-25% от общего потребления его всем организмом. Мозг детей до 4 лет потребляет даже 50% кислорода, утилизируемого всем организмом. Вообще, газообмен мозга значительно выше, чем газообмен других тканей, в частности он превышает газообмен мышечной ткани почти в 20 раз. Однако интенсивность дыхания различных областей головного мозга неодинакова: интенсивность дыхания белого вещества в 2 раза ниже, чем серого. Особенно интенсивно расходуют кислород клетки коры мозга и мозжечка. Поглощение кислорода головным мозгом значительно меньше при наркозе. При увеличении функциональной активности интенсивность дыхания мозга возрастает.

Метаболизм углеводов. Для мозга основным субстратом дыхания является глюкоза. В 1 мин 100 г ткани мозга потребляют в среднем 5 мг глюкозы. Практически вся глюкоза подвергается аэробному окислению до CO_2 и H_2O . В мозге также имеется пентозофосфатный путь окисления глюкозы. В головном мозге человека в целом содержится около 750 мг глюкозы. В то же время за 1 мин мозг окисляет 75 мг глюкозы. Следовательно, имеющееся количество глюкозы в мозге хватает всего 10 мин. Поэтому, глюкоза легко диффундирует из крови в ткань головного мозга. Хотя в мозге имеется гликоген, он не имеет существенной роли в энергетическом отношении, так как его содержание невелико. Наряду с аэробным метаболизмом углеводов мозговая ткань способна к довольно интенсивному анаэробному гликолизу. При голодании и длительной мышечной работе мозг использует кетоновые тела, окисление которых может обеспечивать в этих условиях до половины его потребности в энергии. Мозг не выделяет в кровь молочную кислоту, хотя в его ткани имеется фермент лактатдегидрогеназа. Более того, при мышечной работе он поглощает молочную кислоту из крови. Вероятно, лактатдегидрогеназа и система

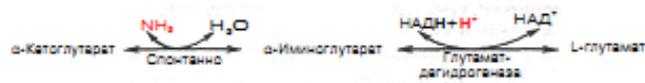
~~«лактат-пируват» нужны в качестве буфера, регулирующего концентрацию пирувата.~~

~~Основным потребителем энергии в мозге является Na,K-АТФаза, поддерживающая потенциал покоя и восстанавливающая его после прохождения нервного импульса. Преимущественное потребление глюкозы и делает мозг в высокой степени чувствительным к гипогликемии, а аэробный характер катаболизма глюкозы делает его чувствительным к гипоксии.~~

~~**Метаболизм макроэргических фосфатов.** Интенсивность обновления макроэргических фосфатов в мозге велика. В случае прекращения доступа кислорода мозг может «просуществовать» немногим более минуты за счет резерва лабильных фосфатов. Прекращение доступа кислорода даже на 10-15 с нарушает энергетику нервных клеток, что приводит к обморочному состоянию. При инсулиновой коме нарушаются процессы окислительного фосфорилирования, что снижает концентрацию АТФ и происходит изменение функций мозга. Возбуждение и наркоз также быстро сказываются на обмене лабильных фосфатов. При наркозе наблюдается угнетение дыхания, что приводит к увеличению содержания АТФ и креатинфосфата. При раздражении интенсивность дыхания усиливается в 2-4 раза, что приводит к снижению уровня АТФ и креатинфосфата.~~

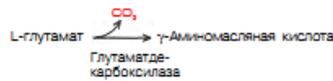
~~**Метаболизм аминокислот и белков.** Концентрация аминокислот в мозге человека в 8 раз больше, чем в крови. Аминокислотный состав мозга обладает определенной специфичностью. Так, концентрация свободной глутаминовой кислоты в мозге выше, чем в любом другом органе млекопитающих (10 мкмоль/г). На долю глутаминовой кислоты вместе с ее амидом — глутамином и трипептидом глутатионом приходится более 50% α-аминоазота головного мозга. В мозге содержится также такие аминокислоты, как γ-аминомасляная кислота, N-ацетиласпарагиновая кислота и цистатионин, которые обнаруживаются в других тканях млекопитающих.~~

незначительных количествах. Обмен аминокислот в мозговой ткани протекает в разных направлениях. Прежде всего свободные аминокислоты не используются для синтеза белков и биогенных аминов. Одна из функций дикарбоновых аминокислот в головном мозге — связывание аммиака, освобождающегося при возбуждении нервных клеток. Поступления аминокислот в мозговую ткань и выход из нее, а также использование глюкозы крови для синтеза аминокислот нейронов и глиии в разных отделах мозга различны. Это обусловлено наличием гематоэнцефалического барьера. Белки в головном мозге находятся в состоянии активного обновления, однако в разных его отделах скорость синтеза и распада белков неодинакова. Белки серого вещества полушарий и мозжечка обновляются особенно большой скоростью. В участках головного мозга, богатых проводниковыми структурами — аксонами (белое вещество головного мозга), скорость синтеза и распада белковых молекул меньше. При различных функциональных состояниях ЦНС наступают изменения в интенсивности обновления белков. Так, при действии на организм возбуждающих агентов (фармакологические средства и электрический ток) в головном мозге усиливается интенсивность обмена белков. Под влиянием наркоза скорость распада и синтеза белков снижается. Возбуждение нервной системы сопровождается повышением содержания аммиака в нервной ткани. Это явление наблюдается как при раздражении периферических нервов, так и при раздражении мозга. Образование аммиака при возбуждении в первую очередь происходит за счет дезаминирования АМФ. В мозговой ткани аммиак нейтрализуется за счет образования глутамина — амида глутаминовой кислоты. Реакцию амидирования катализирует глутаминсинтетаза. Источником глутаминовой кислоты в мозговой ткани является α -кетоглутаровая кислота: она аминирована с образованием α -иминоглутарата, который восстанавливается до глутамата с помощью НАДН.



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~Глутаминовая кислота в нервной ткани также может декарбоксилироваться с образованием ГАМК:~~



Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

Отформатировано: русский

~~ГАМК в наибольшем количестве содержится в сером веществе головного мозга. В спинном мозге и периферических нервах ее значительно меньше.~~

~~**Метаболизм липидов.** Липиды составляют около половины сухой массы головного мозга. В нервных клетках серого вещества особенно много фосфолипидов, а в миелиновых оболочках нервных стволов — сфингомиелина. Из фосфолипидов серого вещества наиболее интенсивно обновляются фосфатидилхолин и, особенно, фосфатидилинозитол. Обмен липидов миелиновых оболочек протекает с небольшой скоростью. Холестерин, цереброзиды и сфингомиелины обновляются очень медленно. В головном мозге человека содержится много холестерина (около 25 г). У новорожденных в головном мозге содержание холестерина всего 2 г. Однако его количество резко возрастает в первый год жизни (примерно в 3 раза) и биосинтез холестерина происходит в самой мозговой ткани. У взрослых синтез холестерина в головном мозге резко снижается. Основная часть холестерина в зрелом мозге находится в неэтерифицированном состоянии, эфиры холестерина обнаруживаются в относительно высокой концентрации в участках активной миелинизации. Пути биосинтеза фосфолипидов в мозге сходны с теми, которые осуществляются в других тканях. Жирные кислоты образуются в основном из глюкозы, однако частично синтез их происходит из ацетоацетата, цитрата и ацетиласпартата.~~

~~ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ПРОВЕДЕНИЯ НЕРВНЫХ ИМПУЛЬСОВ~~

~~Сигналы, передаваемые нервными клетками, по природе являются изменением электрического потенциала плазматической мембраны нейронов, которое и называют иначе нервным импульсом. Нервный импульс создается благодаря натриевому насосу (Na^+, K^+ АТФаза) и двух типов каналов — натриевые и калиевые. Хотя функционально все три устройства связаны друг с другом, все они представляет собой самостоятельную структурную единицу, построенную из специальных белков. Натриевый насос перекачивает ионы Na^+ наружу, а K^+ — внутрь, создавая трансмембранный градиент концентраций этих ионов за счет энергии АТФ. Натриевые и калиевые каналы могут открываться и закрываться; через них Na^+ и K^+ двигаются по градиенту концентрации этих ионов.~~

~~**Потенциал покоя.** При покое натриевые и калиевые каналы закрыты, а натриевый насос работает непрерывно, создавая разность концентраций ионов Na^+ и K^+ по сторонам мембраны. Эта разность влияет также на распределение других ионов (табл. 23.2), в результате чего устанавливается динамическое — равновесие, при котором — электро-химический трансмембранный градиент окажется равно нулю. Однако распределение зарядов окажется неравномерным: внутри аксона образуется избыток отрицательных зарядов, снаружи — избыток положительных, т. е. возникает трансмембранная разность электрических потенциалов — потенциал покоя. В состоянии покоя она равна 60–70 мВ, отрицательный заряд внутри аксона. Потенциал покоя одинаков на всем протяжении волокна. Он не является специфической особенностью нервных клеток. Натриевый насос имеется в плазматической мембране всех клеток и во всех случаях его действия приводит к возникновению потенциала покоя.~~

Потенциал действия. При раздражении нерва в мембране аксона открываются натриевые и калиевые каналы. Вероятно, это происходит в результате изменения конформации и ионизации белков, из которых построены каналы. Натриевые каналы открываются раньше, чем калиевые, и их пропускная способность больше. В результате ионы Na^+ попадают внутрь аксона, что приводит к изменению величины трансмембранного электрического потенциала: сначала он становится равным нулю, т.е. произойдет деполяризация мембраны, затем вновь происходит поляризация, однако теперь внутри аксона окажется больше положительных зарядов, чем снаружи, т.е. произойдет инверсия полярности. В этом состоянии разность потенциалов достигает 40 мВ, положительный заряд — внутри аксона. Следовательно, общая амплитуда изменения от потенциала покоя (-60...-70 мВ) до максимального значения потенциала при раздражении нерва (+40 мВ) составляет примерно 100 мВ (рис. 23.2). Затем натриевые каналы закрываются, а калиевые открываются, начинается выход ионов K^+ из клетки, и потенциал изменяется от +40 до -70 мВ, т.е. до уровня потенциала покоя. Эту последовательность событий называют потенциалом действия; она продолжается менее 1 мс. Значение потенциала покоя одинаково на всем протяжении аксона, а потенциал действия охватывает лишь очень небольшой участок аксона (в миелинизированных волокнах — от одного перехвата Ранье до соседнего). Потенциал действия возникает, когда какая-либо причина уменьшает потенциал покоя примерно до 50 мВ (пороговая величина). Продолжительность потенциала действия определяется временем, в течение которого каналы открыты. Во время закрывания каналов они не чувствительны к поляризации, и раздражение в этот период не вызывает потенциала действия (рефрактерный период, продолжающийся около 1 мс).

Движение потенциала действия по аксону. Потенциал действия, возникнув в одном участке аксона, вследствие диффузии ионов из этого участка вдоль волокна снижает потенциал покоя в соседнем участке и

~~вызывает здесь тоже развитие потенциала действия. Этот механизм позволит потенциалу действия, возникнув в одном месте, проходит весь аксон и достигать воспринимающей клетки. В таком качестве потенциал действия называют нервным импульсом.~~

~~В миелинизированном нервном волокне натриевые и калиевые ионные каналы расположены в немиелинизированных участках перехватов Ранвье. В таких участках мембрана аксона контактирует с межклеточной жидкостью. Поэтому нервный импульс перемещается «скачками»: ионы Na^+ , при открытии каналов в одном перехвате, диффундируют вдоль аксона до следующего перехвата, снижают здесь потенциал до 50 мВ и индуцируют потенциал действия. Диффузия происходит быстро, так как между перехватом Ранвье, находящимся в максимуме потенциала действия, и соседним покоящимся перехватом возникает разность потенциалов, близкая к 100 мВ. Благодаря такому устройству скорость проведения импульса в миелинизированном волокне равняется от 30 до 50 м/с. Это в 5-6 раз больше, чем в немиелинизированных волокнах: у них потенциал действия перемещается плавно. Пороговая величина поляризации, вызывающая нервный импульс, зависит от концентрации ионов Ca^{2+} . Внутриклеточная концентрация Ca^{2+} равна примерно 0,3 мкмоль/л; при гипокальциемии она уменьшается, вследствие чего снижается пороговая величина возбуждения нервов и могут возникать судороги.~~

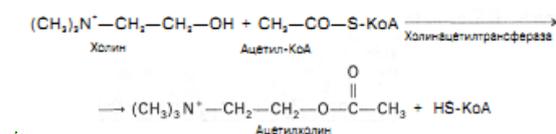
~~Миелиновые мембраны, образуемые шванновскими клетками, служат электрическим изолятором. Этот изоляционный слой покрывает большинство нервных волокон и сильно ускоряет распространение электрической волны (сигнала); при этом ионы входят в клетку и выходят из нее только в тех местах, где изолятор отсутствует. Некоторые заболевания, например, рассеянный склероз, характеризуются демиелинизацией, что и приводит к нарушению проведения нервного импульса.~~

РОЛЬ МЕДИАТОРОВ В ПЕРЕДАЧЕ НЕРВНЫХ ИМПУЛЬСОВ

В синапсе аксон прерывается, и передача импульса на другую клетку происходит путем диффузии определенного вещества — медиатора. В синапсах одного нейрона используется в качестве медиатора какое-либо одно вещество — ацетилхолин (холинергические нейроны, или синапсы), норадреналин (адренергические нейроны) и т. д.

Химическое вещество можно отнести к числу медиаторов лишь в том случае, если оно удовлетворяет ряду критериев. Так, в нервных волокнах должны содержаться ферменты, необходимые для синтеза этого вещества. При раздражении нервов это вещество должно выделяться, реагировать со специфическим рецептором на постсинаптической клетке и вызывать биологическую реакцию. Должны существовать механизмы, быстро прекращающие действие этого вещества. Всем этим критериям удовлетворяют два вещества — ацетилхолин и норадреналин. Содержащие их нервы называют соответственно холинергическими и адренергическими. В соответствии с этим все эфферентные системы делят на холинорецепторы и адренорецепторы. Ряд других химических веществ удовлетворяют многим, но не всем перечисленным критериям. К таким медиаторам относят дофамин, адреналин, серотонин, октопамин, гистамин, ГАМК и др.

Холинергические синапсы. Ацетилхолин — это сложный эфир уксусной кислоты и холина. Он синтезируется в нервной клетке из холина и ацетилкоэнзима А при помощи фермента холинацетилтрансферазы:



Синапс — это узкое пространство (щель), ограниченное с одной стороны пресинаптической, а с другой — постсинаптической мембраной (рис. 19.4). Пресинаптическая мембрана имеет внутренний слой, принадлежащий

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, 14 пт

~~цитоплазме нервного окончания, и наружный слой, образованный нейроглией. Мембрана местами утолщена и уплотнена, есть места, где имеются отверстия для сообщения цитоплазмы аксона с синаптическим пространством. Постсинаптическая мембрана менее плотная и не имеет отверстий.~~

~~Процесс участия ацетилхолина в передаче нервного импульса можно представить следующим образом. В синаптических нервных окончаниях имеются везикулы диаметром 30-80 нм, которые содержат нейромедиаторы. Оболочка пузырьков образована белком клатрином (молярная масса 180000). В холинергических синапсах каждый пузырек диаметром 80 нм содержит 40000 молекул ацетилхолина. При возбуждении медиатор высвобождается «квантами», т.е. путем полного опорожнения каждого отдельного пузырька. В нормальных условиях выделяется примерно 100-200 квантов медиатора. Механизм высвобождения медиатора, вероятно, заключается в следующем. Деполаризация мембраны синаптических окончаний вызывает быстрый ток ионов Ca^{2+} в клетку. Повышенное содержание ионов Ca^{2+} стимулирует слияние мембраны синаптических пузырьков с плазматической мембраной и запускается процесс высвобождения их содержимого.~~

~~Выделенный в синаптическую щель ацетилхолин вступает во взаимодействие с рецептором, входящим в состав постсинаптической мембраны. В результате изменяется проницаемость мембраны, что выражается в резком увеличении пропускной способности для Na^{+} . Взаимодействие между рецептором и медиатором запускает ряд реакций, заставляющих постсинаптическую нервную клетку или эффекторную клетку выполнять свою специфическую функцию. После наступает фаза инактивации или удаления медиатора.~~

~~При тяжелой аутоиммунной болезни — миастении (myasthenia gravis) наблюдается уменьшение числа функционирующих постсинаптических рецепторов. В результате возникает тяжелейшая мышечная слабость, нередко с летальным исходом. При лечении миастении наряду с другими препаратами применяются также антихолинэстеразные препараты (прозерин, калимин, нейромидин). Эти соединения ингибируя ацетилхолинэстеразу, способствуют накоплению ацетилхолина и в конечном итоге мышечному сокращению.~~

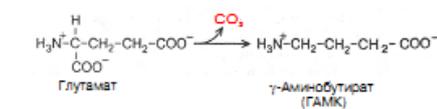
~~Помимо антагонистов, оказывающих прямое воздействие на рецепторы, существуют ингибиторы, влияющие на другие этапы передачи импульсов. Например, ботулинический токсин тормозит высвобождение ацетилхолина из синаптических пузырьков. Тетродотоксин из рыбы фугу и сакситоксин блокирует натриевые каналы в постсинаптической мембране, а тем самым и первую передачу. Батрахотоксин увеличивает проницаемость мембран мышечных клеток для Na^+ . Столбнячный токсин блокирует передачу импульсов в центральной нервной системе и в нервно-мышечных соединениях, вероятно, путем нарушения транспорта кальция.~~

~~Адренергические синапсы. Существует α - и β -адренорецепторы. β -Адренорецепторы включают эфферентную клетку с помощью циклического аденозин-3',5'-монофосфата (цАМФ) — универсального «второго посредника» между гормонами и различными функциями клеток. Установлено, что при взаимодействии норадреналина с β -адренорецептором, расположенный на наружной поверхности мембраны эффекторной клетки, на внутренней поверхности клеточной мембраны активируется фермент аденилатциклаза. Активированная аденилатциклаза превращает АТФ в цАМФ; последний способен оказывать влияние на метаболизм клетки. Этот сложный ряд каскадных реакций может быть заблокирован пропранололом — веществом, препятствующим связыванию норадреналина с β -адренергическим рецептором.~~

~~В метаболизме катехоламинных медиаторов особая роль принадлежит моноаминоксидазе (МАО). Этот фермент удаляет аминогруппу (-NH₂) у норадреналина, серотонина, дофамина и адреналина, тем самым инактивирует их. В последние годы показано существование механизма быстрого удаления медиатора. Так, норадреналин может быстро исчезать из синаптической щели в результате вторичного поглощения симпатическими нервами.~~

~~Адренергическая и холинергическая системы головного мозга тесно взаимодействуют с другими системами мозга, в частности использующими серотонин в качестве медиатора. Серотонинсодержащие нейроны, в основном, сосредоточены в ядрах мозгового ствола. Нейромедиаторная роль серотонина осуществляется в результате взаимодействия серотонина со специфическими серотонинергическими рецепторами. Исследования, проведенные с ингибитором синтеза серотонина - хлорфенилаланином, а также с другими ингибиторами, показали, что серотонин влияет на процессы сна.~~

~~Важным нейромедиатором, выполняющим тормозные функции, является γ-аминомасляная кислота (ГАМК), количество которой в головном мозге во много раз больше, чем других нейромедиаторов. Так, в гипоталамусе суммарное содержание ацетилхолина, норадреналина, дофамина и серотонина не превышает 10 мкг/г, в то время как содержание ГАМК в этом отделе более 600 мкг/г. ГАМК увеличивает проницаемость постсинаптических мембран для ионов K⁺ и тем самым отдаляет мембранный потенциал от порогового уровня, при котором возникает потенциал действия; ГАМК образуется при декарбоксилировании глутамата глутаматдекарбоксилазой:~~



~~В терапевтической практике применяется большое количество лекарственных средств, которые действуют через систему медиаторов. Многие лекарственные препараты, успешно применяемые при лечении гипертонии, влияют на накопление и выделение адренергических медиаторов. Например, резерпин специфически тормозит процесс переноса катехоламинов в специальные гранулы нейронов и, тем самым, делает эти амины доступными действию эндогенной MAO. В результате содержание норадреналина снижается, с чем и связан гипотензивный эффект резерпина. Другой гипотензивный препарат — α-метилдофа, под действием ферментов нервной клетки (аксона) превращается в вещество, напоминающее по своему строению норадреналин. Эти «ложные» медиаторы накапливаются и выделяются вместе с естественными медиаторами, «разбавляя» их и тем самым снижая их эффект. Многие антидепрессанты (вещества, снимающие депрессию) увеличивают содержание катехоламинов в синаптической щели, т.е. количество медиаторов для стимулирования рецептора возрастает. К примеру, имипрамин блокирует поглощение норадреналина нервными волокнами, амфетамин способствует выделению норадреналина и блокирует его поглощение, ингибиторы MAO подавляют метаболизм катехоламинов и т.д. Эти результаты легли в основу катехоламиновой гипотезы депрессивных состояний, согласно которой психическая депрессия связана с недостатком катехоламинов в мозге. В начале 50-х годов фармакологи выяснили, что известный галлюциноген диэтиламин лизергиновой кислоты (ЛСД) не только сходен по химическому строению с серотонином, но и нейтрализует некоторые его фармакологические эффекты (блокируя рецепторы серотонина). Поэтому было высказано предположение, что нарушение обмена серотонина может быть причиной возникновения особых психических заболеваний. Одним из важнейших проблем медицины является шизофрения, характеризующееся расстройством мышления, угнетенным состоянием духа и замкнутостью. Нередки также галлюцинации и параноидные явления. Существуют разные гипотезы патогенеза шизофрении.~~

~~По одной из них шизофрения может быть следствием гиперактивности дофаминовых нейронов. Считают, что такие антипсихотические средства, как аминазин (хлорпромазин) и галоперидол, усиливая синтез катехоламинов, способны блокировать дофаминовые рецепторы, в связи с чем возникает функциональный дефицит дофамина.~~

~~С нарушением дофаминергической передачи импульсов связана также болезнь Паркинсона, проявляющаяся ригидностью мышц, скованностью движений и характерными непроизвольными движениями. В полосатом теле мозга людей, умерших от болезни Паркинсона, резко снижено содержание дофамина. Введение ДОФА в кровь больным снимает симптомы болезни: ДОФА, в отличие от дофамина, легко проникает из крови в мозг, где превращается в дофамин.~~

~~У предрасположенных лиц легко возникает болезненное влечение к различным наркотическим средствам (морфин, барбитураты, алкоголь). При применении алкалоидов опия у таких лиц наблюдается развитие физической зависимости, выражающаяся в появлении болезненных симптомов абстиненции при отсуствии препарата. При этом развивается высокая устойчивость к действию наркотика, т.е. наркоманы легко переносят дозы, смертельные для обычного человека. В ЦНС имеются специфические рецепторы морфина. По природе они предназначены для связывания нейромедиаторов или модуляторов. Так, показано, что пептиды (энкефалины) метионинэнкефалин (1) и лейцинэнкефалин (2) являются эффективными агонистами действия опия:~~

~~Tyr-Gly-Gly-Phe-Met (1); Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu (2)~~

~~Следовательно, алкалоиды опия имитируют эффект одного из нескольких природных пептидов мозга. Серьезная фармакологическая проблема заключается в том, что алкалоиды опия являются самыми мощными обезболивающими агентами, причем способность снимать~~

Отформатировано: русский

~~болевые ощущения прямо пропорциональна потенциальной способности вызывать наркоманию. Современная медицина не располагает обезболивающим средством, равным по эффективности морфину, но не вызывающим при этом привыкания.~~

~~Теория наркомании постулирует, что в результате связывания наркотика с рецептором в системе «рецептор-агонист» возникают какие-то компенсаторные изменения. Так, морфин действует на нейроны, подобно гормону с тормозящим эффектом, а именно понижает содержание цАМФ, в связи с чем развивается компенсаторная реакция нервной клетки. Она выражается в увеличении содержания или активности ацилтрансферазы, что приводит к увеличению концентрации цАМФ. В итоге возникает зависимость от морфина, поскольку в его отсутствие содержание цАМФ становится слишком высоким.~~

~~Другая важная группа средств, влияющих на функциональное состояние нервной системы — это анестетики. К ним относятся как соединения довольно большого молекулярного веса, например, барбитураты, так и очень простые соединения типа диэтилового эфира или галотана ($C_2H_5OC_2H_5$). В настоящее время галотан представляет собой наиболее широко употребляемый ингаляционный анестетик. Относительно механизма действия анестетиков существует несколько теорий. Принято считать, что эффективность препаратов этого типа зависит от их растворимости в липидах, однако чрезвычайно трудно указать место приложения их действия в нервной клетке. Согласно одной из недавно высказанных гипотез, анестетики способны расщеплять водородные связи. Основной эффект анестетиков на уровне клетки состоит в уменьшении тока ионов натрия через мембраны нервных клеток.~~

~~Список неиспользованной литературы~~

~~Основная:~~

- ~~10. Березов Т.Т. Биологическая химия, 2007, Москва, Изд-во Медицина.~~
- ~~11. Вавилова Т.П., Евстафьева О.Л. Биологическая химия в вопросах и ответах, 2005, ВЕДИ.~~
- ~~12. Зубаиров Д.М. и др. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. 2005, Гэотар Медиа.~~
- ~~13. Северин Е.С. Биохимия, 2007, Гэотар Медиа.~~
- ~~14. Зубаиров Д.М. Биохимия. Тесты, 2007. Гэотар Медиа.~~
- ~~15. Северин Е.С. Биохимия. Тесты и задачи. 2007, ВЕДИ.~~
- ~~16. Султанов Р.Г., Холмухамедова Н.М. Биохимиядан амалий манжулотлар, 1995.~~
- ~~17. Sabirova R.A., Abrogov A.A., Inoytova F.H., Arifov A.N. Biologik kimyo, 2007.~~
- ~~18. Собирова Р.А., Кульманова М.У. Задачи по биохимии. Ташкент, 2013 (нап-анг., русс., и узбекском язкках)~~

~~Дополнительная литература:~~

- ~~18. Бышевский А.Ш. и соавт. Биохимические сдвиги и их оценка в диагностике патологических состояний, 2002.~~
- ~~19. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия, 2002.~~
- ~~20. Северин Е.С., Николаев А.Я. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами, 2005.~~
- ~~21. Никулин Б.А. Пособие по клинической биохимии, 2006. Геотар Медиа.~~
- ~~22. Арипов А.И. и соавт. Руководство по клинической лабораторной диагностике, 2007.~~
- ~~23. Дадали В.А. и соавт. Учебно-методическое пособие к практическим занятиям по биологической химии. Из 4-х частей, 2004.~~
- ~~24. Ткачук В.А. Клиническая биохимия, 2006. Гэотар Медиа.~~
- ~~25. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия, 2000~~
- ~~26. www.tma.uzsi.net~~
- ~~27. Иноятова Ф.Х., Эрганов А.Т., Орипов О.А. Биохимические основы процессов биотрансформации. 2005.~~
- ~~28. Иноятова Ф.Х., Собирова Р.А., Орифов Н., Шукуров И.Б. Биохимические аспекты обмена железа в организме. 2005.~~
- ~~29. Собирова Р.А., Иноятова Ф.Х., Ибрагимходжаева М.П. Углеводларнинг алмашинуви ва функцияси, Ташкент 2006 й.~~
- ~~30. Собирова Р.А., Иноятова Ф.Х., Расулова В.Б. Жигар биохимиси. 2006.~~
- ~~31. Собирова Р.А., Кульманова М.У. Биохимия гомеостаза, 2011. (рус ва инглиз тилларда)~~
- ~~32. Markers of Oxidative damage and Antioxidant Protection. // ILSI Europe Report Series. Brussels, 2000. P.16-18.~~

Отформатировано: Шрифт: (по умолчанию) Times New Roman, русский

Отформатировано: русский

33. ~~A manual of laboratory & diagnostic test. Lippincott, Philadelphia New York, 1996. - 1104 p.~~
34. ~~www.tma.uzsi.net~~

Отформатировано: русский

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

ЧАСТЬ I

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

~~ГЛАВА 1. ОРГАНИЗАЦИЯ И РЕПЛИКАЦИЯ ДНК (Ф.Х. Иноятова)~~

~~ГЛАВА 2. СИНТЕЗ И ПРОЦЕССИНГ РНК (Ф.Х. Иноятова)~~

~~ГЛАВА 3. СИНТЕЗ БЕЛКА И БИОЛОГИЧЕСКИЙ КОД (Ф.Х. Иноятова)~~

~~ГЛАВА 4. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ (Ф.Х. Иноятова)~~

~~ГЛАВА 5. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ()~~

~~ГЛАВА 6. ТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ДНК ()~~

~~ГЛАВА 7. ОНКОГЕНЕЗ ()~~

~~**ЧАСТЬ II**~~
~~**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ**~~

~~ГЛАВА 8. БИОХИМИЯ КРОВИ (Ш.Х. Каримова)~~

~~ГЛАВА 9. ПОЧКИ И МОЧА (М.К. Нишантасов)~~

~~ГЛАВА 10. БИОХИМИЯ МОЛОКА (Ш.Ф. Каримова)~~

~~ГЛАВА 11. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ (З.Р. Хайбуллина)~~

~~ГЛАВА 12. АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА, ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ
СТРЕСС И АНТИОКСИДАНТЫ (З.Р. Хайбуллина)~~

~~ГЛАВА 13. БИОХИМИЯ МЫШЦ (М.Ш. Юсупов)~~

~~ГЛАВА 14. БИОХИМИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА (Р.А. Сабирова)~~

~~ГЛАВА 15. БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (Н.М. Юлдашев)~~