

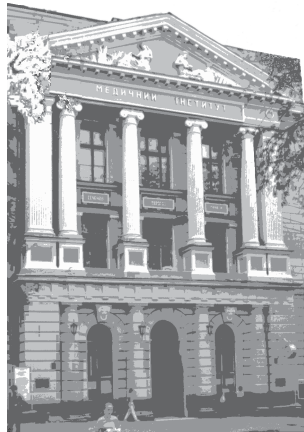


*Бібліотека
студента-медика*

БІОЛОГІЧНА ТА БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ



**ОДЕСЬКИЙ
МЕДУНІВЕРСИТЕТ**



100 років
ОДЕСЬКОМУ
МЕДУНІВЕРСИТЕТУ
1900~2000

Бібліотека студента-медика

*Започатковано 1999 р. на честь 100-річчя
Одеського державного медичного університету
(1900 — 2000 рр.)*

*Видається за загальною редакцією
лауреата Державної премії України
академіка АМН України
В. М. ЗАПОРОЖАНА*

ГОЛОВНА РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

В. М. ЗАПОРОЖАН (*головний редактор*),
Ю. І. БАЖОРА, І. С. ВІТЕНКО,
В. Й. КРЕСЮН (*заст. головного редактора*),
О. О. МАРДАШКО,
Г. І. ХАНДРІКОВА (*відповідальний секретар*),
П. М. ЧУЄВ



Одеський державний
медичний університет



Вельмишановний читачу!

Одеський державний медичний університет продовжує видання нової серії навчальної літератури — «Бібліотеки студента-медика».

Розбудовуючи незалежну Україну, дбаючи про майбутнє, слід турбуватися про збереження і примноження історичних, культурних і наукових цінностей для нащадків. Найкращим засобом для цього слугує хороша книжка. Є й інші причини, які спонукали нас до роботи.

По-перше, недостатня кількість і якість сучасних підручників, виданих державною мовою. Тому ми прагнули створити серію підручників і навчальних посібників, яка б містила як класичні відомості з різних галузей медицини, так і новітні досягнення та великий досвід наших провідних фахівців.

По-друге, останнім часом згідно з навчальними планами та типовими програмами запроваджено цілу низку нових дисциплін і курсів, з яких немає ані яких підручників.

По-третє, ми вважаємо, що саме Одеський медуніверситет, якому 2000 року виповнилося сто років, має всі підстави для створення серії оригінальних підручників і навчальних посібників. Адже він є ядром, навколо якого згуртувалося чимало медичних шкіл і напрямків, очолюваних відомими медиками, що мають неабиякий авторитет не лише в Україні, а й у багатьох країнах світу.

Сподіваємося, що ця серія стане вагомим внеском у розвиток медицини, підготовку медичних кадрів.

Валерій ЗАПОРОЖАН,
*головний редактор серії,
лауреат Державної премії України,
академік АМН України*

О. О. Мардашко
Н. Є. Ясиненко

БІОЛОГІЧНА та БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ

*Рекомендовано Центральним методичним кабінетом
з вищої медичної освіти МОЗ України
як навчальний посібник для студентів вищих
медичних навчальних закладів
IV рівня акредитації*



Одеса
Одеський медуніверситет
2008

ББК 28.902
М 42
УДК 577.1(075-8)-20

Автори: О. О. Мардашко, Н. Є. Ясиненко

Рецензенти: Зав. кафедри медичної хімії Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського,
д-р мед. наук, проф. Я. І. Гонський

Зав. кафедри загальної та біологічної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова,
д-р мед. наук, проф. О. О. Пентюк

*Рекомендовано Центральним методичним кабінетом
з вищої медичної освіти МОЗ України як навчальний посібник для студентів
вищих медичних навчальних закладів IV рівня акредитації.
Протокол № 3 від 15.06.2006 р.*

Мардашко О. О., Ясиненко Н. Є.

М 42 Біологічна та біоорганічна хімія: Навч. посібник. — Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2008. — 342 с. — (Бібліотека студента-медика).
ISBN 978-966-443-002-6

Навчальний посібник написаний згідно з програмою викладання дисципліни «Біологічна та біоорганічна хімія» у вищих медичних навчальних закладах України за кредитно-модульною системою. Кожному заліковому модулю відповідає розділ посібника, а кожному змістовому модулю — глава. Наведено питання до кожної глави, що виносяться на підсумковий модульний контроль.

Для студентів вищих медичних навчальних закладів і викладачів.
Табл. 20. Іл. 116. Бібліогр.: 21 назва.

ББК 28.902

ISBN 978-966-7733-47-6 (серія)
ISBN 978-966-443-002-6

© О. О. Мардашко, Н. Є. Ясиненко, 2008
© Одеський державний медичний університет, 2008

Біохімія — це хімія життя, наука про хімічні основи процесів життєдіяльності. Всюди, де існує життя, відбуваються різноманітні біохімічні процеси. Структурною одиницею живих систем є клітина, тому біохімія вивчає хімічні компоненти живих клітин, а також реакції і процеси, в яких вони беруть участь. Головне завдання біохімії полягає в тому, щоб дослідити на молекулярному рівні хімічні процеси, пов'язані з життєдіяльністю організму.

Біохімія вивчає хімічні реакції, що перебігають у мікроорганізмах, організмах комах, птахів, нижчих і вищих ссавців, зокрема в організмі людини. Тому біохімія тісно пов'язана з мікробіологією, ботанікою, зоологією, медициною. Біохімія нуклеїнових кислот формує підгрунтя генетики. Фізіологія як наука про функціонування організму широко використовує результати біохімічних досліджень. В імунології знаходить застосування багато біохімічних методів. Фармакологія і фармація базуються на біохімії, оскільки метаболізм більшості ліків відбувається в результаті відповідних ферментативних реакцій. Отрути впливають на біохімічні процеси, що є предметом токсикології. Завдяки біохімічним дослідженням розкрито патогенез багатьох захворювань. Це зумовлює подальше застосування біохімічних

підходів для вивчення різних видів патології (запальні процеси, ушкодження клітин, онкогенез та ін.).

Біологічна хімія виникла з органічної хімії, базується на органічній хімії, у ній діють закони органічної хімії. Враховуючи це, складена єдина Програма з біологічної та біоорганічної хімії, затверджена МОЗ України в 2005 р. Запропонований навчальний посібник повністю охоплює всі залікові модулі, передбачені Програмою МОЗ України відповідно до кредитно-модульної системи. Перший розділ посібника — «Біологічно важливі класи біоорганічних сполук. Біополімери та їх структурні компоненти». Подальші розділи посібника «Загальні закономірності метаболізму», «Метаболізм вуглеводів, ліпідів, амінокислот та його регуляція», «Молекулярна біологія. Біохімія міжклітинних комунікацій», «Біохімія тканин і фізіологічних функцій» відтворюють залікові модулі Програми з біохімії, а глави — відповідні змістові модулі. Кожний розділ супроводжується контрольними питаннями, тестовими завданнями, а також схемами і таблицями, які дозволяють студенту підготуватися до ліцензійного іспиту «Крок-1» і полегшують подальше вивчення пропедевтичних дисциплін.

Розділ I

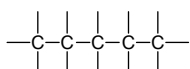
БІОЛОГІЧНО ВАЖЛИВІ КЛАСИ БІОРГАНІЧНИХ СПОЛУК. БІОПОЛІМЕРИ ТА ЇХ СТРУКТУРНІ КОМПОНЕНТИ

Глава 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ БУДОВИ І РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ БІОРГАНІЧНИХ СПОЛУК

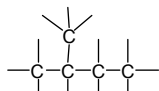
1.1. КЛАСИФІКАЦІЯ, НОМЕНКЛАТУРА ТА ІЗОМЕРІЯ БІОРГАНІЧНИХ СПОЛУК. ПРИРОДА ХІМІЧНОГО ЗВ'ЯЗКУ

Надзвичайно велику кількість органічних сполук можна вивчити тільки за наявності їхньої класифікації, тобто упорядкованого розташування за групами і класами. У класифікації беруть за основу дві найважливіші ознаки: **будову вуглецевого скелета та наявність у молекулі функціональних груп.**

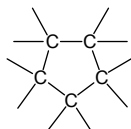
В органічних сполуках атоми Карбону (вуглецю) з'єднуються між собою, утворюючи своєрідний «каркас» молекули, який називається також вуглецевим скелетом, або ланцюгом. Ланцюги бувають відкритими і замкнутими (циклічними); відкриті ланцюги можуть бути нерозгалуженими (нормальними) і розгалуженими.



Відкритий нерозгалужений ланцюг



Відкритий розгалужений ланцюг

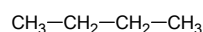


Замкнутий ланцюг

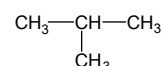
За будовою вуглецевого скелета органічні сполуки діляться на три великі групи.

1. **Ациклічні** (аліфатичні) сполуки, що мають відкритий вуглецевий ланцюг — як нерозгалу-

жений, так і розгалужений. Наприклад, незамкнутий ланцюг із чотирьох атомів Карбону може бути нерозгалуженим (бутан) і розгалуженим (ізобутан).

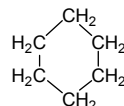


Бутан

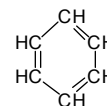


Ізобутан

2. **Карбоциклічні** сполуки, в яких вуглецевий ланцюг замкнутий у цикл (кільце). Так, замкнутий ланцюг із шести атомів Карбону лежить в основі циклогексану та бензену.

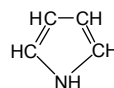


Циклогексан

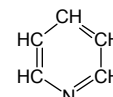


Бензен

3. **Гетероциклічні** сполуки (від грецьк. *heteros* — інший), які містять у циклі атоми не тільки Карбону, але й інших елементів, найчастіше Нітрогену, Оксигену або Сульфуру. У природних сполуках часто зустрічаються п'ятичленний (пірол) і шестичленний (піридин) цикли, що містять атом Нітрогену.








Пірол



Піридин

Родоначальними сполуками в органічній хімії визнані вуглеводні, що складаються тільки з атомів Карбону та Гідрогену. Різноманітні органічні сполуки можна розглядати як похідні

Таблиця 1.1. Функціональні групи та класи

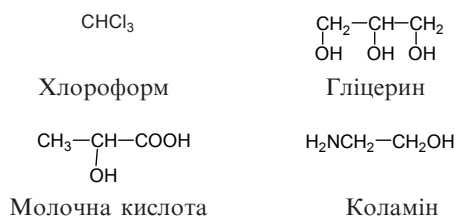
Функціональна група	Клас	Загальна формула класу
-F, -Cl, -Br, -I -(Hal) — галогени	Галогенопохідні	R-Hal
-OH — гідроксильна	Спирти, феноли	R-OH
-OR — алкоксильна		R-OR
-SH — тиольна		R-SH
-NH ₂ — аміно-	Тіюли (меркаптани)	R-SH
 — аміно-	Аміни	R-NH ₂
 — нітро-	Нітросполуки	R-NO ₂
 — карбонільна	Альдегіди, кетони	R-CH=O
 — карбоксильна	Карбонові кислоти	R-CO-R'
 — сульфо-	Сульфокислоти	R-SO ₃ H

вуглеводнів, отримані введенням у них функціональних груп.

Функціональна група — це атом або група атомів неуглецевого характеру, які визначають приналежність сполуки до певного класу (табл. 1.1).

Ознакою, за якою органічні сполуки належать до тих чи інших класів, є природа функціональної групи. Наприклад, якщо в етані CH₃-CH₃, що належить до класу вуглеводнів, замінити один з атомів Гідрогену на гідроксильну групу OH, то отримана сполука етанол CH₃-CH₂OH належатиме до класу спиртів; якщо ж в етан ввести замість атома Гідрогену атом Хлору, то отримана сполука хлоретан CH₃-CH₂Cl належатиме до класу галогенопохідних.

Сполуки можуть містити не одну, а кілька функціональних груп. Якщо ці групи однакові, то сполуки називаються **поліфункціональними** (наприклад, хлороформ, гліцерин). Сполуки, що містять різні функціональні групи, називаються **гетерофункціональними**. Їх можна одночасно віднести до кількох класів (наприклад, молочну кислоту можна розглядати як кислоту і як спирт, а коламін — як амін і як спирт).



Номенклатура, або спосіб найменування сполук, є «хімічною мовою», що служить для передачі будови сполук. Першими в органічній хімії з'явилися тривіальні (від лат. *trivialis* — звичайний) назви. Їх давали речовинам, структура

яких навіть не була відома. Тривіальні назви вказували або на джерело їхнього виділення (так, сечовина вперше була виявлена в сечі), або на деякі помітні властивості (наприклад, назви речовин гліцерин, глюкоза, гліцин пов'язані з їхнім солодким смаком (від грецьк. *glykys* — солодкий)). Тривіальні назви поширені серед природних сполук — амінокислот, вуглеводів, алкалоїдів, стероїдів. Ці назви зручні своєю лаконічністю, але вони не можуть бути об'єднані в систему.

Сучасна номенклатура має бути систематичною та міжнародною, щоб фахівці всього світу могли відобразити в назві структуру сполуки й, навпаки, за назвою однозначно уявити структуру. До того ж, сучасна номенклатура має бути придатною для комп'ютерної обробки. Сьогодні визнана систематична номенклатура ІЮПАК (IUPAC — Міжнародна спілка теоретичної та прикладної хімії). Щоправда, для складних за структурою сполук систематичні назви бувають іноді занадто громіздкими, тому для зручності в систематичній номенклатурі допускається вживання деяких найбільш усталених тривіальних назв. Номенклатурні правила ІЮПАК видані англійською мовою. При перекладі на українську мову вони адаптовані з урахуванням її особливостей та традицій української термінології.

Серед варіантів систематичних номенклатур, рекомендованих ІЮПАК, найпоширенішою є *замісна номенклатура*. Сама назва номенклатури показує, що в сполуці виділяється якась основа, у якій зроблене *заміщення* атомів Гідрогену на інші атоми або групи. У систематичній номенклатурі ІЮПАК використовують кілька найважливіших номенклатурних термінів: родоначальна структура, замісник, характеристична група.

Родоначальна структура — це структура, що лежить в основі названої сполуки. Для ациклічних сполук за родоначальну структуру приймається головний вуглецевий ланцюг, а для карбоциклічних і гетероциклічних — цикл.

Назви головних вуглецевих ланцюгів або циклів формуються на основі номенклатури вуглеводнів. Так, у молекулі спирту CH₃CH₂CH₂OH головний вуглецевий ланцюг складається з трьох атомів Карбону, і відповідно родоначальна структура називатиметься «пропан», а в молекулі кислоти CH₃COOH головний вуглецевий ланцюг складається з двох атомів Карбону, тому назва родоначальної структури — «етан». Втім, для зазначеної кислоти допустима і тривіальна назва «оцтова кислота».

Замісник — це будь-який атом або група атомів, що заміщають атом Гідрогену в родоначальній структурі.

Характеристична група — це функціональна група, пов'язана з родоначальною структурою.

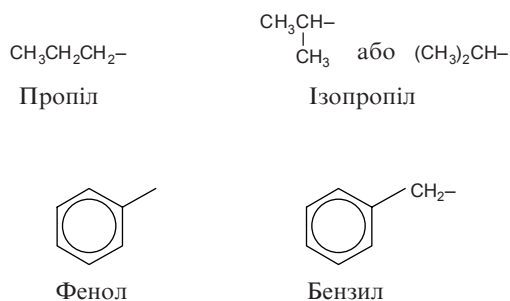
Замісниками у родоначальній структурі можуть бути як функціональні групи (див. табл. 1.1), так і вуглеводневі радикали. Вуглеводневі радикали — це залишки вуглеводнів, які містять на один атом Гідрогену менше. Назви радикалів походять від назв відповідних вуглеводнів шля-

Таблиця 1.2

**Префікси та суфікси для позначення деяких
характеристичних груп**

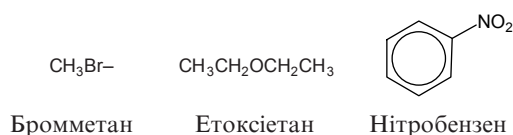
Характеристична група	Префікс	Суфікс
-(C)OОН	-	-ова кислота
-COОН	Карбокси-	-карбонова кислота
-SO ₃ H	Сульфо-	-сульфокислота
-(C)H=O	Окси-	-аль
-CH=O	Форміл-	-карбальдегід
>C=O	Оксо-	-он
-OH	Гідрокси-	-ол
-SH	Меркапто-	-тіол
-NH ₂	Аміно-	-амін
-NO ₂	Нітро-	-
-OR	Алкокси-	-
F, Cl, Br, I (Hal)	Фтор-, хлор-, бром, йод (галоген-)	-

хом заміни суфіксу -ан на -іл, наприклад, метил — CH₃-, етил — CH₃CH₂-. Однак із пропану утворюється вже два радикали: пропіл та ізопропіл. Слід звернути увагу, що радикал C₆H₅-, утворений з бензену, називається феніл, а не бензил. Бензильним називається радикал C₆H₅CH₂-, утворений з толуену (толуолу).



Як утворюється систематична назва сполуки? У замісній номенклатурі — це складне слово, яке містить назву родоначальної структури. Назви замісників позначаються префіксами (приставками) і суфіксами.

Для побудови назви, в першу чергу, визначають тип характеристичної групи (якщо вона наявна). Коли характеристичних груп у сполуці кілька, то виділяють старшу з них. Для характеристичних груп прийнято порядок по убаванню старшинства. Потім визначають родоначальну структуру, до якої обов'язково входить старша характеристична група. Деякі характеристичні групи, а саме: галогени, нітро- і алкоксигрупи, відображаються в загальній назві тільки у вигляді префіксів, наприклад, бромметан, етоксіетан, нітробензен.

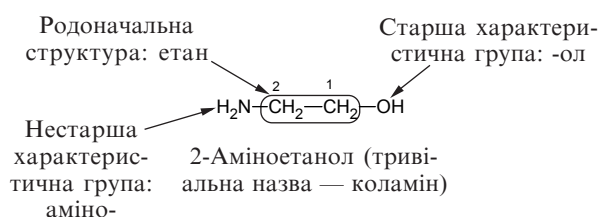


Більшість характеристичних груп може входити до загальної назви у вигляді як суфікса, так і префікса. Старша характеристична група відображається суфіксом, решта (нестарші) — префіксами. Якщо сполука монофункціональна, то характеристична група, для якої передбачений суфікс, завжди виконує роль старшої, вона відображається в назві суфіксом (наприклад, пропанол CH₃CH₂CH₂OH, етанова кислота CH₃COOH) (табл. 1.2).

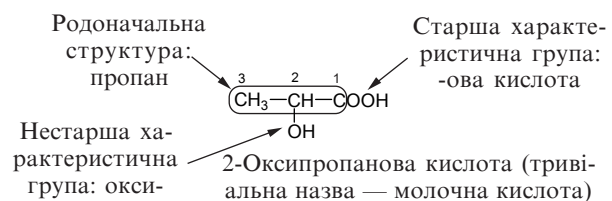
У гетерофункціональних сполуках тільки одна з характеристичних груп — старша — позначається суфіксом. Всі інші замісники позначаються префіксами та наводяться за алфавітом. При цьому потрібно вказати місце розташування замісників у вуглецевому ланцюзі. Для цього слід попередньо провести нумерацію атомів родоначальної структури. Вуглецевий ланцюг нумерується з одного з її кінців так, щоб старша характеристична група дістала найменший номер. Цифри, які вказують положення замісників, став-

лять перед префіксами та після суфікса. Цифри від букв відділяються дефісами (рисками), а цифри від цифр — комами.

Так, коламін має систематичну назву 2-аміноетанол, а не 2-гідроксіетанамін, оскільки гідроксильна група старша за аміногрупу:

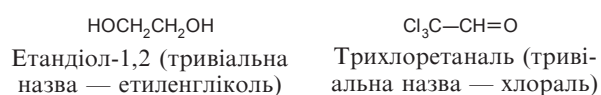


З цієї ж причини систематична назва молочної кислоти — 2-гідроксипропанова кислота. Тут карбоксильна група старша за гідроксильну:



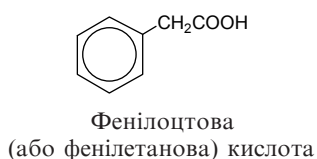
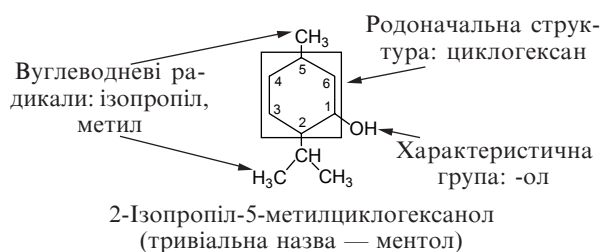
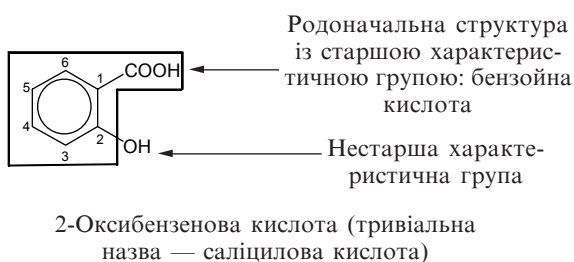
Для закінчень **-ова** кислота й **-аль** немає необхідності вказувати положення функціональної групи (в атома С-1), тому що вони завжди розміщуються на початку ланцюга. Дуже часто опускається й цифровий показник для закінчення **-ол**, якщо група OH перебуває в крайнього атома Карбону (наприклад пропанол CH₃CH₂CH₂OH), хоча коректніша назва цього спирту — пропанол-1 (щоб відрізнити його від ізомеру — пропанолу-2).

За наявності двох, трьох, чотирьох і т. д. однакових замісників або кратних зв'язків використовують помножувальні префікси ди-, три-, тетра- і т. д., наприклад етанол-1,2, трихлоретаналь.



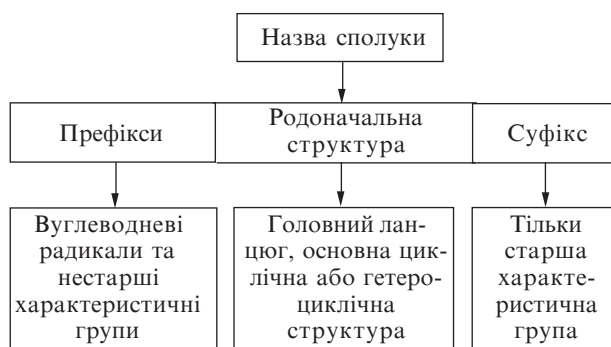
Для трихлоретанолу вказувати положення атомів Хлору не потрібно, тому що при розташуванні одного з атомів Хлору при атомі С-1 сполука вже не міститиме характеристичної групи $-CH=O$, тобто не належатиме до класу альдегідів.

У карбоциклічних сполуках нумерацію починають від того атома Карбону, при якому перебуває старша характеристична група. Якщо при цьому неможливо застосувати однозначну нумерацію, то цикл нумерують так, щоб замісники мали найменші номери. Розглянемо назви циклічних структур на прикладах ментолу та саліцилової кислоти.



У разі наявності в структурі сполуки одночасно відкритого ланцюга та циклу за родонаціальну структуру приймається та, де міститься характеристична група (або старша з них). Наприклад, у фенілоцтовій кислоті родонаначальною структурою вважається ланцюг із двох атомів Карбону, тому що в ній міститься карбоксильна група.

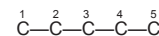
Таким чином, загальне правило складання повної назви сполуки можна представити у вигляді такої схеми:



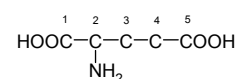
Зворотне завдання — написання структури за систематичною назвою — є зазвичай простішим. Спочатку зображують родонаціальну структуру — відкритий ланцюг або цикл, потім нумерують атоми Карбону і розставляють замісники. На закінчення дописують атоми Гідрогену таким чином, щоб кожний атом Карбону мав валентність чотири.

Розглянемо це на прикладі побудови формули 2-амінопентандіової кислоти (тривіальна назва — глутамінова кислота).

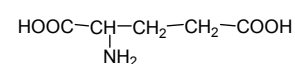
Головний вуглецевий ланцюг і нумерація



Розташування замісників (дві групи $COOH$) і група NH_2 у атома С-2



Доповнення атомами Гідрогену



Цілком очевидно, що уявити структуру тільки за тривіальною назвою — завдання дуже складне.

Крім замісної номенклатури інколи використовується *радикально-функціональна номенклатура*, що є також варіантом систематичної номенклатури ІЮПАК. Частіше вона застосовується для галогенопохідних, спиртів, амінів і простих ефірів. Для деяких класів сполук, наприклад, карбонових кислот і альдегідів, ця номенклатура незастосовна.

Назва сполуки за радикально-функціональною номенклатурою складається з двох елементів — назви вуглецевого радикала та назви характеристичної (функціональної) групи або відповідного класу сполук. Нижче наведено приклади назв за радикально-функціональною номенклатурою.

CH_3I	$CH_3CH_2CH_2OH$
Метилйодид	Пропіловий спирт
$CH_3CH_2OCH_2CH_3$	$CH_3CH_2NH_2$
Діетиловий спирт	Етиламін

Теорія будови органічних сполук

О. М. Бутлерову вдалося створити логічно завершену теорію будови органічних сполук, яка і донині є науковою основою органічної хімії. Ця теорія базується на матеріалістичному підході до реальної молекули і виходить із можливості пізнання її будови експериментальним шляхом. О. М. Бутлеров при встановленні будови речовин надавав основного значення хімічним реакціям. Теорія будови О. М. Бутлерова не тільки пояснювала вже відомі факти, її наукове значення полягало в прогнозуванні існування нових органічних сполук.

Основні положення теорії будови органічних сполук:

1) атоми в молекулах з'єднані між собою хімічними зв'язками відповідно до їх валентності;

2) атоми в молекулах органічних речовин з'єднуються між собою в певній послідовності, що визначає хімічну будову молекули;

3) властивості органічних сполук залежать не тільки від кількості та природи атомів, що входять до їх складу, але й від хімічної будови молекул;

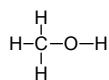
4) у молекулах існує взаємний вплив атомів — як зв'язаних, так і безпосередньо не зв'язаних між собою;

5) хімічну будову речовини можна визначити в результаті вивчення її хімічних перетворень і, навпаки, за будовою речовини можна охарактеризувати її властивості.

Важливим наслідком теорії будови був висновок, що кожна органічна сполука повинна мати одну хімічну формулу, яка відображає її будову. Для зображення будови органічних сполук використовують формули будови (структурні формули).

Структурна (графічна) формула — це зображення послідовності зв'язків атомів у молекулі.

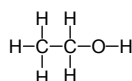
У структурних формулах органічних сполук кожний хімічний зв'язок позначається рискою між хімічними символами атомів, що зв'язуються. Наприклад, для метилового спирту (метанол) можна представити лише одну можливу послідовність зв'язків з урахуванням валентності атомів, що зв'язуються, у вигляді такої формули:



Метанол (або скорочено — CH_3OH)

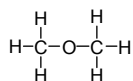
Для спрощення формул і прискорення їхнього написання зв'язки (риски) між атомами Карбону та Гідрогену звичайно опускаються і символи атомів Гідрогену пишуться разом із символами атомів Карбону, з якими вони зв'язані.

Якщо для сполуки CH_4O можливий єдиний варіант послідовності зв'язку атомів, то для сполуки $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ таких варіантів може бути два. Інакше кажучи, одному хімічному складу відповідатимуть дві різні органічні сполуки, що відрізняються будовою, тобто послідовністю зв'язку атомів. Такими сполуками будуть етиловий спирт (рідка речовина) і диметилевий ефір (газоподібна речовина), що відрізняються фізичними й хімічними властивостями.



$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

Етиловий спирт
(т. кип. — 78°C)



CH_3OCH_3

Диметилевий ефір
(т. кип. — 24°C)

На цьому прикладі можна легко переконатися в прояві дії одного з основних положень теорії будови — залежності властивостей речовин не тільки від складу сполуки, але й від будови молекул. Цей приклад ілюструє сутність властиво-

го органічним сполукам найважливішого явища — *ізомерії*, тобто можливості існування кількох речовин із різними властивостями, які мають при цьому той самий склад та однакову молекулярну масу. Явище ізомерії відоме давно (1830), але воно не могло бути пояснене на той час жодною з існуючих теорій. Тільки теорія будови О. М. Бутлерова дала явищу ізомерії просте та вичерпне пояснення. Крім того, теорія будови змогла відповісти на питання, чому в ізомерів при зміні будови відбувається зміна хімічних властивостей. Це пояснюється тим, що зміна будови, тобто послідовності зв'язування атомів, позначається переважно на зміні характеру взаємного впливу атомів у молекулі.

Вчення про взаємний вплив атомів у молекулі в подальшому було розвинене учнем О. М. Бутлерова — В. В. Марковніковим. Воно активно розвивалося, сповнювалося новим змістом, і в сучасній органічній хімії питання взаємного впливу атомів у молекулі є центральними при розв'язанні найважливіших проблем, пов'язаних з оцінкою реакційної здатності органічних сполук.

Ізомерія органічних сполук

Важливий вплив на реакційну здатність сполук чинить їх будова. Ще Берцеліус (1830) запропонував новий термін «ізомерія» для сполук, які за однакового хімічного складу й однакової молекулярної маси виявляли різні властивості. Грунтовніше розуміння структури ізомерних сполук належить О. М. Бутлерову, який сформулював основні принципи сучасної структурної теорії (1861).

Ізомери — це хімічні сполуки ідентичних молекулярних мас і однакового складу, але різної будови, що визначає їх різні фізико-хімічні властивості.

У 70-х роках XIX ст. *теорія будови* доповнилася теорією просторового розміщення атомів у молекулі — стереохімічною теорією (ВантГофф, Ле Бель).

Всі ізомери поділяються на два великі класи — *структурні* та *просторові* (рис. 1.1).

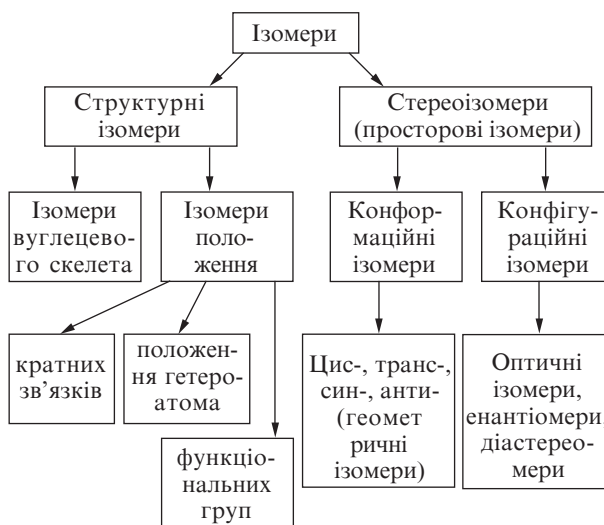


Рис. 1.1. Класифікація ізомерів

Структурними називаються ізомери з різним порядком сполучення атомів.

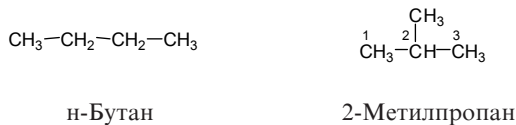
Просторові ізомери відрізняються положенням атомів у просторі при однаковому порядку їх сполучення.

I. Структурна ізомерія

Причини утворення структурних ізомерів поділяють таким чином:

1. Ізомерія ланцюга (вуглецевого скелета) полягає в тому, що речовини одного складу розрізняються порядком зв'язку атомів, які утворюють скелет молекули.

Найчастіше це спостерігається у вуглеводнів із відкритим ланцюгом, якщо $n \geq 4$:

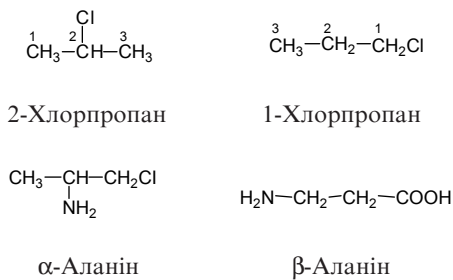


Кількість ізомерів такого типу дуже швидко збільшується зі зростанням кількості n атомів Карбону.

n	Кількість ізомерів
4	2
5	3
6	5
7	9
15	4347

2. Ізомерія положення:

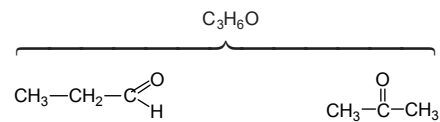
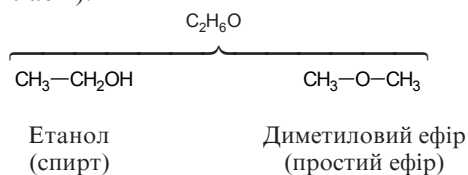
а) Ізомерія положення функціональних груп зумовлена тим, що при одному вуглецевому скелеті функціональна група зв'язана з різними вуглецевими атомами Карбону:



б) Ізомерія положення кратних зв'язків:



в) Ізомерія положення гетероатомів у ланцюзі: молекули однакового атомного складу мають різні функціональні групи (належать до різних класів):



Пропаналь (альдегід)

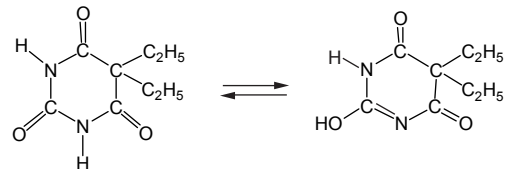
Пропанон (кетон)

Особливим випадком ізомерії між класами є таутомерія (динамічна ізомерія). Це явище полягає в тому, що два або кілька структурних ізомерів за певних умов легко взаємно переходять з переносом будь-якої рухливої групи та відповідним перерозподілом електронної щільності.

Таутомерія, пов'язана з перенесенням атома Гідрогену (або протона), є прототропною таутомерією. Вона спостерігається для сполук із відкритим ланцюгом і циклічних.

Кільцево-ланцюгова прототропна таутомерія

а) лактимлактамна:

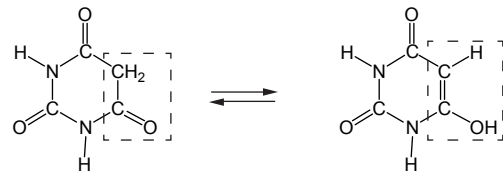


Лактамна форма

Лактимна форма

Люмінал (фенобарбітал)

б) кето-енольна:

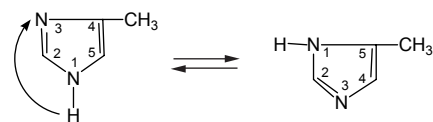


Кето-форма

Енольна форма

Барбітурова кислота

в) азольна таутомерія молекули імідазолу:



4-Метилімідазол

5-Метилімідазол

II. Стереοізомерія (просторова ізомерія) традиційно поділяється на конфігураційну та конформаційну (див. рис. 1.1).

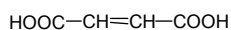
1. Конфігураційна ізомерія поділяється на геометричну (цис-, транс-) та оптичну ізомерію.

Розташування атомів відносно певних площин, які проходять через певні зв'язки, називають конфігурацією молекули.

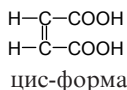
а) Цис-, транс-ізомерія алкенів зумовлена наявністю в молекулі подвійного зв'язку (π -зв'язку)

та різним положенням замісників відносно площини π -зв'язку. Більшість алкенів можуть існувати у вигляді *цис*- і *транс*-ізомерів.

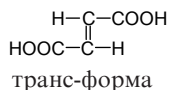
Наприклад, бутендіова кислота



відома у двох формах *цис*- і *транс*-:



цис-форма
Малеїнова кислота



транс-форма
Фумарова кислота

У *цис*-ізомері (малеїнова кислота) два об'ємних замісники — карбоксильні групи (-COOH) — розташовані по один бік площини π -зв'язку, а у *транс*-ізомері (фумарова кислота) ці замісники розташовані по різні боки площини π -зв'язку.

Фотоізомеризація *цис*-, *транс*-алкенів має важливе фізіологічне значення. Порушення світлового перетворення фумарової кислоти на малеїнову при дефіциті ферментів спричинює важко виліковне шкірне захворювання — *псоріаз*.

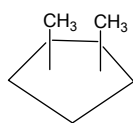
Цис-, *транс*-фотоізомерія лежить в основі фоторецепції. Одного кванту видимого світла достатньо для того, щоб молекула *транс*-ретиналю — сполуки, яка знаходиться у зоровому рецепторі, перетворилася на *цис*-ретиналь.



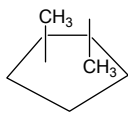
Це, в свою чергу, зумовлює каскад послідовних біохімічних перетворень, у результаті чого формується відповідний нервовий імпульс.

Для циклоалканів характерна просторова ізомерія, пов'язана з різним розташуванням замісників відносно площини циклу. При їхньому розміщенні по одну сторону площини циклу утворюється *цис*-ізомер; при розміщенні по різні сторони площини циклу — *транс*-ізомер.

Цис- і *транс*-ізомери циклоалканів — це самостійно існуючі сполуки. Вони не можуть взаємно перетворюватися, бо для такого перетворення був би необхідний розрив кільця.

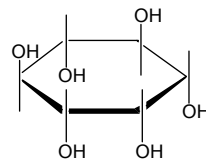


Цис-1,2-диметил-циклогексан



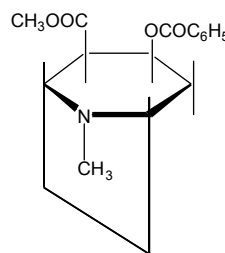
Транс-1,2-диметил-циклогексан

Прикладом біохімічно значущого явища *цис*-, *транс*-ізомерії циклоалканів є молекула інозиту, що має набір із 8 геометричних ізомерів, однак у природі найбільш розповсюджений один із них — *моноінозит*.

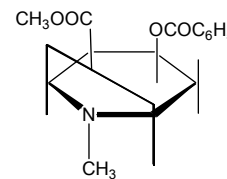


Моноінозит

Молекула *кокаїну* спричинює у 85 раз сильнішу наркотичну дію, ніж молекула його стереоізомеру — *псевдококаїну*.



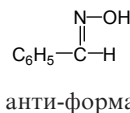
Кокаїн (транс-ізомер)



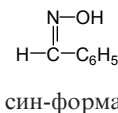
Псевдококаїн (цис-ізомер)

Особливим випадком ізомерії є *син-анти-ізомерія*, яка аналогічна *цис-транс-ізомерії*, але пов'язана з розміщенням замісників відносно C=N- або -N=N--зв'язку.

Наприклад, для оксиму бензенowego альдегіду відомі дві форми:



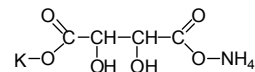
анти-форма



син-форма

б) Одним із видів просторової ізомерії є *оптична ізомерія*.

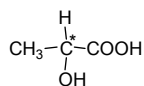
Якщо плоскополяризований промінь світла спрямувати на розчини деяких сполук або на деякі кристали, то після його виходу з розчину площина поляризації може відхилитися вправо або вліво. Сполуки, які відхиляють площину поляризації, дістали назву *оптично активних сполук*. Луї Пастер, вивчаючи під мікроскопом змішану каліямонійну сіль винно-кам'яної кислоти (1860),



виявив кристали двох типів, які відрізняються між собою тільки розміщенням площин поляризації світла, тобто вони відносяться один до одного як предмет і його відбиття в плоскому дзеркалі. Такі кристали були оптично активними, але відхиляли плоскополяризований промінь у різних напрямках.

ВантГофф і Ле Бель незалежно і майже водночас (1874) виявили, що всі оптично активні речовини відомої будови містять у своїх молекулах

хоча б один атом Карбону, зв'язаний з чотирма різними групами. Такі атоми називають *хіральними*. Оптичну активність має, наприклад, 2-гідроксипропанова (молочна) кислота.



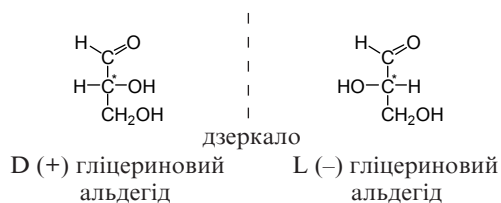
Молочна кислота

C* — хіральний атом (від грец. *χδιροζ* (*хiрос*) — рука).

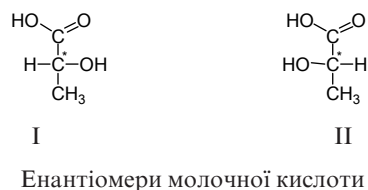
Більшість оксикислот (молочна, яблучна, вина) мають хіральний атом (Карбону), внаслідок чого для них характерна оптична ізомерія.

За наявності в молекулі хірального атома Карбону можливе існування двох оптичних ізомерів (*енантіомерів*), що належать до різних генетичних рядів (D- і L-) і співвідносяться між собою як предмет і несумісне з ним дзеркальне відображення.

Е. Фішер (1891) і Розанов (1906) запропонували користуватися як моделями порівняння D (+) і L (-) гліцериновими альдегідами (від лат. *dexter* — правий, *laevus* — лівий).



Так, D-молочна кислота конфігурації I, одержана при бродінні сахарози за присутності *Bacillus acidii laevolactici*, належить до D-ряду і є лівообертаючою, а м'ясомолочна (+) кислота конфігурації II, виділена з м'язів, належить до L-ряду і є правообертаючою. Знак обертання не має прямого зв'язку з конфігурацією.



У 1951 р. рентгеноструктурно було доведено, що вибір моделі гліцеринового альдегіду був вірним.

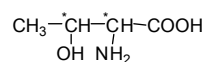
Суміш певної кількості ліво- і правообертаючих ізомерів не має оптичної активності і називається *рацематом*. Кількість оптичних ізомерів для даної сполуки залежить від кількості хіральних атомів Карбону і визначається формулою:

$$X = 2^n,$$

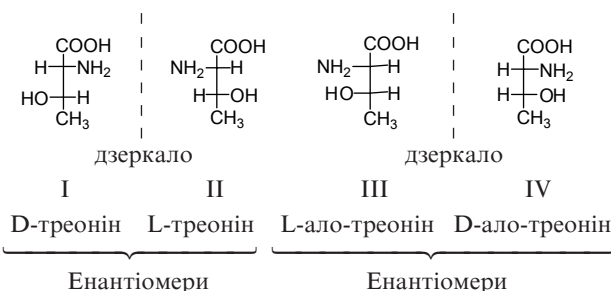
де n — кількість хіральних атомів Карбону.

Якщо n > 1, то підвищується і кількість можливих стереоізомерів. Такі ізомери відрізняються конфігурацією у деяких (але не у всіх) центрів і називаються *діастереоізомерами*.

Амінокислота *треонін* має два центри хіральності, отже, повинна мати 4 ізомери (2²).



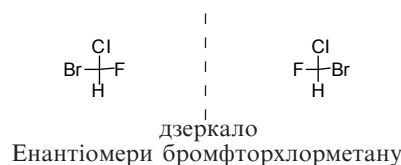
Треонін



Енантіомери I і II мають однакові фізичні та хімічні властивості, але протилежні знаки обертання площини поляризації світла. Аналогічно енантіомери III та IV (від грецьк. *allos* — інший) відрізняються тільки знаком кута обертання. D-треонін (I) та L-ало-треонін (III) є парою *діастереомерів*.

Номенклатура оптичних ізомерів

D-, L-система позначення конфігурації має обмежене застосування, використовується переважно в хімії вуглеводів і амінокислот. Щодо інших класів сполук D-, L-система часто не дає однозначних результатів. Іноді буває неможливо співвіднести конфігурацію сполук із D- або L-гліцериновим альдегідом. Наприклад, неясно, як зіставити кисневмісні замісники в гліцериновому альдегіді з атомами галогенів у молекулі бромфторхлорметану.



Тому була запропонована більш універсальна номенклатурна система позначення конфігурації центрів хіральності — R-, S-система (від лат. *rectus* — правий, *sinister* — лівий). В основі її лежить принцип *старшинства* замісників, пов'язаних із центром хіральності. Старшинство замісників визначається атомним номером елемента, безпосередньо пов'язаного з центром хіральності, — чим він більше, тим старше замісник. Так, у молекулі бромфторхлорметану замісники розташовуються за убубанням у такому порядку: ³⁵Br > ¹⁷Cl > ⁹F > ¹H.

У складніших випадках старшинство груп, які оточують центр хіральності, визначають за другим, третім і більш далекими шарами атомів. Звичайно таке потрібно в ситуаціях, коли з центром хіральності зв'язані замісники, які мають у першому шарі атоми Карбону. Наприклад, група -CH₂OH старша за групу -CH₂CH₃.

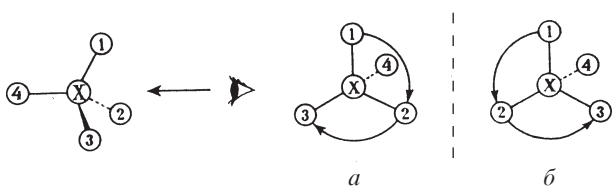


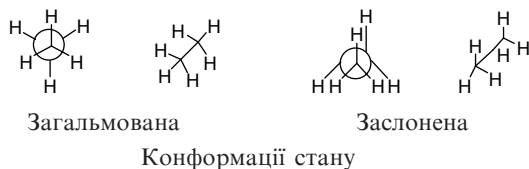
Рис. 1.2. R-, S-система:
а — R-конфігурація; б — S-конфігурація

Після встановлення старшинства замісників молекулярну модель сполуки розташовують у просторі так, щоб наймолодший замісник (у нашому і в багатьох інших випадках — це атом Гідрогену) не потрапляв у поле зору спостерігача. Якщо старшинство трьох інших замісників убуває за годинниковою стрілкою, то центру хіральності приписують R-конфігурацію (рис. 1.2, а), якщо проти годинникової стрілки — S-конфігурацію (рис. 1.2, б).

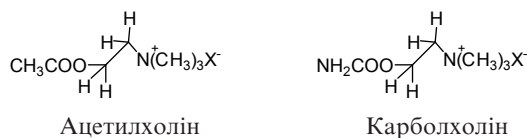
2. Конформаційна ізомерія

Ізомери, які взаємоперетворюються при обертанні навколо простого зв'язку, називаються *ротомерами*, *конформерами* або *конформаційними ізомерами* (ізомери, що утворюються внаслідок вільного повороту навколо σ -зв'язків). Оскільки енергетичні бар'єри між такими ізомерами незначні, розділити їх практично неможливо, але виявити в суміші фізико-хімічними методами дослідження можна.

а) σ -зв'язок допускає вільне обертання атомів навколо зв'язку, яке однак може гальмуватися об'ємними замісниками. Кожний із можливих варіантів називається *конформацією*. Вільне обертання ілюструють проєкційні формули Ньюмена:

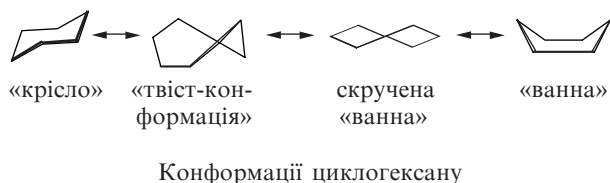


Переважне перебування молекул природних і фізіологічно активних сполук у певній конформації означає набування або втрату цими сполуками відповідних властивостей. Наприклад, *ацетилхолін* є передавачем нервових імпульсів.



Ця функція здійснюється в тій конформації, в якій два об'ємних замісники — CH_3COO^- та $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ — максимально віддалені один від одного. Дефіцит ацетилхоліну спричинює параліч. Синтетичний аналог ацетилхоліну *карбохолін* має таку ж просторову будову та властивості, а тому може тимчасово виконувати функцію ацетилхоліну в тих чи інших клітинах.

б) Найвідомішими конформерами є конформаційні ізомери циклогексану. На одномірній потенціальній кривій подане співвідношення між окремими формами:



Найстабільнішою є форма «крісла», другому мінімуму відповідає форма скрученої ванни («твіст-форма») (рис. 1.3).

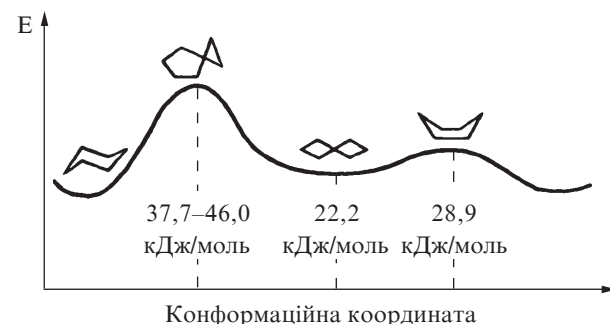
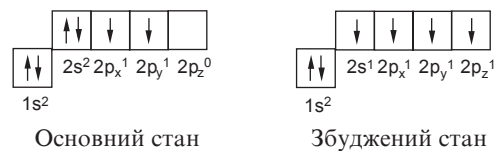


Рис. 1.3. Енергетика конформаційних перетворень циклогексану

Електронна структура атома Карбону в органічних сполуках

У періодичній системі елементів Д. І. Менделєєва Карбон розташований у головній підгрупі IV групи, його порядковий номер 6 (${}_6\text{C}$). Звичайно в органічних сполуках атом Карбону має валентність чотири. Виходячи з електронної структури атома Карбону в основному стані, можна дійти висновку про його двохвалентність, тому що на зовнішньому електронному шарі перебувають два неспарених електрони. Тому для опису чотирьохвалентного стану вдаються до уявлення про збудження атома Карбону та гібридизацію його атомних орбіталей.

Електронна структура атома Карбону



Атомна орбіталь — це частина простору, в якій імовірність знаходження електрона максимальна.

s-орбіталь має сферичну форму, а *p*-орбіталь — форму об'ємної вісімки, певним чином орієнтованої в просторі (рис. 1.4).

При збудженні атома Карбону один із двох електронів 2s-підрівня переходить на вільну орбіталь 2p-підрівня. Це можливо й у зв'язку з не-

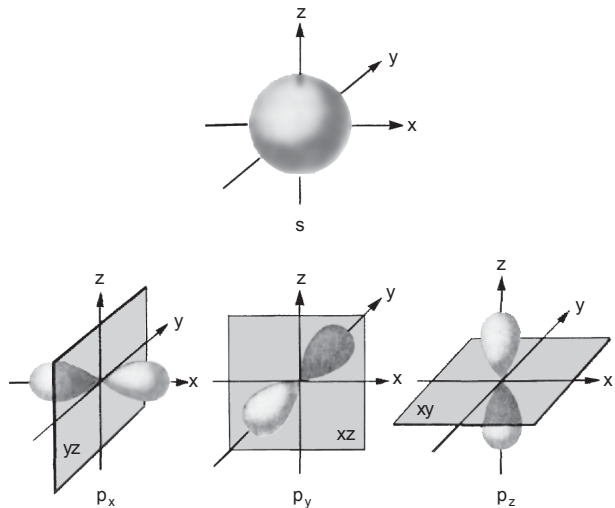


Рис. 1.4. Атомні s - і p -орбіталі

ликою різницею в енергії $2s$ - і $2p$ -підрівнів. Такий атом Карбону в збудженому стані має вже чотири неспарених електрони: один на $2s$ - і три — на $2p$ -орбіталах.

Для обґрунтування рівноцінності чотирьох валентностей атома Карбону використовують опис його електронної структури із залученням поняття гібридизації. Такий опис базується на уявленні про те, що після змішання орбіталей відбувається утворення нових, гібридних орбіталей, рівноцінних за енергією (рис. 1.5).

При цьому гібридизацію слід розуміти як математичну, квантово-механічну модель, а не як якийсь фізичний процес. Залежно від кількості орбіталей збудженого атома Карбону, що беруть участь у гібридизації, можливі три її види.

В sp^3 -гібридизації беруть участь чотири орбіталі — одна s - і три p -орбіталі — з утворенням чотирьох рівноцінних гібридних орбіталей. Sp^3 -гібридні орбіталі мають форму об'ємної вісімки, у якій одна з лопатей значно більша за інші.

Ці орбіталі розташовуються в просторі одна відносно одної під кутом $109,5^\circ$. Якщо з'єднати вершини цих орбіталей, то утвориться об'ємна фігура — тетраедр. Атом Карбону в sp^3 -гібридному стані прийнято називати тетраедричним.

В sp^2 -гібридизації беруть участь одна s - і дві p -орбіталі з утворенням трьох гібридних рівноці-

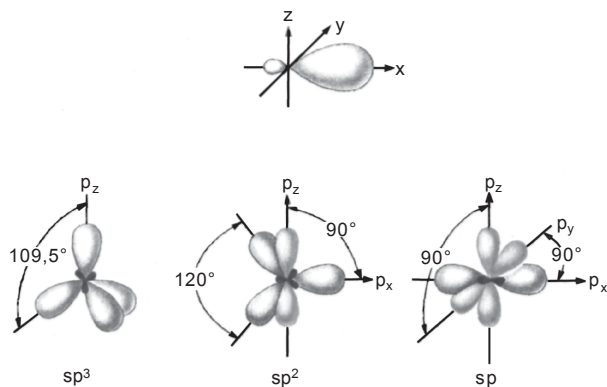


Рис. 1.5. Види гібридизації атома Карбону

інних орбіталей. За формою вони також являють собою об'ємні вісімки. Відмінність їх від sp^3 -гібридних орбіталей в тому, що більша лопать об'ємної вісімки в них трохи коротша. Sp^2 -гібридні орбіталі лежать в одній площині й спрямовані під кутом 120° одна до одної, тобто їхні вершини утворюють рівнобічний трикутник.

Одна p -орбіталь залишається вільною, негібридизованою. Вона зберігає форму правильної об'ємної вісімки й розташовується перпендикулярно площині, в якій лежать три sp^2 -гібридні орбіталі.

В sp -гібридизації беруть участь одна s - і одна p -орбіталь. У результаті утворюються дві рівноцінні гібридні орбіталі, що мають форму об'ємних вісімок із ще коротшою великою лопаттю. Вони розташовуються під кутом 180° одна до одної, тобто на одній прямій, і спрямовані в протилежні сторони від ядра атома.

Дві p -орбіталі, які не беруть участь у гібридизації, зберігають форму правильних об'ємних вісімок і розташовуються взаємно перпендикулярно.

1.2. КЛАСИФІКАЦІЯ ХІМІЧНИХ РЕАКЦІЙ. РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ АЛКАНІВ, АЛКЕНІВ, АРЕНІВ, СПИРТІВ, ФЕНОЛІВ, АМІНІВ

Вивчення взаємозв'язку між будовою і властивостями різних природних і лікарських сполук довело, що їхня біологічна активність значною мірою визначається просторовим розміщенням атомів і молекул, які входять до складу цих сполук. Комплементарність лежить в основі процесу гідролізу харчових продуктів під впливом ферментів (структурна відповідність конфігурації ферменту і субстрату), процесу синтезу нових специфічних для даного організму біополімерів (матричні синтези білків і нуклеїнових кислот), захисних (імунних) реакцій організму та ін.

Механізми дії лікарських засобів на організм людини (на відповідні рецептори клітинних мембран) також зумовлені просторовою будовою цих сполук і відповідних їм рецепторів. Визначення просторового розміщення атомів у молекулах органічних сполук, що мають біологічну активність, полягає в послідовності виявлення їх будови, конфігурації та конформації.

Будову біологічно активних сполук знаходять на основі елементного аналізу (вміст С, Н, N, O, S, P тощо). Просторова конфігурація молекул біологічно активних речовин визначається гібридизацією електронних орбіталей атомів, які беруть участь в утворенні хімічних зв'язків.

В органічних сполуках атом Карбону може перебувати у трьох валентних станах — їм відповідають sp^3 -, sp^2 -, sp -гібридизація. В усіх випадках тип зв'язку однаковий — ковалентний неполярний або малополярний. Перебіг будь-якої хімічної реакції супроводжується розривом старих і встановленням нових зв'язків. Напрямок реакції визначається величиною зміни вільної

енергії Гіббса (ΔG), швидкість процесу — швидкістю найповільнішої лімітуючої стадії. Оскільки розрив ковалентного зв'язку потребує значної витрати енергії, то часто перша стадія є найповільнішою, через що швидкість органічних реакцій набагато менша, ніж швидкість іонних реакцій.

Природа хімічного зв'язку передбачає і механізм взаємного впливу атомів, безпосередньо не зв'язаних між собою. Електронні орбіталі можуть зміщуватись у молекулі так, щоб електрони «обслуговували» не тільки пару атомів, які утворюють зв'язок, а також інші атоми. Потрібно враховувати, що електронні орбіталі не мають меж і, відповідно, можуть перекриватись і впливати одна на одну через простір (ефект поля). Значною мірою взаємодія через простір відбувається в тому випадку, якщо атоми достатньо зближені, оскільки взаємодія ослаблюється пропорційно квадрату відстані.

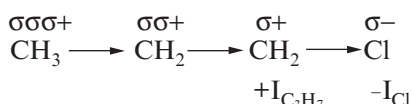
Здатність молекули до тих чи інших типів перетворень визначається насамперед розподілом і рухливістю електронів, що залежить від таких факторів:

1. Статична поляризація зв'язків.
2. Динамічна поляризація зв'язків.

Ідеальний ковалентний зв'язок може існувати тільки між однорідними атомами або групами атомів. Якщо атоми характеризуються різною електронегативністю, то зв'язок між ними завжди буде полярним.

Зміщення електронної щільності по ланцюгу σ -зв'язку називається *індуктивним ефектом* і позначається літерою I.

Індукційний ефект передається по ланцюгу зі згасанням. Напрямок зміщення електронної густини всіх σ -зв'язків позначається прямими стрілками.



$\sigma\sigma$, $\sigma\sigma\sigma$ — поступове зменшення частки початкового заряду.

Індукційний ефект позначається стрілкою за σ -зв'язком, який сполучає атоми, у бік атома з більшою електронегативністю.

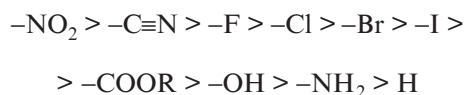
Індукційний ефект насиченого C–H-зв'язку умовно дорівнює нулю: I = 0.

Електроноакцепторні замісники, тобто атом або група атомів, які зміщують електронну густину σ -зв'язку від атома Карбону, виявляють *негативний індуктивний ефект* (*-I-ефект*).

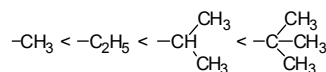
Електронодонорні замісники, тобто атом або група атомів, які зміщують електронну густину до атома Карбону, виявляють *позитивний індуктивний ефект* (*+I-ефект*).

Негативний індукційний ефект мають усі без винятку ненасичені групи; зі збільшенням кількості кратних зв'язків величина *-I-ефекту* зростає.

Нижче подані замісники, розміщені за зменшенням *-I-ефекту*:

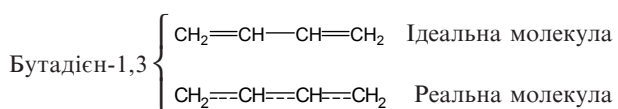


Позитивний ефект мають усі алкільні замісники, величина *+I-ефекту* зростає зі збільшенням ступеня розгалуження ланцюга:



Електронне зміщення у спряжених системах за участю електронів кратних зв'язків чи неподілених електронних пар називають *ефектом спряження*, або *мезомерним ефектом* ($\pm M$) за рахунок делокалізації *p*-орбіталей, які належать двом чи більше π -зв'язкам або π -зв'язкам і *p*-орбіталям неподілених пар електронів, які розділені одним простим зв'язком.

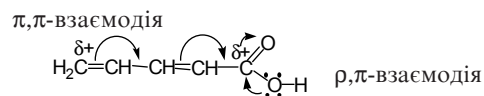
Спряження, або *мезомерія* (від грецьк. *mesos* — середній) — вирівнювання зв'язків і зарядів у реальній молекулі порівняно з ідеальною.



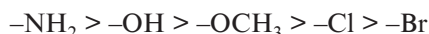
Мезомерний ефект у бутадієні-1,3 здійснюється за рахунок *$\pi\pi$ -взаємодії*.

Графічно мезомерний ефект зображується у вигляді зігнутої стрілки від подвійного зв'язку до одинарного і передається всій системі спряжених зв'язків.

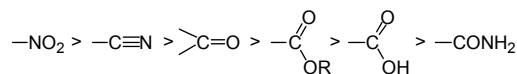
Наприклад,



Позитивний мезомерний ефект мають усі електронодонорні замісники, які здатні відштовхувати електронну густину у напрямку сусіднього подвійного зв'язку:



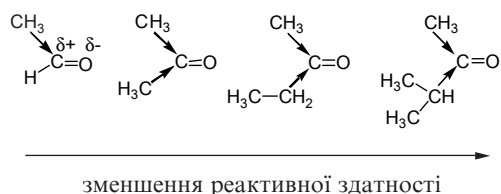
Негативний мезомерний ефект мають усі електроноакцепторні замісники, які притягують до себе π -електрони сусіднього подвійного зв'язку.



Таким чином, у молекулі під впливом індукційного поля і мезомерних ефектів замісників відбувається формування реакційних центрів із надлишком або нестачею електронної густини. Молекула стає підготовленою для перебігу хімічної реакції за тим чи іншим механізмом.

Іноколи основний вплив на реакційну здатність молекули створюють просторові ефекти, коли підхід атакуючої частинки до реакційного центру утруднений через великі за об'ємом замісники, що оточують реакційний центр.

При цьому швидкість реакції різко знижується або реакція взагалі не відбувається. Наприклад, зміна швидкості реакції приєднання за карбонільною групою нуклеофільних реагентів залежно від зв'язаних із нею замісників.

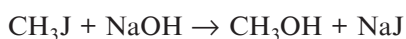


Класифікація реакцій за спрямованістю та результатом. Класифікація реакцій за механізмом

Реакцію можна класифікувати залежно від того, у кількох молекулах змінюється стан ковалентних зв'язків під час визначальної кінетики, тобто *найповільнішої стадії реакції*. При такому підході розрізняють реакції *мономолекулярні, бімолекулярні, тримолекулярні, полімолекулярні*.

До *мономолекулярних реакцій* належать реакції дециклізації, дисоціації, внутрішньомолекулярні перегрупування.

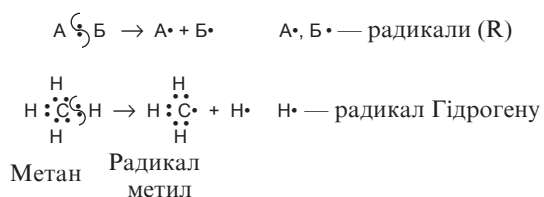
Бімолекулярні реакції є найхарактернішими для органічних сполук, перебігають у розчинах, допускають наявність двох компонентів у органічній суміші:



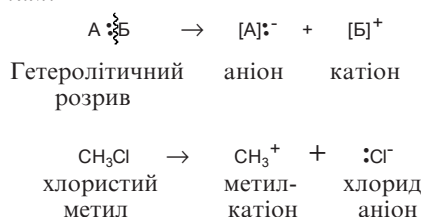
Речовину, що зазнала перетворення під час перебігу хімічної реакції, називають *субстратом*. Речовину, під дією якої відбувалася зміна в субстраті, називають *реагентом*. Перебіг реакції залежить від природи субстрату і від природи реагенту.

Органічні реакції можна класифікувати і за *механізмом розриву* ковалентних зв'язків у реагуючих молекулах. Залежно від способів його розриву і будується ця класифікація.

1. Якщо спільна електронна пара ділиться між атомами, то утворюються *радикали* — частинки, що мають непарні електрони. Такий розрив зв'язку називається *радикальним*, або *гомолітичним*:



2. Якщо при розриві зв'язку спільна електронна пара залишається біля одного атома, то утворюються *іони* — катіон та аніон. Такий механізм розриву називається *іонним*, або *гетеролітичним*.



Іонний механізм спостерігається, як правило, при розриві полярного ковалентного зв'язку (Карбон-Хлор, Карбон-Оксиген).

Характеристика нуклеofilів і електроfilів

Органічні іони вступають у подальші перетворення. При цьому катіони взаємодіють із *нуклеофільними* («що люблять ядра») частинками (H_2O , NH_3 , Cl^- , Br^- , I^- , інші аніони кислот тощо), а органічні аніони — з *електрофільними* («що люблять електрони») частинками (H^+ , катіони металів, галогени та ін.).

Нуклеофільна частинка (нуклеофіл, N) — це частинка, яка має пару електронів на зовнішньому електронному рівні. За рахунок цієї пари електронів нуклеофіл здатний утворювати новий ковалентний зв'язок.

Електрофільна частинка (електрофіл, E) — це частинка, яка має незаповнений валентний електронний рівень. Електрофіл надає заповнені вакантні орбіталі для утворення ковалентного зв'язку за рахунок електронів тієї частинки, з якою він взаємодіє.

За кінцевим результатом органічні реакції поділяються таким чином:

1. Реакції заміщення, S (від англ. *substitution*).
2. Реакції приєднання, A (від англ. *addition*).
3. Реакції елімінування, E (від англ. *elimination* — відщеплення).
4. Реакції перегрупування.
5. Окисно-відновні реакції.

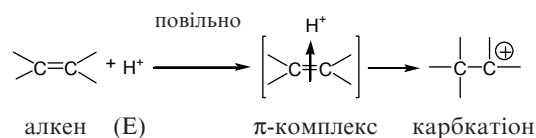
Враховуючи природу атакуючого реагенту, механізми реакції можуть бути такими: S_R , S_E , S_N , A_E , A_N .

Перебіг реакції залежить від типу ковалентних зв'язків, електронних ефектів у субстраті, природи атакуючої частинки, зовнішніх факторів ($h\nu$, P, T).

У живих клітинах перебігає безліч ферментативних реакцій, об'єднаних загальним поняттям метаболізм. В основі метаболічних шляхів лежить досить невелике коло хімічних реакцій, знання суті яких створює основу для раціонального призначення лікарських препаратів. Винятково важливим є з'ясування молекулярних механізмів деяких захворювань і значної кількості вроджених порушень метаболізму.

Електрофільне приєднання до ненасичених сполук (A_E)

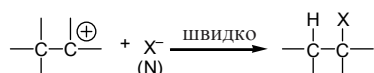
Електронна хмара π -зв'язку алкену піддається атаці електрофільними реагентами. Тому велика кількість реакцій алкенів відбувається за *механізмом електрофільного приєднання*, який позначається символом A_E (від англ. *addition electrophilic*). Реакції електрофільного приєднання — це іонні процеси, які перебігають у кілька стадій:



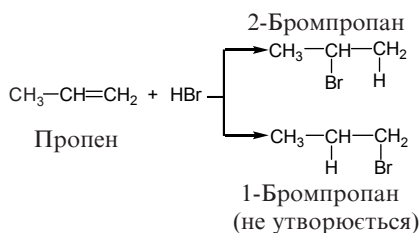
На першій стадії відбувається взаємодія електрофільної частинки з електронною хмарою π -зв'язку. Позитивно заряджена електрофільна частинка за рахунок електростатичного притягнення утворює з молекулою алкену π -комплекс. В якості електрофіла найчастіше виступає протон (H^+), джерелом якого є протонвмісні кислоти HCl , HBr , H_2SO_4 . Потім утворюється ковалентний зв'язок між протоном та одним із атомів Карбону подвійного зв'язку, який отримує позитивний заряд, і вся частинка стає карбкатионом.

Карбкатион — це частинка з позитивним зарядом на атомі Карбону.

На другій стадії процесу карбкатион взаємодіє з аніоном X^- і утворює з ним σ -зв'язок за рахунок пари електронів аніона.



Якщо початковий алкен несиметричний, тобто атоми Карбону при подвійному зв'язку відрізняються ступенем заміщення (наприклад, пропен $CH_3-CH=CH_2$), то із двох можливих продуктів реакції переважно утворюється тільки один:

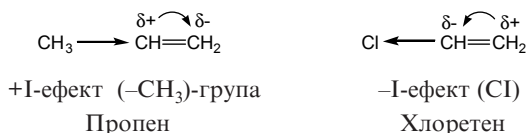


У цьому випадку напрямок реакції визначається закономірністю, встановленою російським хіміком В. В. Марковніковим (1869).

Правило Марковнікова: при приєднанні молекул типу HX (HCl , HBr , HOH) до несиметричних алкенів атом Гідрогену приєднується до більш гідрогенізованого атома Карбону подвійного зв'язку.

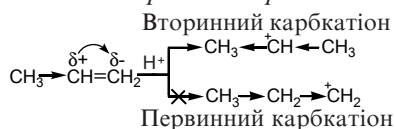
Такий напрямок реакції пояснюється двома факторами.

У *статичному*, тобто нереагуючому, стані в несиметричному алкені під впливом замісника електронна щільність зміщується до одного з атомів Карбону:



У пропені місцем атаки буде атом С-1 із частково негативним зарядом, який виникає під дією +I-ефекту метильної групи.

У *динамічному* стані, тобто у процесі реакції, із двох можливих карбкатионів буде утворюватися більш стійкий *вторинний карбкатион*.

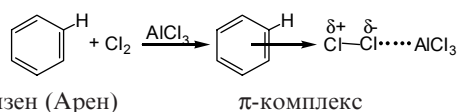


У вторинному карбкатионі відбувається більш ефективно зниження позитивного заряду за рахунок +I-ефекту двох алкільних груп.

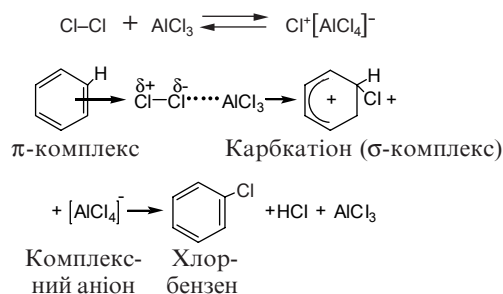
Електрофільне заміщення в ароматичних сполуках (S_E)

Арени вступають в іонні реакції, які перебігають за *механізмом електрофільного заміщення*, яке позначається символом S_E (від англ. *substitution electrophilic*). Реакція починається з виникнення π -комплексу, з якого потім утворюється σ -комплекс, та завершується стабілізацією σ -комплексу за рахунок відщеплення протона.

Утворення π -комплексу. На першій стадії електрофільна частинка притягується до π -електронної хмари арену й утворює з ним комплекс. Ароматична система при цьому не порушується. Ця стадія перебігає швидко.



Роль каталізатора ($AlCl_3$, $FeCl_3$) полягає в поляризації нейтральної молекули галогену з утворенням із неї електрофільної частинки:



Утворення σ -комплексу. На цій повільній стадії відбувається утворення ковалентного зв'язку між електрофільною частинкою (Cl) та одним з атомів Карбону бензенового кільця. Зв'язок утворюється за рахунок двох електронів кільця, при цьому атом Карбону з sp^2 -гібридизованого стану переходить в sp^3 . Ароматична система при цьому порушується, молекула бензену перетворюється на карбкатион.

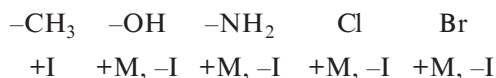
Відщеплення протона. Порушення ароматичності енергетично не вигідне, тому структура σ -комплексу менш стійка, ніж ароматична. Для відновлення ароматичності відбувається відщеплення протона від атома Карбону, зв'язаного з електрофілом. При цьому два електрони повертаються в π -систему, тим самим відновлюється ароматичність.

Вплив замісників на реакційну здатність аренів (S_E)

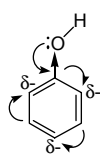
Якщо в бензеновому кільці є замісник, то він порушує рівномірний розподіл електронної щільності в кільці, і виникає положення з підвищеною та зниженою електронною щільністю. Наступні замісники прагнуть вступити в положення з підвищеною щільністю. Таким чином, замісники в бензеновому кільці визначають напрямок реакції заміщення.

Усі замісники поділяються на два типи.

Замісники I роду (електронодонорні) збільшують електронну щільність і спрямовують реакції заміщення переважно в *орто*- та *пара*-положення. До них належать такі групи (знизу вказані електронні ефекти, які спостерігаються під впливом цієї групи):



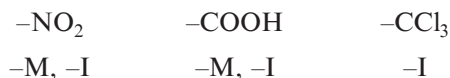
Неподілена пара гетероатомів (O, N, S) цих груп вступає в спряження із π -електронною системою бензенового кільця. Такий тип спряження називається ρ, π -спряженням (мезомерний ефект). Під впливом електронодонорних замісників (+Мефект) відбувається перерозподіл електронної щільності в бензеновому кільці з деяким її зосередженням в орто- і пара-положеннях.



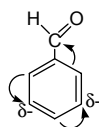
Фенол

-OH-група справляє +Мефект та -I-ефект, але +Мефект превалює

Замісники II роду (електроноакцепторні) спрямовують наступне заміщення переважно в *мета*-положення. До них належать такі групи:



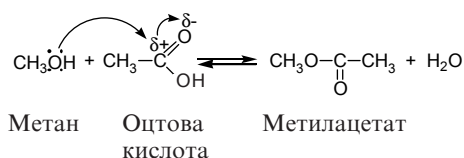
Електроноакцепторні замісники справляють Мефект і знижують електронну щільність у спряженій системі. Електронна щільність бензенового кільця в цілому знижується, однак у мета-положенні — в меншому ступені, тому наступне заміщення спрямовується в це положення.



Бензальдегід

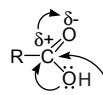
Нуклеофільне заміщення насиченого атома Карбону (S_N)

Взаємодія спиртів із карбоновими кислотами відбувається за механізмом *нуклеофільного заміщення* (S_N). В якості нуклеофіла виступає молекула спирту, котра атакує атом Карбону карбоксильної групи кислоти, яка, у свою чергу, несе частковий позитивний заряд.



Гідроксигрупа має:

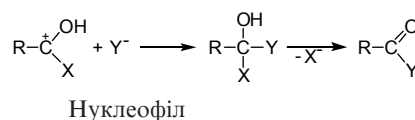
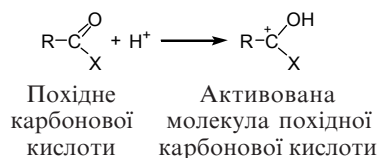
+M(OH) — позитивний мезомерний ефект
-I(OH) — негативний індуктивний ефект



Електрофільний центр

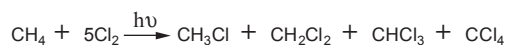
Карбонова кислота

У нуклеофільних реакціях похідних карбонових кислот необхідний кислотний аналіз, що веде до появи більш повного позитивного заряду на атомі Карбону, що полегшує атаку нуклеофілам.

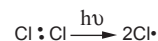


Радикальне заміщення насиченого атома Карбону (S_R)

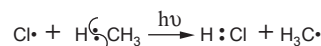
При взаємодії алканів із галогенами (хлором, бромом) під впливом УФ-випромінювання або високої температури утворюється суміш продуктів від моно- до полігалогензамісних алканів.



Ініціювання. На цій стадії відбувається розпад молекули хлору на два вільних радикали:



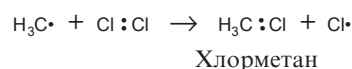
Ріст ланцюга. Радикал хлору атакує зв'язок C-H у молекулі метану, зв'язок при цьому розривається гомолітично, утворюються радикал Гідрогену та нейтральна молекула HCl:



Радикал хлору Метан

Метил-радикал

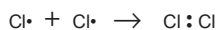
У метильному радикалі атом Карбону знаходиться в стані sp^2 -гібридизації, тобто має плоску будову. На вільній p -орбіталі знаходиться один електрон. Висока реакційна здатність метильного радикалу пояснюється прагненням до утворення ковалентного зв'язку за участю цього електрона й доступністю для взаємодії p -орбіталі.



Радикал хлору знову атакує молекулу метану, далі повторюються описані вище реакції. У результаті одержують суміш продуктів різного ступеня хлорування — хлорметан CH_3Cl , ди-

хлорметан CH_2Cl_2 , трихлорметан CHCl_3 та тетрахлорметан. Процеси такого типу називаються *ланцюговими*, оскільки один вільний радикал хлору міг би ініціювати хлорування всіх молекул метану, які знаходяться у реакційному середовищі.

Обрив ланцюга. Послідовні реакції росту ланцюга можуть перерватися, якщо відбудеться зникнення вільного радикала.



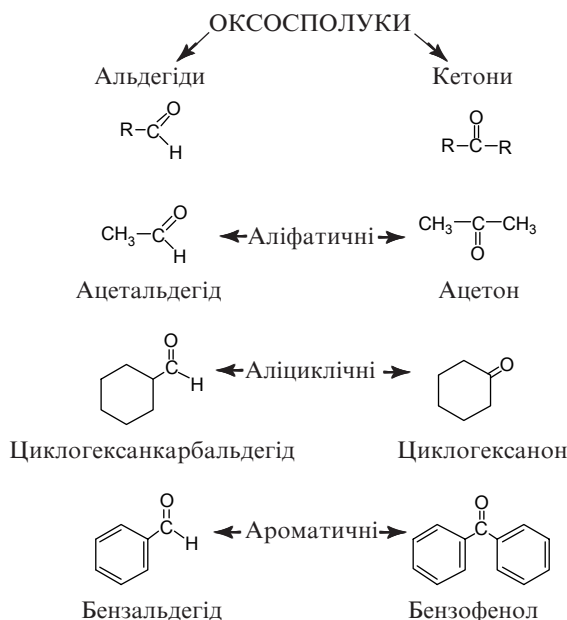
1.3. БУДОВА ТА ВЛАСТИВОСТІ АЛЬДЕГІДІВ І КЕТОНІВ

Органічні сполуки, у молекулі яких є карбонільна група >C=O , називають *карбонільними сполуками*, або *оксосполуками*. Карбонільні сполуки діляться на дві великі групи — *альдегіди* і *кетони*.

Альдегіди містять у молекулі карбонільну групу, обов'язково зв'язану з атомом Гідрогену, тобто альдегідну групу $-\text{CH=O}$.

Кетони містять карбонільну групу, зв'язану з двома вуглеводневими радикалами, тобто кетонну групу.

Залежно від будови вуглеводневих радикалів альдегіди і кетони бувають аліфатичними, аліциклічними й ароматичними. У молекулі кетону радикали можуть бути однаковими або різними. Тому кетони, як і прості ефіри, діляться на симетричні й несиметричні. Приклад змішаного кетону — метилфенілкетон (оцетфенон) $\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_3$.

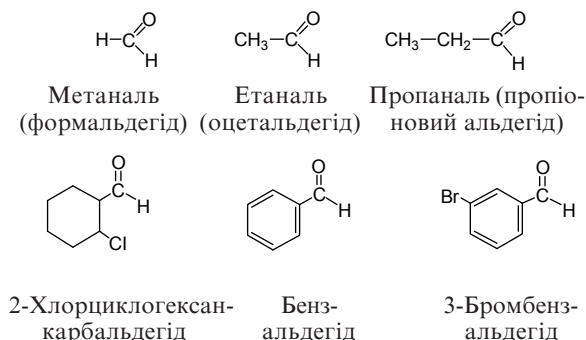


Номенклатура та ізомерія

У назвах аліфатичних альдегідів за замісною номенклатурою наявність альдегідної групи (за умови, що вона є старшою) відображається суфіксом -аль. Основою служить назва родона-

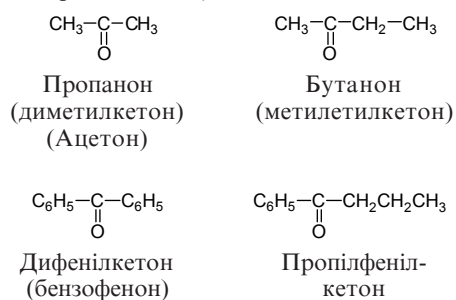
чального вуглеводню (головного вуглецевого ланцюга). Нумерація головного ланцюга починається з атома Карбону альдегідної групи. У деяких альдегідів зберігаються й тривіальні назви, утворені від назв кислот, на які альдегіди перетворюються при окисненні, з додаванням слова «альдегід».

Назви аліциклічних альдегідів походять від назви відповідного карбоциклу (при цьому атом Карбону альдегідної групи не нумерується) з додаванням закінчення -карбальдегід, а ароматичних альдегідів — від родоначальної структури ряду — бензальдегіду.



Назви аліфатичних кетонів дають, взявши за основу головний вуглецевий ланцюг, до складу якого входить атом Карбону кетонної групи, з додаванням суфікса -он. Нумерацію головного ланцюга починають із того кінця, ближче до якого перебуває кетонна група.

Для назви кетонів, особливо ароматичних, використовується радикально-функціональна номенклатура. У цьому випадку в назві перераховуються за алфавітом радикали, зв'язані з карбонільною групою, з додаванням слова «кетон». Деякі кетони мають також тривіальні назви (ацетон, бензофенон та ін.).



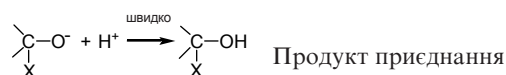
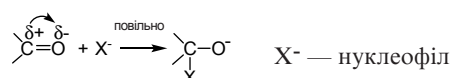
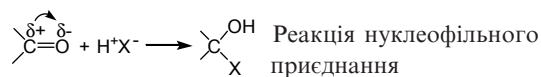
Реакції нуклеофільного приєднання (A_N)

Альдегіди та кетони, завдяки електрофільному центру, здатні вступати у взаємодію з нуклеофільними реагентами. Для оксосполук найбільш характерні реакції, що перебігають за механізмом нуклеофільного приєднання, їх позначають символом A_N (від англ. *addition nucleophilic*). Залежно від характеру нуклеофільного реагенту, що приєднується по подвійному зв'язку C=O , альдегіди і кетони перетворюються на різноманітні сполуки.

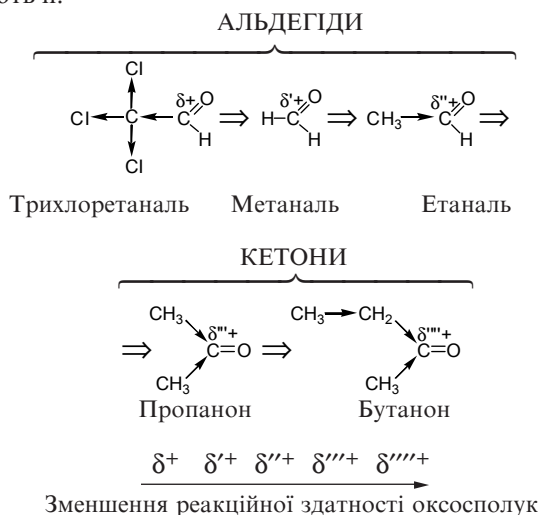
Нуклеофіл N атакує електрофільний центр молекули оксосполуки — атом Карбону карбонільної групи — і приєднується до нього за рахунок своєї пари електронів. Водночас відбувається гетеролітичний розрив π -зв'язку C=O, і пара електронів, що утворювала цей зв'язок, переходить до атома Оксигену, створюючи на ньому негативний заряд. Таким чином, у результаті приєднання нуклеофільного реагенту оксосполука перетворюється на алкоксидіон. Ця стадія реакції перебігає повільно.

Алкоксидіон є сильною основою. Тому він легко взаємодіє з будь-якою, навіть слабкою, кислотою (наприклад з молекулою води). Друга стадія реакції, що перебігає швидко, полягає в стабілізації алкоксидіона шляхом приєднання протона із середовища. У результаті реакції атом Карбону оксогрупи переходить із sp^2 - в sp^3 -гібридний стан.

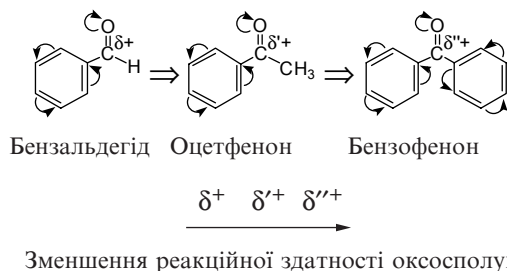
Реакцію нуклеофільного приєднання можна представити в загальному вигляді такою схемою:



Атака нуклеофіла перебігає тим легше, чим більша величина часткового позитивного заряду на атомі Карбону. Істотний вплив на величину δ^+ чинять вуглеводні радикали і замісники в них. Оскільки алкільні радикали виявляють +I-ефект, тобто є електронодонорами, то аліфатичні альдегіди практично завжди більш активні в реакціях нуклеофільного приєднання, ніж аліфатичні кетони, які мають два вуглеводневих радикали. Електроноакцепторні замісники підсилюють електрофільність атома Карбону, отже, підвищують реакційну здатність оксосполуки. Електронодонорні замісники, навпаки, знижують її:



В ароматичних альдегідах і кетонах карбонільна група перебуває в сполученні з бензеновим кільцем, виявляючи -I- і -Meфекти. Вона відтягує на себе електронну щільність бензенового кільця, що приводить до зниження величини δ^+ на атомі Карбону карбонільної групи. Цим пояснюється нижча реакційна здатність ароматичних оксосполук порівняно з аліфатичними. Ароматичні альдегіди, як правило, більш реакційноздатні, ніж змішані й тим більше ароматичні кетони.

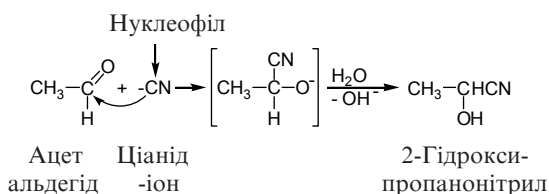


До найважливіших реакцій нуклеофільного приєднання належать реакції оксосполук із ціанідами, водою та спиртами, аміаком і амінами, а також із деякими іншими реагентами.

1. *Взаємодія з ціанідами металів.* При взаємодії оксосполук із солями ціановодневої кислоти (ціанідами) утворюються гідроксинітрили.

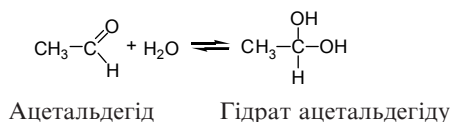
Гідроксинітрили — це сполуки, які містять у молекулі гідроксильну групу та ціаногрупу.

Сама ціановоднева кислота HCN мало дисоційована. Тому реакцію проводять у лужному середовищі, де утворюється ціанідіон, що є активною нуклеофільною частинкою.



За допомогою цієї реакції можна подовжити вуглецевий ланцюг вихідної сполуки на один атом Карбону; продукти реакції — гідроксинітрили — служать вихідними сполуками для синтезу гідроксикарбонових кислот.

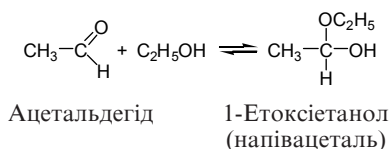
2. *Взаємодія з водою.* Альдегіди й у значно меншому ступені кетони оборотно приєднують воду, утворюючи гідрати:



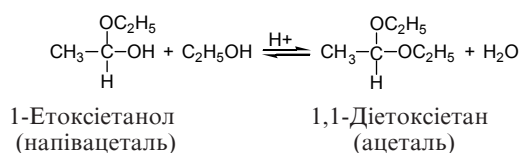
Стан рівноваги у цій реакції залежить від реакційної здатності карбонільної сполуки. Формальдегід у водному розчині гідратований на 100 %, ацетальдегід — на 51 %, у водному розчині ацетону гідратна форма практично відсутня. Галогеновані в α -положенні альдегіди і кетони, у яких більший частковий позитивний заряд

на атомі Карбону, мають високий вміст гідратних форм у водних розчинах. Наприклад, трихлорацетальдегід (хлораль) утворює дуже стійку гідратну форму — хлоральгідрат, відщепити воду від якого можна тільки при дії концентрованої сульфатної кислоти.

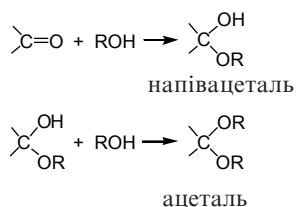
3. *Взаємодія зі спиртами.* Спирти, як і вода, оборотно приєднуються до оксосполук, переважно альдегідів, з утворенням *напівацеталей*. У спиртових розчинах альдегідів напівацеталі перебувають у рівновазі з карбонільними сполуками. Так, в етанольному розчині ацетальдегіду утримується близько 30 % напівацеталю (у розрахунку на альдегід).



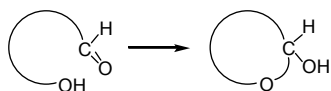
При взаємодії з другою молекулою спирту в умовах кислотного каталізу напівацеталі перетворюються на ацеталі. Багато які з кетонів у цю реакцію не вступають, їхні ацеталі одержують іншими методами. Напівацеталі зазвичай не виділяють через їхню нестійкість:



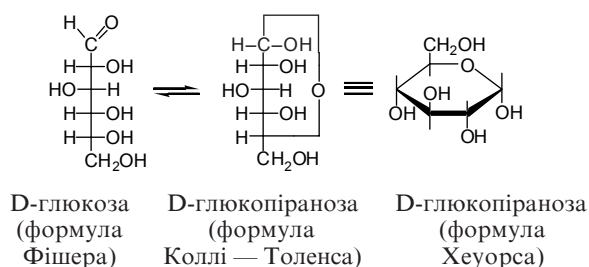
Таким чином, загальна схема утворення напівацеталей і ацеталей з відкритим ланцюгом така:



Утворення циклічних напівацеталей:



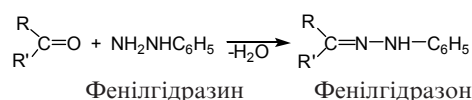
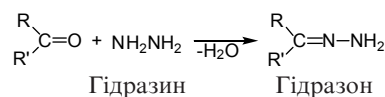
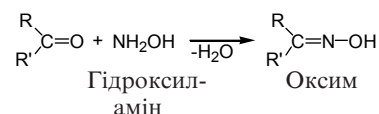
Прикладом утворення циклічних напівацеталей є молекула глюкози (формула Коллі — Толенса і Хеурса).



4. *Взаємодія з амінами.* Взаємодія оксосполук із первинними амінами перебігає за механізмом приєднання-відщеплення. На першій стадії реакції відбувається нуклеофільне приєднання аміну по подвійному зв'язку >C=O карбонільної групи. Аміни є сильними нуклеофілами, у цьому випадку немає необхідності активувати електрофільний центр оксосполук. Первинним продуктом приєднання є біполярний іон, що стабілізується в результаті внутрішньомолекулярного переносу протона від атома Нітрогену до атома Оксигену, перетворюючись на аміноспирт. Однак реакція не зупиняється на цій стадії. Вже підкреслювалося, що сполуки, які містять дві електроноакцепторні групи при одному атомі Карбону, нестійкі, вони прагнуть до стабілізації шляхом відщеплення однієї з груп у вигляді нейтральної термодинамічно стабільної молекули. У цьому випадку відбувається відщеплення молекули води від молекули аміноспирту (друга стадія реакції — елімінування) і утворюється амін (*основа Шиффа*).



Реакції нуклеофільного приєднання-відщеплення



Альдегід R' = H

Кетон R' ≠ H

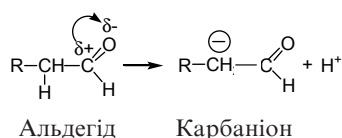
Подібно взаємодії з первинними амінами перебігають реакції оксосполук із такими похідними аміаку, як гідроксиламін NH₂OH, гідразин H₂N-NH₂, фенілгідразин C₆H₅NHNH₂ та інші похідні оксосполук, що утворюються, — оксими, гідразони, фенілгідразони; зазвичай це стійкі кристалічні речовини з чіткими температурами плавлення, використовуються для ідентифікації вихідних оксосполук.

5. *Відновлення оксосполук.* Альдегіди відновлюються в первинні спирти, а кетони — у вторинні. Одним з ефективних відновників оксосполук є алюмогідрид літію LiAlH₄. Він є постачальником гідридіонів H⁻, які є нуклеофільними частинками і приєднуються по подвійному зв'язку

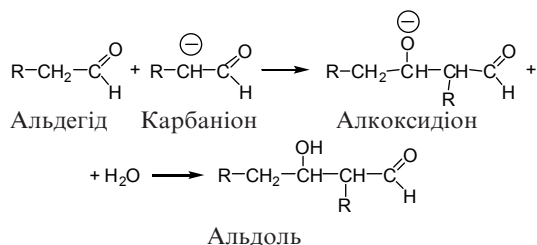
$>C=O$. Для перетворення спочатку утворюється алкоксидіон із спирту, після закінчення відновлення в реакційну суміш додають воду.

Альдольна конденсація

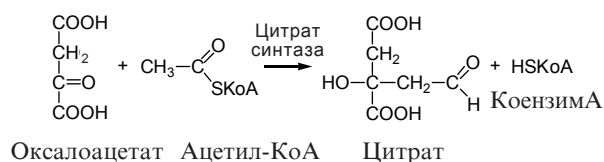
Реакції альдольно-кетонової конденсації перебігають з альдегідами та кетонами, у яких атом Карбону, безпосередньо зв'язаний з карбонільною групою, має хоча б один атом Гідрогену. Для розуміння механізму реакції необхідно розглянути вплив карбонільної групи на аліфатичний радикал. Електроноакцепторна карбонільна група викликає поляризацію зв'язків із сусідніми атомами, зокрема зв'язку С-Н в α -атомі Карбону. Атом Гідрогену стає рухливим, виникає СН-кислотний центр. За рахунок цього кислотного центру окосполука може під дією сильних основ відщепити протон і перетворитися на карбаніон. Негативний заряд у карбаніоні, що утворився, делокалізований за участю альдегідної або кетонної групи:



Аніон — це сильний нуклеофіл, він реагує з другою молекулою карбонільної сполуки за механізмом нуклеофільного приєднання з утворенням альдолю (альд — альдегід; -ол — спирт):

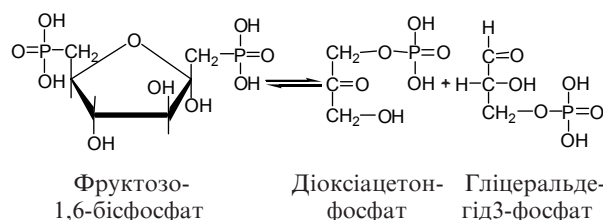


В умовах організму здійснюється *альдольна конденсація*, наприклад, оксалоацетату (щавлевооцтової кислоти) та ацетилкоензиму А в циклі Кребса, що приводить до утворення цитрату (лимонної кислоти).



У рослинних клітинах здійснюється *біосинтез фруктози* за механізмом альдольної конденсації.

У процесі гліколізу спостерігається *альдольна розщеплення* фруктозо-1,6-бісфосфату на дві фосфотріози: гліцеральдегід3-фосфат і діоксіацетонфосфат у присутності *альдолази*:

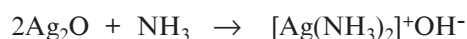
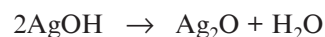
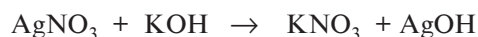


Окиснення альдегідів і кетонів. Якісні реакції на виявлення альдегідної групи

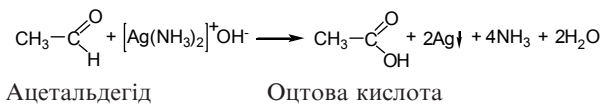
Альдегіди і кетони по-різному реагують на дію окисників. Альдегіди легко (значно легше, ніж спирти) окиснюються у відповідні карбонові кислоти. Для їхнього окиснення можна використовувати такі м'які окисники, як оксид срібла та гідроксид міді (II).

Кетони до дії цих окисників інертні. Не окиснюються вони й киснем повітря. Тільки під дією більш сильних окисників кетони вдається окиснити. При цьому відбувається розрив вуглець-вуглецевих зв'язків у вихідній молекулі й утворюється суміш різних продуктів окиснення (кислот і кетонів) з меншою кількістю атомів Карбону, ніж у молекулі вихідного кетону.

Однією з якісних реакцій для виявлення альдегідної групи є реакція «срібного дзеркала» — окиснення альдегіду оксидом срібла. Оксид срібла завжди готують безпосередньо перед дослідом, додаючи до розчину нітрату срібла розчин гідроксиду лужного металу.



У розчині аміаку оксид срібла утворює комплексну сполуку — гідроксид діамінсрібла, відому також під назвою реактиву Толенса. Під дією гідроксиду діамінсрібла на альдегід відбувається окисно-відновна реакція. Альдегід окиснюється у відповідну кислоту, а катіон срібла відновлюється в металеве срібло, що дає блискучий наліт на стінках пробірки — «срібне дзеркало».



Інша якісна реакція на альдегіди полягає в окисненні їх гідроксидом міді (II) (реактив Фелінга). При окисненні альдегіду гідроксид міді (II), що має світло-блакитний колір, відновлюється в гідроксид міді (I) жовтого кольору. Цей процес перебігає при кімнатній температурі. Якщо підігріти випробуваний розчин, то гідроксид міді (I) жовтого кольору перетворюється на оксид міді (I) червоного кольору.

КАРБОНОВІ КИСЛОТИ

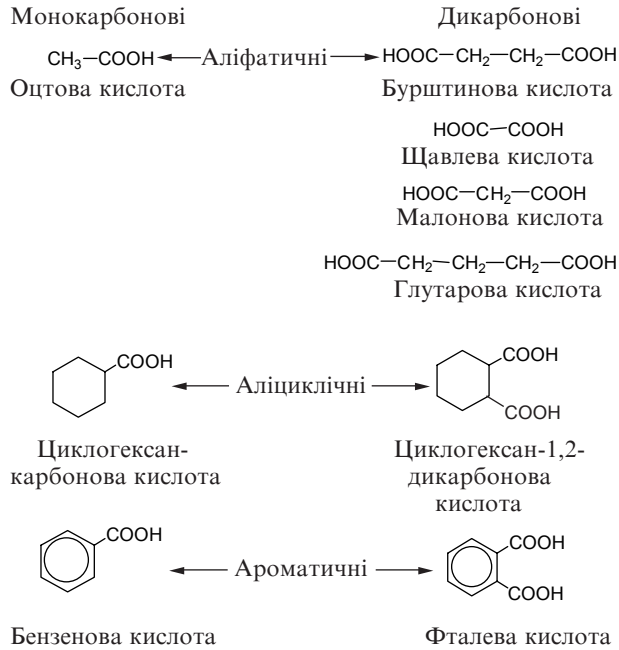
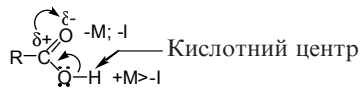


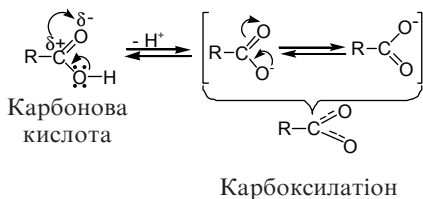
Рис. 1.6. Класифікація карбонових кислот



Спряження карбоксильної групи здійснюється за рахунок делокалізації неподіленої пари електронів атома Оксигену гідроксильної групи й електронів π -зв'язку карбонільної групи, тобто ρ, π -зв'язку.

Електронна щільність у ρ, π -сполученій системі зміщена в бік електронегативного атома Оксигену карбонільної групи. При такій електронній будові зв'язок O—H виявляється надто поляризованим, що зумовлює появу *—ОН-кислотного центру*.

Карбонові кислоти значно перевершують за кислотністю спирти та феноли. Завдяки повній делокалізації заряду на двох електронегативних атомах Оксигену карбоксилатіон має значно вищу стабільність.

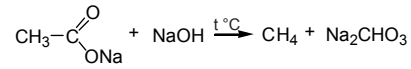


Утворення стабільних аніонів оксикислот та амінокислот можливе у фізіологічних умовах, звідси зрозумілі назви аміно-, оксо-, оксикислот у біохімії.

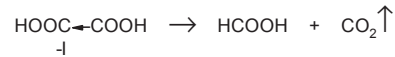
Глютамінова кислота = глутамат
 Аспарагінова кислота = аспартат
 Піровиноградна кислота = піруват
 Молочна кислота = лактат

Декарбоксілювання карбонових кислот

Здатність до декарбоксілювання залежить від будови кислоти. Монокарбонові кислоти втрачають CO_2 важко, тільки при нагріванні їх солей з твердими лугами.



Про введенні в молекули кислот електроноакцепторних замісників —COOH , —NH_2 схильність їх до декарбоксілювання підвищується. Тому щавлева кислота декарбоксілюється вже при слабкому нагріванні:



Однак декарбоксілювання будь-яких кислот легко здійснюється ферментативним шляхом в організмі.

Реакції нуклеофільного заміщення з утворенням ефірів, амідів кислот, ангідридів кислот (S_N)

Вони є найбільш характерними для карбонових кислот.

Хімічні властивості карбонових кислот зумовлені наявністю карбоксильної групи.

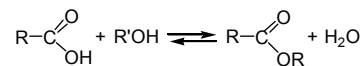


Найважливіша група реакцій карбонових кислот — це реакції нуклеофільного заміщення.

sp^2 -гібридизований атом Карбону карбоксильної групи завдяки електроноакцепторним властивостям атома Оксигену оксогрупи має частково позитивний заряд, тобто є електрофільним центром. Він може атакуватися нуклеофільними частинками, внаслідок чого відбувається заміщення гідроксильної групи в групі —COOH на іншу нуклеофільну частинку.

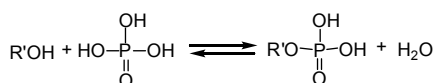
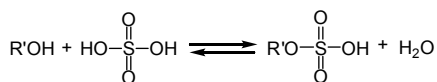
Реакція етерифікації

При взаємодії карбонових кислот із спиртами в присутності сильних мінеральних кислот утворюються *складні ефіри*.

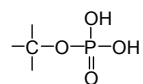


Оскільки гідроксидон (—OH) — міцно зв'язана група, то реакції нуклеофільного заміщення в карбоксильній групі відбуваються в присутності кислотних каталізаторів, особливо у тих випадках, коли використовуються слабкі нуклеофільні реагенти — спирти. Для активації карбоксильної групи застосовують кислотний каталізатор.

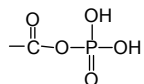
Складний ефір утворюється не тільки зі спирту та карбонової кислоти, але й зі спирту та кисневмісної неорганічної кислоти (H_2SO_4 , H_3PO_4).



Численні реакції фосфорилювання в біохімії можна розділити на дві групи: до однієї належать реакції, що ведуть до утворення складно-ефірного зв'язку, до другої — реакції утворення ангідридного зв'язку.

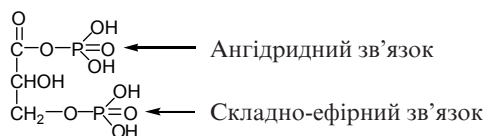


Складний ефір

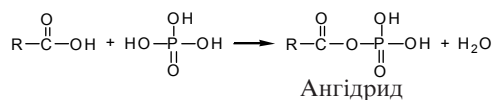
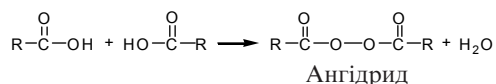


Ангідрид

У процесі гліколізу бере участь 1,3-бісфосфогліцерат, що містить складно-ефірний та ангідридний зв'язки:

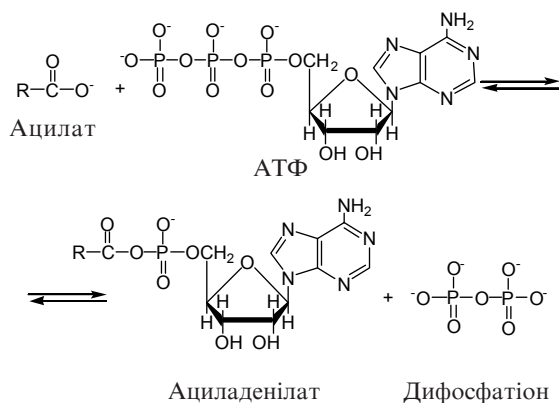


Ангідриди карбонових кислот можуть містити залишки однакових кислот або бути змішаними.

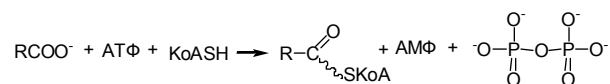


Перехід карбоксилвмісних сполук в ангідридну форму становить хімічну основу активації жирних кислот, амінокислот, жовчних кислот, необхідних для участі в наступних перетвореннях.

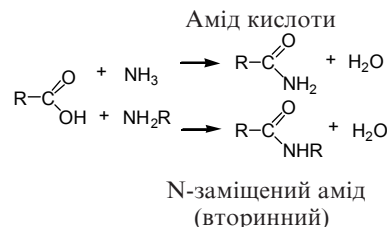
В організмі процес активації карбоксилвмісних сполук здійснюється за рахунок утворення *ациладенілатів* змішаних ангідридів карбонових кислот і АТФ.



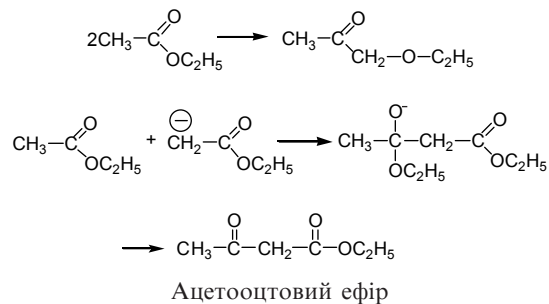
Ациладенілат є проміжним продуктом при утворенні тіоефірів жирних кислот (ацил-КоА):



Утворення амідів кислот залежно від ступеня заміщення у атома Нітрогену можуть бути первинними — $RCONH_2$, вторинними — $RCONHR'$ і третинними — $RCO NR'R''$.



Конденсація Кляйзена характерна для похідних карбонових кислот складних ефірів і тіоефірів:

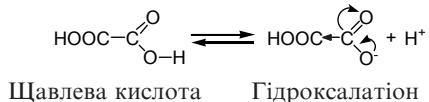


Процес β -окиснення жирних кислот включає реакцію, зворотну конденсації Кляйзена, в якій коензим А заміщає ацетилкоензим А, і утворюється жирна кислота, що містить на два атоми Карбону менше вихідної.

Будова і властивості дикарбонових кислот

До дикарбонових кислот належать сполуки з двома карбоксильними групами. Це білі кристалічні речовини, які мають більш кислий характер, ніж монокарбонові кислоти. У міру віддалення електроноакцепторних груп ($-COOH$) одна від одної сила кислоти в ряді помітно зменшується: щавлева — маленова — бурштинова кислоти.

Кислотні властивості. Порівняно з монокарбоновими кислотами дикарбонові кислоти мають сильніші кислотні властивості. Висока кислотність більш низьких дикарбонових кислот пояснюється сильною електроноакцепторною дією другої карбоксильної групи, яка сприяє делокалізації негативного заряду на аніоні, який утворився після відриву протона.

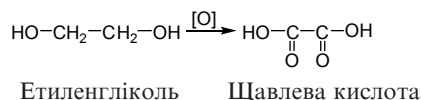


Специфічні реакції дикарбонових кислот

Малонова та щавлева кислоти здатні при нагріванні відщеплювати оксид карбону (IV), цей процес називається *декарбоксілюванням*. При введенні в молекули кислот електроноакцепторних замісників схильність їх до декарбоксілювання підвищується. У щавлевій та малоновій кислотах друга карбоксильна група виступає як електроноакцептор і цим полегшує декарбоксілювання.

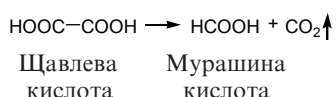
Щавлева кислота HOOC-COOH — найпростіша двохосновна кислота. Її солі називаються *оксалатами*. Деякі з них важко розчинні, часто утворюють камені в нирках і сечовому міхурі (*оксалатні камені*). До таких солей належить *оксалат кальцію*.

Нирково-кам'яна хвороба полягає в утворенні каменів — відкладанні солей різного складу: урату кальцію — солі сечової кислоти, малорозчинних фосфатів або оксалатів кальцію. Їх відкладенню сприяє збільшення рН сечі, тобто лужне середовище. До того ж, однією з причин загибелі при *отруєннях етиленгліколом* є закупорка судин множинним відкладенням малорозчинного оксалату кальцію, який утворюється через те, що у плазмі різко підвищується концентрація щавлевої кислоти — продукту метаболізму етиленгліколю:

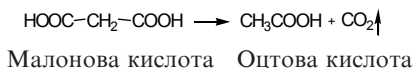


Хімічні прийоми лікування цих патологічних станів ґрунтуються на дії препаратів, які розчиняють камені, для чого крім хіміотерапії застосовують спеціальні дієти і мінеральні води.

Щавлева кислота декарбоксілюється вже при слабкому нагріванні:

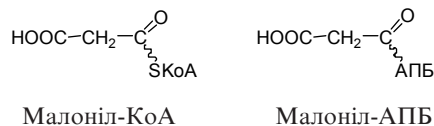


Малонова кислота ($\text{HOOC-CH}_2\text{-COOH}$). Подібно до щавлевої кислоти, малонова кислота та її похідні декарбоксілюються, однак малонову кислоту для цього потрібно нагріти сильніше:

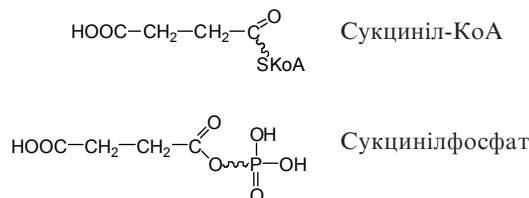


Бурштинову кислоту практично вже не вдається декарбоксілювати нагріванням (як оцтову та інші насичені кислоти). Однак декарбоксілювання будь-яких кислот, їх похідних легко здійснюється ферментативним шляхом, це одна з необхідних стадій перетворення органічних речовин в організмі.

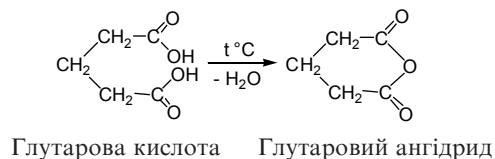
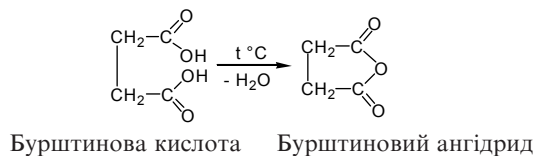
У біосинтезі жирних кислот *in vivo* використовуються тіоефіри малонової кислоти: малоніл-КоА та малоніл-АПБ (АПБ — білок, який переносить ацил):



Бурштинова кислота ($\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$) у значній кількості міститься в бурштині, звідки вона й дістала назву. Деякі її похідні називають, враховуючи латинську назву бурштину (*succinium*):



Бурштинова та глутарова кислоти при нагріванні не декарбоксілюються, а втрачають молекулу води з утворенням *циклічних ангідридів*. Такий хід реакції зумовлений утворенням стійкого п'яти- та шестичленного циклу.



Реакції нуклеофільного заміщення. Дикарбонові кислоти, подібно до монокарбонових, вступають у реакції нуклеофільного заміщення за участю однієї або двох функціональних груп і утворюють складні ефіри, амідні, хлорангідриди, тіоефіри.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Біоорганічна хімія як наука: визначення, предмет і завдання, розділи, методи дослідження. Значення в системі вищої медичної освіти.
2. Класифікація органічних сполук за будовою вуглецевого радикалу та природою функціональних груп.
3. Будова найважливіших класів біоорганічних сполук за природою функціональних груп: спиртів, фенолів, тіолів, альдегідів, кетонів, карбонових кислот, складних ефірів, амідів, нітросполук, амінів.
4. Номенклатура органічних сполук: тривіальна, раціональна, міжнародна. Принципи утворення назв органічних сполук за номенклатурою ІЮПАК: замісників, радикально-функціональний.

5. Природа хімічного зв'язку в органічних сполуках: гібридизація орбіталей, електронна будова сполук Карбону.

6. Просторова будова біоорганічних сполук: стереохімічні формули; конфігурація та конформація. Стереізомери: геометричні, оптичні, поворотні (конформери).

7. Оптична ізомерія; хіральність молекул органічних сполук. D-, L- та R-, S-стереохімічні номенклатури. Енантіомери та діастереоізомери біоорганічних сполук. Зв'язок просторової будови з фізіологічною активністю.

8. Типи реакцій у біоорганічній хімії: класифікація за результатом (спрямованістю) та механізмом реакції. Приклади.

9. Карбонільні сполуки в біоорганічній хімії. Хімічні властивості та біомедичне значення альдегідів і кетонів.

10. Карбонові кислоти в біоорганічній хімії: будова і хімічні властивості; функціональні похідні карбонових кислот (ангідриди, аміді, складні ефіри). Реакції декарбоксілювання.

11. Будова і властивості дикарбонових кислот: щавлевої, малонові, бурштинової, глутарові.

Глава 2. ВИЩІ ЖИРНІ КИСЛОТИ. ЛІПІДИ. ФОСФОЛІПІДИ. α -АМІНОКИСЛОТИ. ПЕПТИДИ. БІЛКИ

2.1. ЛІПІДИ

Ліпідами називають велику групу природних сполук, до якої входять різні за хімічною будовою речовини. Загальною властивістю, що дозволила об'єднати їх у єдину групу, є розчинність їх в органічних розчинниках і нерозчинність у воді. Відповідно до цього до ліпідів були віднесені жирні кислоти, прості та складні ефіри гліцерину, аміді — похідні аміноспирту сфінгозину, холестерин і його ефіри, воски й навіть каротин. Доцільніше відносити до ліпідів природні біологічно активні похідні вищих жирних кислот і спиртів. Звичайно це прості й складні ефіри, що утворюються в результаті взаємодії гліцерину та стероїдних спиртів із вищими жирними кислотами. У молекулі ліпиду неодмінно присутній один або кілька гідрофобних замісників, які забезпечують добру розчинність у неполярних розчинниках. Багато ліпідів містять поряд із гідрофобними також гідрофільні замісники, що мають спорідненість до полярних розчинників. Наявність у ліпідах такого типу полярних і гідрофобних замісників визначає їхню участь в утворенні структури біологічних мембран і функціональну роль, пов'язану з переносом речовин й іонів через мембрани, енергозабезпеченням клітини та захисних реакцій організму. Останнім часом широко обговорюється роль ліпідів як біорегуляторів.

Ліпіди виконують у живих організмах ряд важливих функцій. Вони є основними структурними компонентами клітинних мембран, відіграють захисну роль, служать формою, у вигляді якої запащається та транспортується енергетичне «паливо».

Класифікація та хімічна структура ліпідів

Ліпіди ділять на омилювані та неомилювані залежно від здатності до гідролізу з утворенням у

лужному середовищі солей вищих карбонових кислот, тобто *мл*. Неомилювані ліпіди однокомпонентні в тому розумінні, що є похідними одного негідролізуючого класу сполук. Омилювані ліпіди можуть бути двокомпонентними (*прості ліпіди*) або складатися з трьох і більше компонентів (*складні ліпіди*), тобто утворювати при гідролізі органічні сполуки двох, трьох і більше класів (рис. 2.1).

Попередники і похідні ліпідів

Похідні ліпідів — це такі сполуки, як вищі жирні кислоти, моно- і дигліцериди, вищі спирти, жиророзчинні вітаміни тощо, тобто сполуки, близькі до ліпідів за хімічною структурою, фізико-хімічними властивостями, пов'язані з ними в процесах обміну, які входять разом із ліпідами до структури клітин.

Жиророзчинними є вітаміни А, Е, К, D, Q. Вони мають одну спільну структурну особливість — їхні молекули побудовані з ізопренових структур (ізопренові блоки).

Вищі жирні спирти та альдегіди

Вищі жирні спирти входять до складу різних ліпідів, мають нерозгалужене вуглецеве кільце, парну кількість атомів Карбону, можуть бути як насиченими, так і ненасиченими.

Наприклад, насичені спирти:

$C_{16}H_{33}OH$	$C_{26}H_{53}OH$	$C_{31}H_{63}OH$
Цетиловий спирт	Церіловий спирт	Мірициловий спирт

і ненасичені вінілові спирти:



До складу тригліцеридів і фосфоліпідів входить триатомний спирт гліцерол (гліцерин). Шестиатомний спирт міоїнозит (циклогексанового

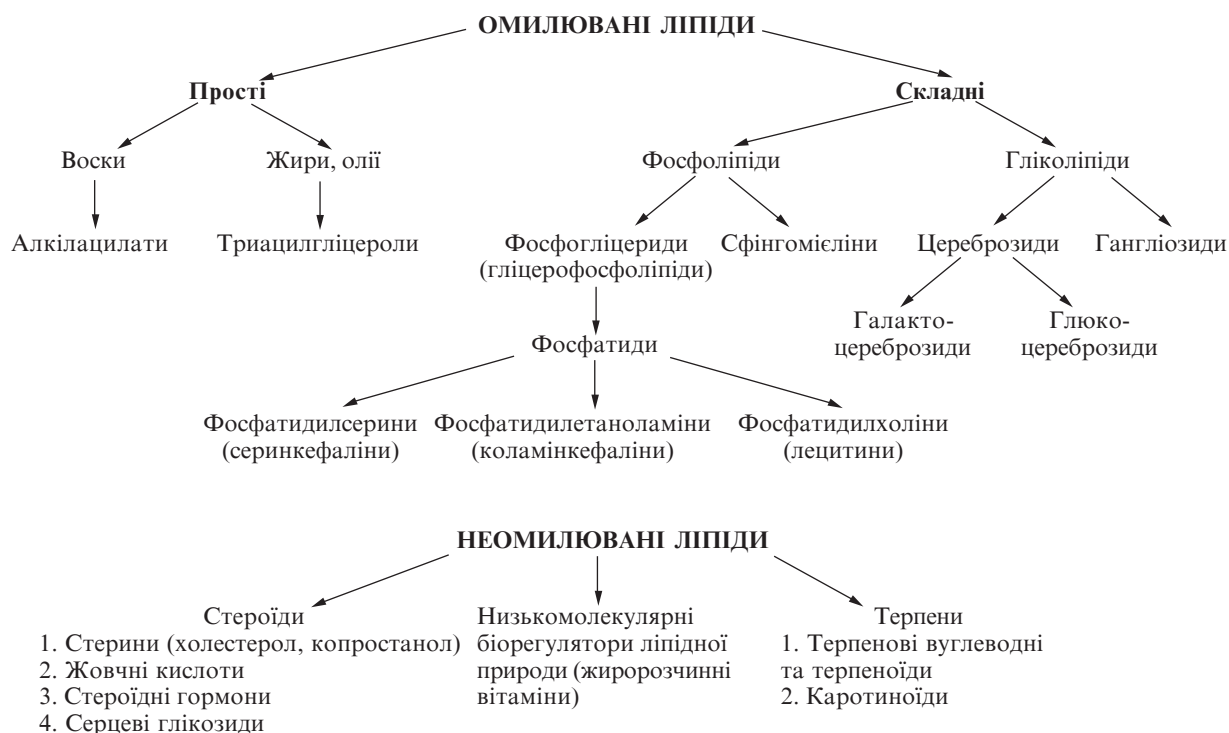
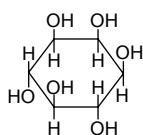


Рис. 2.1. Класифікація ліпідів

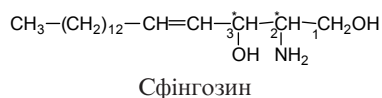
ряду) виявили у складі ліпідів рослинних і тваринних тканин:



Міоїнозин (мезоїнозит)

Фосфолїпїди містять спирт (гліцерин), жирні кислоти, залишок фосфорної кислоти, а також амінокислоту серин або аміноспирти *коламін* $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ і *холїн* $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$.

Вищі аміноспирти входять до складу цереброзидів, сфінгомїєлінів, гангліозидів та ін. Найчастіше це сфінгозин — двоатомний ненасичений аміноспирт транс-конфігурації, а хіральні атоми С-2 та С-3 — D-конфігурації:



Вищі жирні альдегїди є структурними компонентами плазмалогенів. Їхня частка у складі природних ліпідів незначна, але вони дуже різноманітні — можуть бути як насиченими, так і ненасиченими. Кількість атомів Карбону в молекулах альдегідів — від 6 до 20 (здебільшого альдегідні компоненти плазмалогенів складаються з 16 і 18 атомів Карбону).

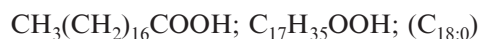
Карбонові кислоти входять до складу ліпідів у вигляді складних ефірів або амідів. Вищі жирні кислоти, що входять до складу жирів, мають, як правило, парну кількість атомів Карбону (найчастіше C_{12} – C_{20}), нерозгалужений ациклічний вуглецевий ланцюг, є монокарбоновими кисло-

тами. Усього їх відомо близько 50. До складу ліпідів входять жирні кислоти, які можуть бути насиченими та ненасиченими. З насичених жирних кислот найчастіше в ліпїди входять такі:

Насичені кислоти — $(\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{COOH})$:

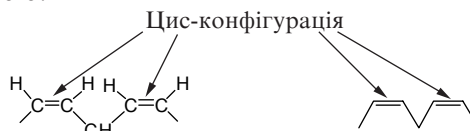


Пальмітинова кислота



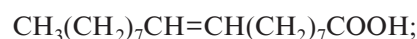
Стеаринова кислота

Ненасичені кислоти містять один або кілька подвійних зв'язків, які мають *цис-конфігурацію*. Найближчий до карбоксильної групи подвійний зв'язок розташований між 9-м і 10-м атомами Карбону. Якщо подвійних зв'язків кілька, то вони відокремлені один від одного метиленовою групою.



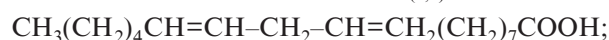
Скорочене позначення

Моносові кислоти — $(\text{C}_n\text{H}_{2n-1}\text{COOH})$:

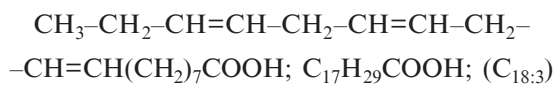


Олеїнова кислота

Полїсові кислоти — $(\text{C}_n\text{H}_{2n-3(5,7)}\text{COOH})$:



Лїнолева кислота



Ліноленова кислота



Арахідонова кислота

Лінолева кислота, біологічна цінність якої для організму зумовлена її просторовою будовою — цис-конфігурацією, може перетворюватися на іншу незамінну кислоту — арахідонову.

Важливу роль для організму мають поліненасичені жирні кислоти, зокрема лінолева, ліноленова та арахідонова. Перші дві не синтезуються в організмі, а арахідонова синтезується, але в недостатній кількості. Тому їх називають незамінними (або есенціальними) кислотами. Добова потреба людини в них становить 5–10 г. Багаті джерела їх — це рослинні масла. Біологічна роль цих кислот полягає в тому, що вони входять до складу ліпідів; сприяють обміну холестерину в організмі, зокрема знижують його рівень у крові, стимулюють його обмін у печінці та виділення з жовчю. З поліненасичених жирних кислот синтезуються гормони ейкозаноїди, що регулюють обмін речовин в організмі.

Прості та складні ліпіди

Залежно від здатності до гідролізу ліпіди розділяються на дві групи:

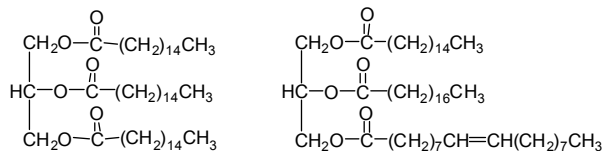
- ліпіди, здатні до омилення (омилювані);
- ліпіди, не здатні до омилення (неомилювані).

Омилювані ліпіди поділяються на прості та складні.

Прості ліпіди — це складні ефіри різних спиртів і жирних кислот. Залежно від того, який спирт входить до складу простих ліпідів, вони діляться на:

- нейтральні жири або триацилгліцероли (тригліцериди) — складні ефіри гліцеролу та вищих жирних кислот;
- воски — складні ефіри вищих спиртів (ациклічні або циклічні), а також складні ефіри, утворені вітамінами А і D й жирними кислотами.

1. Нейтральні жири триацилгліцероли (тригліцериди)



Трипальмітоїлгліцерол (простий триацилгліцерол)

1-Пальмітоїл-2-стеароїл-3-олеїлгліцерол (змішаний триацилгліцерол)

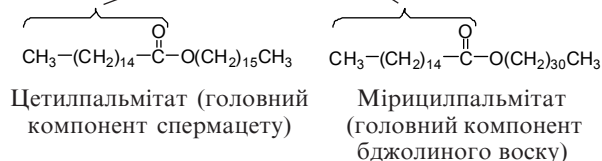
Залежно від фізичного стану при кімнатній температурі *триацилгліцероли* бувають *нейтральними жирами* — триацилгліцеролами насичених жирних кислот (тверді жири) і *нейтральними оліями* — триацилгліцеролами ненасичених жирних

кислот (рідкі жири). В організмі людини нейтральні жири є основною складовою частиною *адипоцитів* жирової тканини. Нейтральні жири адипоцитів є змішаними триацилгліцеролами.

2. Воски

Ці сполуки утворюють захисні водостійкі покриття на поверхні багатьох рослин і на шкірі тварин. Приклади природних восків: спермацет, бджолиний віск.

Фрагменти пальмітинової кислоти

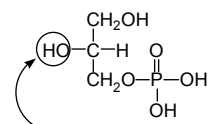


Спермацет — складний ефір цетилового спирту та пальмітинової кислоти. Цетиловий спирт $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{COOH}$. *Бджолиний віск* — складний ефір мірицилового спирту ($\text{C}_{31}\text{H}_{63}\text{COOH}$) і пальмітинової кислоти.

Складні ліпіди поділяють на *фосфоліпіди* і *гліколіпіди*.

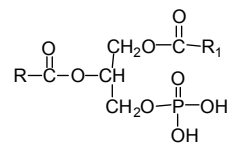
- Фосфоліпіди*, в свою чергу, поділяються на:
 - гліцерофосфоліпіди (спиртгліцерол);
 - сфінгофосфоліпіди (спиртсфінгозин).

Гліцерофосфоліпіди — похідні гліцерол-3-фосфату, головний ліпідний компонент клітинних мембран. Гліцерол-3-фосфат містить хіральний атом Карбону й може існувати у вигляді двох стереоізомерів. Природні гліцерофосфоліпіди є похідними L-гліцерол-3-фосфату:



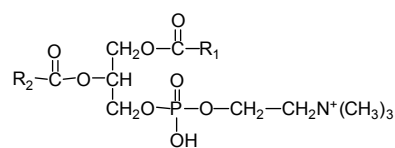
L-Гліцерол-3-фосфат

Серед гліцерофосфоліпідів найбільш розповсюджені *фосфатиди* — складні ефірні похідні *L-фосфатидної кислоти*, етерифікованої аміноспиртами холіном, етаноламіном (коламіном) і амінокислотою серином.

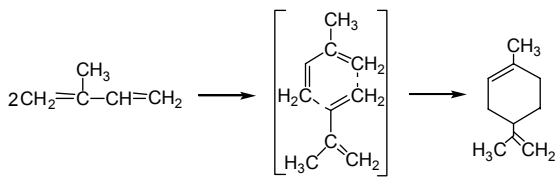


Фосфатидна кислота

Прикладами фосфатидів є *фосфатидилсерини*, *фосфатидилетаноламіни*, *фосфатидилхоліни*:



Фосфатидилхолін (лецитин)

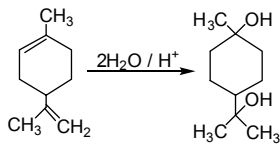


Ізопрен

Дипентен

Замісні дипентени — психоактивна основа гашишу (марихуани).

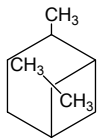
Здебільшого терпени застосовуються в медицині і є вихідними продуктами для синтезу ліків. Так, з лімонену гідратацією в кислому середовищі одержують терпін, яким у вигляді гідрату користуються як відхаркувальним засобом.



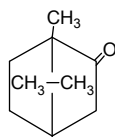
Лімонен

Терпен

α -Пінен — біциклічний монотерпен ряду пінану, міститься в лимонній олії, а його лівообертаючий енантіомер — важлива частина скипидару з хвойних дерев.



α -Пінен



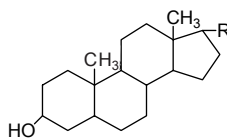
Камфора

Камфора — це біциклічний кетон, що застосовується в медицині як стимулятор серцевої діяльності.

Особливу групу терпенів становлять *каротиноїди* — рослинні пігменти, у молекулах яких міститься багато спряжених подвійних зв'язків (β -каротин).

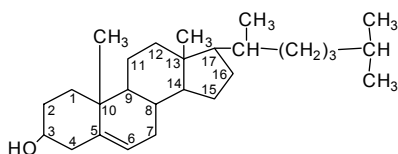
Стерини

Стерини мають загальну формулу:



Вони можуть утворювати складні ефіри з жирними кислотами.

Найпоширенішим у природі зі стеринів є холестерин (холестерол):



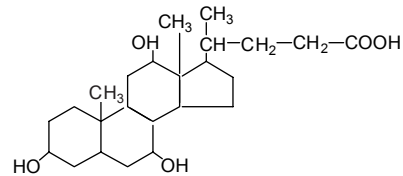
У крові одна третина холестерину існує у вигляді вільного спирту, а дві третини його етери-

фіковані головним чином ненасиченими жирними кислотами. Крім цього, з холестерину в організмі утворюються деякі біологічно активні речовини: гормони кори надниркових залоз, статеві гормони, жовчні кислоти, вітамін D₃ (з 7-дегідрохолестерину) під впливом ультрафіолетових променів. Холестерин входить до складу клітинних мембран.

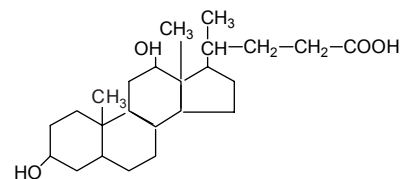
Холестерин (холестерол) синтезується в організмі тварин (у печінці) і практично наявний в усіх клітинах і рідинах організму. Особливо багато його в клітинах центральної та периферичної нервової системи, шкірному салі та нирках.

Підвищення рівня холестерину в крові швидко компенсується шляхом зменшення його синтезу в печінці. Інший механізм зниження рівня холестерину — утворення розчинних комплексів холестерину з білками. Стійкість цих комплексів залежить від природи фосфоліпідів. Наявність у крові ненасичених жирних кислот, особливо арахідонової, заважає відкладанню холестерину на стінках кровоносних судин, що затримує розвиток атеросклерозу. За недостатньої кількості холестерину в організмі порушуються передавання нервових імпульсів і гормональна діяльність. Холестерин є попередником у біосинтезі жовчних кислот і стероїдних гормонів.

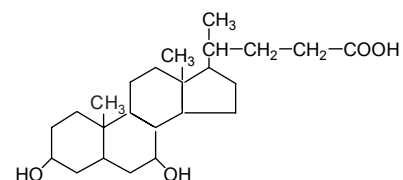
Жовчні кислоти синтезуються печінкою. Вони відіграють важливу роль у травленні, забезпечують емульгування жирів. Сьогодні доведено, що жовчні кислоти утворюють стійкі сполуки з багатьма природними жирними кислотами. З жовчі людини і тварини виділено різні жовчні кислоти, у тому числі такі:



Холева кислота



Дезоксихолева кислота



Хенодезоксихолева кислота

Жовчні кислоти емульгують жири, що надходять із їжею, поліпшують їх засвоєння, а також активують фермент ліпазу, яка каталізує гідроліз жирів.

Хімічні властивості жирів

1. Основна частина ліпідів побудована за допомогою неполярних зв'язків. Тому малополярні в цілому молекули ліпідів гідрофобні. Нерозчинні у воді клітинні оболонки побудовані з ліпідного матеріалу, що забезпечує функціонування водних розчинів усередині клітин.

Неполярна природа ліпідів є причиною їхньої низької електро- і теплопровідності. Тому ліпіди виступають як захисні оболонки багатьох живих організмів від електричних або термічних впливів (як від охолодження, так і від перегрівання), а також і від механічних впливів.

Невисока щільність (0,91–0,97 г/см³) є необхідною для надання багатьом організмам плавучості.

2. Жири розчиняються в ефірі, полігалогенопохідних, бензені, толуені тощо. Жири не розчиняються у воді, але можуть утворювати емульсії, що стабілізуються за наявності поверхнево активних речовин. Природною емульсією жиру, стабілізованою білками, є молоко.

Слід пам'ятати про високу ліпідну розчинність багатьох отруйних речовин, молекули яких побудовані за допомогою ковалентних малополярних зв'язків.

3. Більшість природних жирів (оливкова олія, вершкове масло та інші харчові жири) є змішаними триацилгліцеридами, до складу яких входять жирні кислоти, що розрізняються як довжиною ланцюга, так і ступенем насиченості. Рослинні жири (олії) мають високий вміст ненасичених ацилів.

Існує чітка кореляція між ступенем насиченості та температурою плавлення тригліцеридів.

Високоненасичені рослинні олії мають дуже низьку температуру плавлення, тоді як тваринні жири при звичайній температурі є твердими речовинами. Розроблено промислові методи переробки рослинних жирів у маргарин — продукт, який має фізичні властивості, подібні до властивостей типового тваринного жиру.

Оскільки природні жири є складними сумішами змішаних триацилгліцеролів, вони плавляться не при певній температурі, а в певному температурному інтервалі, причому спочатку вони розм'якшуються. Для характеристики жирів застосовують температуру твердіння, яка не збігається з температурою плавлення.

4. Крім температури плавлення і твердіння для характеристики жирів користуються й іншими величинами: кислотне число, число омилення, йодне число.

Кислотне число — це кількість міліграмів їдко-го калі, потрібна для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

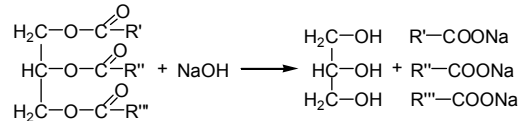
Число омилення дорівнює кількості міліграмів їдко-го калі, що витрачається на омилення 1 г жиру під час кип'ятіння останнього з надлишком їдко-го калі у спиртовому розчині.

Йодне число визначається кількістю грамів йоду, що може приєднатися за подвійними зв'язками до 100 г жиру.

Гідроліз жирів

Кислотний і лужний гідролізи жирів перебігають поступово, дуже ефективним каталізатором цього процесу є сульфокислоти.

Триацилгліцерол гідролізується при нагріванні в кислому чи лужному середовищі, а в організмі людини — під дією ферменту ліпази, який надходить у тонкий кишечник із підшлункової залози. Гідроліз жирів за наявності КОН або NaOH, який називають омиленням, приводить до утворення суміші калієвих або натрієвих солей і гліцеролу:



Триацилгліцерол

Гліцерол

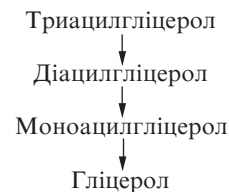
Соли жирних кислот (мила)

Реакції приєднання. Подвійні зв'язки ненасичених кислот, які входять до складу жиру, можуть бути прогідровані каталітично; вони приєднують бром і йод.

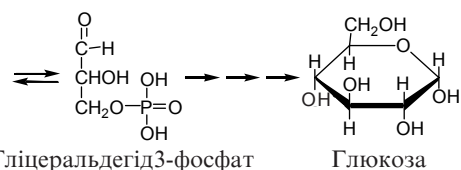
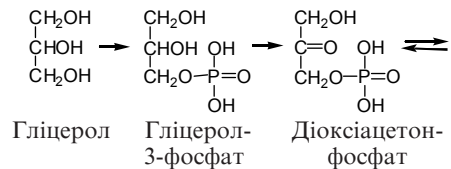
Окиснення ліпідів

Характерною хімічною властивістю ліпідів, як і інших органічних речовин, є окиснення. Ця реакція супроводжується виділенням 39 кДж енергії на 1 г жиру, що більш ніж удвічі перевершує тепловий ефект окиснення вуглеводів або білків. Тому жири відіграють роль енергетичних ресурсів, становлячи в нормі 20 % ваги людського організму. Інша важлива особливість окиснення ліпідів полягає в тому, що в результаті його з 1 г жиру утворюється до 1,4 г H₂O. Це істотний внесок у підтримку загального водного балансу організму. Окремі види тварин, що живуть у пустелях, ендогенною водою повністю задовольняють свої потреби у воді.

Біологічне окиснення ліпідів — багатоступінчастий процес, що починається з їхнього гідролізу до жирних кислот і гліцеролу (у випадку жирів) або інших компонентів. Гідроліз жирів відбувається східчато за схемою:



Лише після гідролізу відбувається східчате окиснення гліцеролу і жирних кислот.



Цей процес є оборотним і лежить в основі багатоступінчастого взаємоперетворення вуглеводів і ліпідів, здійснюваного в організмі.

Ферментативне окиснення жирних кислот є основним джерелом енергії при окисненні ліпідів. Перша стадія процесу, що реалізується за участю коферменту А, складається в α, β -дегідрування жирної кислоти. Інші етапи представлені в схемі (рис. 2.2):

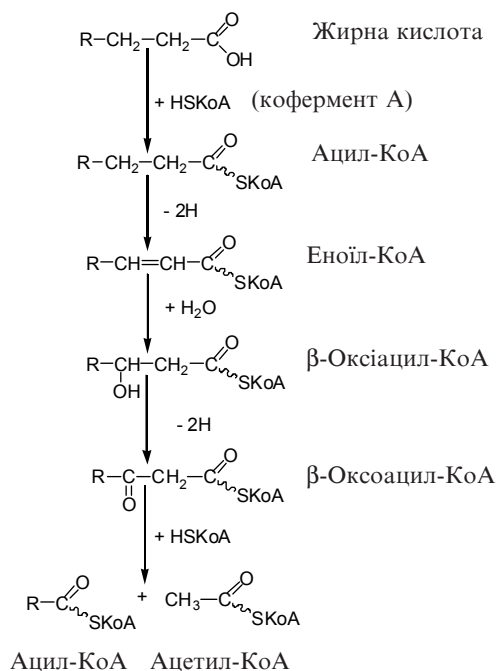


Рис. 2.2. Окиснення жирних кислот

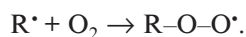
Реакції перекисного окиснення ліпідів

Для біоорганічної хімії найбільше значення мають вільнорадикальні реакції утворення пероксидів поліненасичених жирних кислот у складі ліпідних молекул, які утворюють біологічні мембрани, ліпопротеїнові міцели плазми крові, нуклео-протеїноліпідні комплекси ядерного хроматину. Ініціювання процесу відбувається шляхом генерації вільного радикала поліненасиченої жирної кислоти — переважно $C_{18:4}$, $C_{20:4}$ або $C_{22:6}$. Механізми генерації вихідного радикала складні й різняться в окремих біохімічних системах — процес може бути ініційованим хімічно активними формами кисню (синглетним киснем 1O_2 , гідроксильним радикалом OH^\bullet).

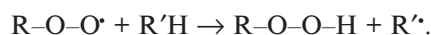
1. Перекисне окиснення ліпідів починається з відщеплення атома Гідрогену від незаміщеного ланцюга:



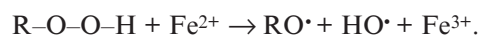
2. Радикал R^\bullet реагує з O_2 з утворенням пероксидного радикала:



3. Пероксидний радикал забирає Гідроген від іншої молекули жирної кислоти:



4. У присутності іонів Fe^{2+} ініціюється подальше утворення радикала:



5. Відбувається утворення альдегіду, який включається в подальші радикальні реакції (рис. 2.3).

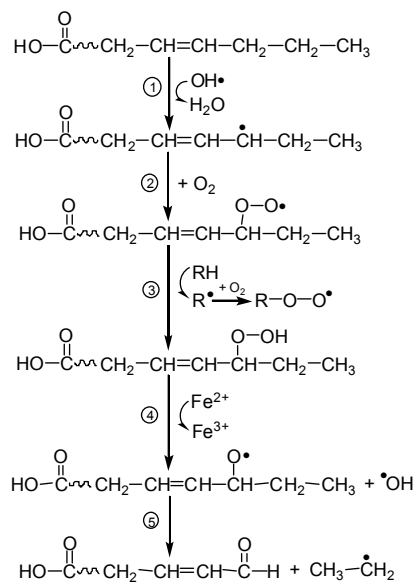


Рис. 2.3. Перекисне окиснення ліпідів

Органічні речовини, що зупиняють реакції ліпопероксидації в біологічних системах шляхом взаємодії з хімічно активними вільними радикалами (виступаючи в ролі гасників, або «пасток» вільних радикалів), називаються *антиоксидантами*.

Гіркнення. Більшість жирів, які перебувають на повітрі, гіркнуть — набувають неприємного смаку та запаху. Гіркнення відбувається внаслідок окиснення ненасичених вищих кислот або гідролізу. Розрізняють два типи гіркнення — гідролітичне й окиснювальне. При цьому можуть утворюватися вільні жирні кислоти (наприклад масляна), альдегіди і кетони з коротким ланцюгом, які також мають неприємні запахи і смак. Процес гіркнення прискорюється за наявності вологи, при підвищенні температури, на світлі.

У клітинах за звичайних умов самоокиснення ненасичених жирів повністю загальмоване завдяки наявності вітаміну Е, різних ферментів, а також аскорбінової кислоти.

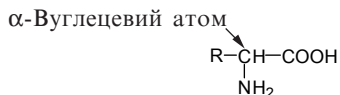
2.2. АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД БІЛКІВ І ПЕПТИДІВ

Білки — це високомолекулярні азотовмісні органічні сполуки, молекули яких побудовані із залишків амінокислот.

Друга назва цієї групи сполук — «протеїни» (від грецьк. *protos* — перший, важливий, вкрай необхідний). Цей термін найточніше відображає першочергове біохімічне значення цього класу речовин.

Амінокислоти — це похідні карбонових кислот, в яких один або кілька атомів Гідрогену у вуглеводному радикалі замінені на аміногрупу (NH_2).

Загальна формула амінокислот:



Амінокислоти, що входять до складу білків, мають аміногрупу, розміщену в α -положенні вуглецевого ланцюга. У тканинах людини і тварин є амінокислоти, у яких аміногрупа не в α -, а в β -положенні. Ці амінокислоти не входять до структури білка, а знаходяться у вільному стані або входять до складу інших сполук.

Класифікація, номенклатура та ізомерія амінокислот

Сьогодні існує кілька класифікацій амінокислот:

1. За будовою вуглецевого ланцюга.
2. За біохімічною роллю (здатність до синтезу в організмі).

3. За хімічною природою продуктів, які утворюються з амінокислот.

4. За полярністю радикалів.

За будовою вуглецевого ланцюга амінокислоти діляться на дві групи:

1. Ациклічні, аліфатичні (або амінокислоти жирного ряду).
2. Циклічні амінокислоти.

Кожна з цих груп амінокислот ділиться на підгрупи. Ациклічні амінокислоти залежно від кількості карбоксильних та аміногруп у їх молекулах діляться на чотири підгрупи:

1. **Моноамінокарбонові:** C_2 — гліцин; C_3 — аланін, серин, цистеїн; C_4 — треонін; C_5 — валін, метіонін; C_6 — лейцин, ізолейцин.

2. **Моноамінодикарбонові:** C_4 — аспарагінова кислота; C_5 — глутамінова кислота.

3. **Діаміномонокарбонові:** C_5 — аргінін; C_6 — лізин.

4. **Діамінодикарбонові:** цистин.

Група циклічних амінокислот ділиться на дві підгрупи:

— карбоциклічні (ароматичні) амінокислоти — їхній цикл складається з атомів Карбону: фенілаланін, тирозин;

— гетероциклічні амінокислоти: триптофан, гістидин, пролін, оксипролін. До складу їхніх циклів, окрім атомів Карбону, входять інші атоми (гетероатоми), найчастіше Нітрогену.

За біохімічною роллю амінокислоти поділяють на замінні та незамінні.

Незамінні амінокислоти життєво необхідні для нормального росту, розвитку та функціонування організму. Незамінність їх для росту пов'язана

на з тим, що організм тварин не здатний синтезувати їх з інших речовин. Основним джерелом α -амінокислот для живого організму є харчові білки.

Замінні амінокислоти можуть синтезуватися в організмі з інших сполук.

За хімічною природою продуктів, які утворюються з амінокислот в процесі їх обміну, амінокислоти діляться на глікогенні, кетогенні та змішані. **Глікогенні амінокислоти**, вуглецевий скелет яких при розщепленні перетворюється на піруват, α -кетоглутарат, сукциніл-КоА, фумарат або оксалоацетат, — попередники глюкози. **Кетогенні амінокислоти**, вуглецевий скелет яких при розщепленні перетворюється на ацетил-КоА та ацетоацетат, потім перетворюються на жирні кислоти й кетоніві тіла (табл. 2.1).

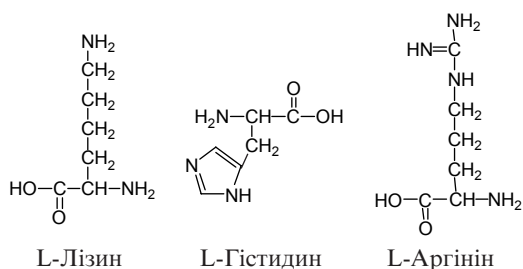
Таблиця 2.1

Класифікація амінокислот

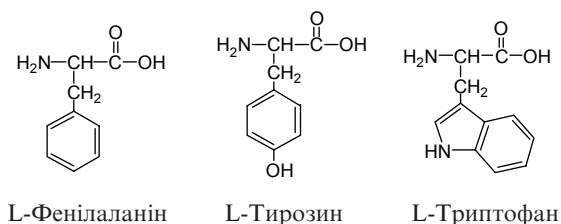
Глікогенні		Глікогенні та кетогенні	Кетогенні
Замінні	Аланін Аспартат Цистеїн Аспарагін Глутамат Гліцин Пролін Глутамін Серин	Тирозин	
Незамінні	Аргінін Гістидин Метіонін Треонін Валін	Ізолейцин Фенілаланін Триптофан	Лізин Лейцин

За полярністю радикалів амінокислоти поділяють таким чином:

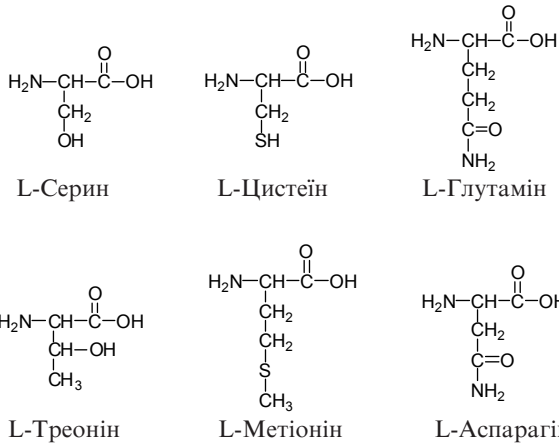
Позитивно заряджені R-групи



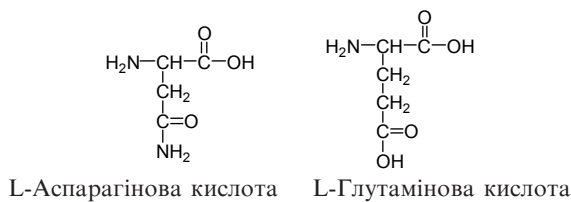
Ароматичні R-групи



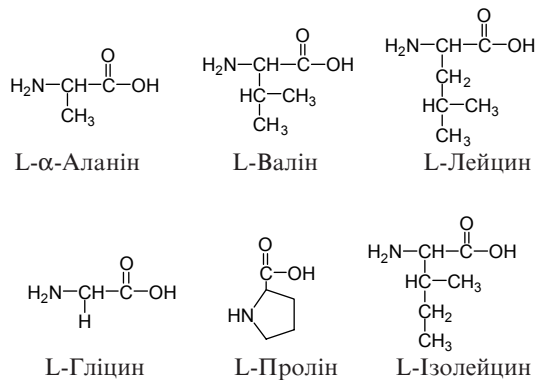
Полярні незаряджені R-групи



Негативно заряджені R-групи



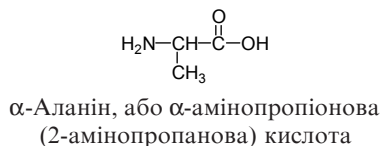
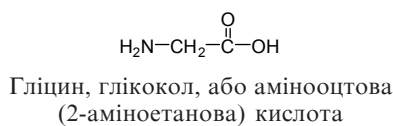
Неполярні R-групи



Амінокислоти, в яких кількість аміногруп більша за кількість карбоксильних, називають *основними* (наприклад лізин), а при надлишку карбоксильних груп — *кислими* (наприклад глутамінова кислота).

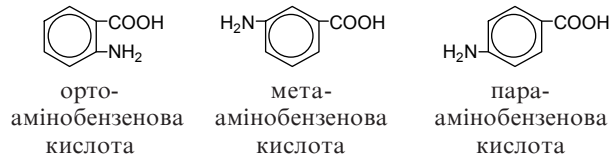
Назва амінокислоти за номенклатурою IUPAC складається з назви відповідної кислоти і префікса «аміно-» з означенням положення групи NH₂ в радикалі.

Наприклад,



Однак для амінокислот, які беруть участь у побудові білків, застосовують переважно тривіальні назви.

У назві ароматичних амінокислот як основоположник структури використовується бензенова кислота. Ароматичні амінокислоти існують у вигляді орто-, мета- і параізомерів:



Ізомерія амінокислот

Для амінокислот характерні структурна і просторова ізомерія. Структурна ізомерія зумовлена будовою вуглецевого ланцюга і положенням аміногрупи в радикалі. Оптична ізомерія пов'язана з тим, що в усіх амінокислотах є хіральний атом Карбону, зв'язаний з чотирма різними замісниками (рис. 2.4).

ІЗОМЕРІЯ АМІНОКИСЛОТ

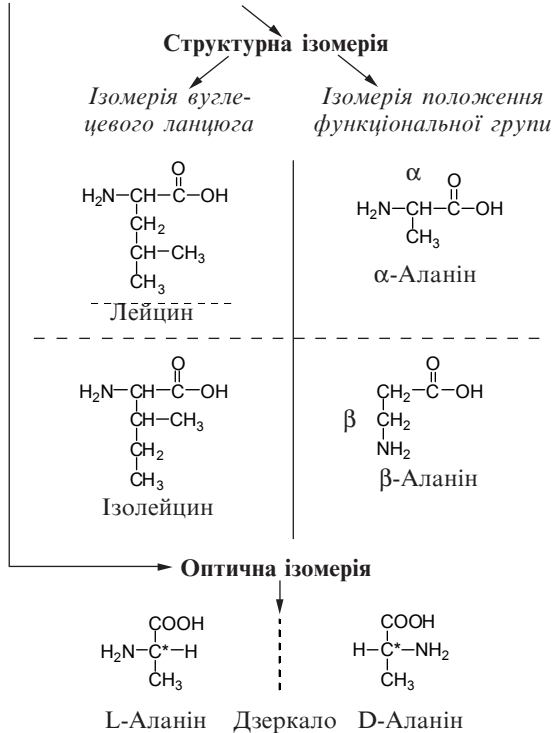


Рис. 2.4. Ізомерія амінокислот

Відносна конфігурація D- і L-амінокислот визначається, як і в гідроксициклот, за конфігураційним еталоном — гліцериновим альдегідом.

Майже всі природні α -амінокислоти, на відміну від вуглеводів, належать до L-ряду. α -Амінокислоти D-ряду іноді називають «неприродними», тому що вони не беруть участь у біосинтезі білків у організмі людини і тварин.

Амінокислоти, що належать до різних стереохімічних рядів, різняться за смаком. Амінокислоти D-ряду — гіркі або не мають смаку.

Фізичні властивості амінокислот

α -Амінокислоти — безбарвні кристалічні речовини з високою температурою плавлення (вище 200 °С), добре розчинні у воді, дуже слабо — в органічних розчинниках. Водні розчини одноосновних амінокислот мають рН=6,8. Висока температура плавлення, відсутність у спектрах ліній, характерних для карбоксильної та аміногруп, пояснюється їх своєрідною будовою.

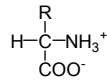
Хімічні властивості амінокислот

Амінокислоти як речовини, що мають дві функціональні групи, вступають у реакції за участю обох функціональних груп.

Реакції за участю груп $-NH_2$ і $-COOH$

1. Кислотно-основні властивості амінокислот

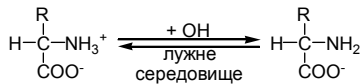
У кристалічному стані амінокислоти знаходяться не у вигляді недисоційованих молекул, а у формі біполярного іона (або цвітер-іона):



Біполярний іон
(або цвітер-іон) амінокислоти

У водних розчинах амінокислоти реагують як кислоти (донор протона) або як основа (акцептор протона), тобто виявляють амфотерні властивості.

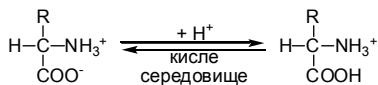
Так, у лужному середовищі амінокислоти реагують як кислоти, тобто від катіона амінокислоти відщеплюється іон Гідрогену (протон), нейтралізуючи при цьому ОН-групу луку:



Біполярний іон

Аніон

У кислому середовищі амінокислота реагує як основа. Акцептором протонів є аніон COO^- , який перетворюється на карбоксильну групу:



Біполярний іон

Катіон

У тих випадках, коли сумарний (або середній) електричний заряд амінокислоти дорівнює нулю, вона знаходиться в ізоелектричному стані. У такому стані амінокислота не переміщується в електричному полі ані до катода, ані до анода.

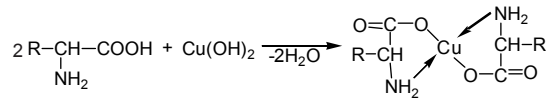
Заряд молекули амінокислоти залежить від рН середовища. Те значення рН, при якому молекула її знаходиться в ізоелектричному стані, називається *ізоелектричною точкою* амінокислоти.

Використання для побудови білків організму людини і тварин тільки одного виду стереоізомерів α -амінокислот, а саме енантіомерів L-ряду, має важливе значення для формування просто-

ривої структури білків і виявлення біологічної активності. З цим безпосередньо пов'язана стереоспецифічність дії ферментів.

Макромолекули ферментів також побудовані з L- α -амінокислот. У цілому вони є хіральними, тому вступають у взаємодію тільки з тими субстратами, які також мають певну конфігурацію.

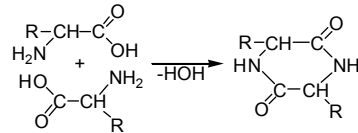
2. *Біфункціональність амінокислот* полягає в тому, що вони являють собою *комплексони*, тобто легко утворюють з катіонами важких металів забарвлені розчинні у воді внутрішньокомплексні сполуки:



Синій колір

3. *Термічні перетворення амінокислот* також пов'язані з участю обох функціональних груп (*in vitro*).

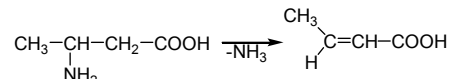
α -Амінокислоти утворюють дикетопіперазини (гетероциклічні аміди):



α -Амінокислота

Дикетопіперазин

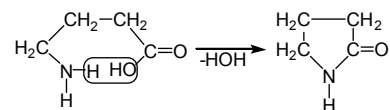
β -Амінокислоти відщеплюють аміак і утворюють ненасичену кислоту (можливе утворення її амонійної солі):



β -Аміноасляна кислота

Кротонова кислота

γ і δ -амінокислоти утворюють внутрішні аміди — *лактами*:

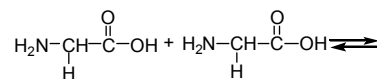


γ -Аміноасляна кислота

γ -Бутиролактан

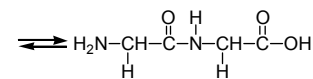
4. Утворення пептидів

Найважливішою властивістю амінокислот, що вимагає участі як $-NH_2$, так і $-COOH$ -групи, є їхня лінійна поліконденсація з відщепленням води й утворенням *амідного зв'язку*. Продукти такої реакції називають *пептидами*:



Гліцин

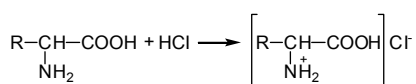
Гліцин



Гліцил-гліцин

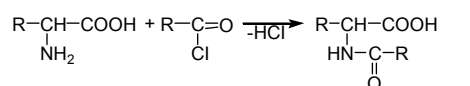
Реакції за аміногрупою

1. З мінеральними кислотами амінокислоти утворюють солі (*in vitro*):



α-Амінокислота Гідрохлорид амінокислоти

2. Утворення N-ацильних похідних (*in vitro*):

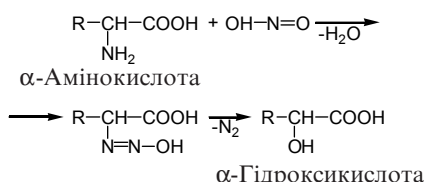


α-Амінокислота Хлорангідрид кислоти Захищена амінокислота

Ця реакція широко застосовується для «захисту» аміногрупи в синтезі пептидів. N-ацильні похідні легко гідролізуються з вивільненням вихідної α-амінокислоти.

3. Дезамінування амінокислот

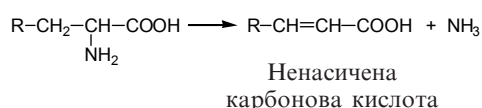
Поза організмом дезамінування відбувається під дією азотистої кислоти, в результаті чого утворюються гідроксикислота, азот і вода (*in vitro*):



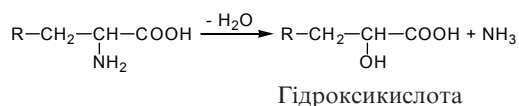
Вимірювання об'єму азоту, що виділився в цій реакції, лежить в основі кількісного визначення амінокислот (метод Ван-Слайка).

Можливі такі типи реакцій дезамінування амінокислот (відщеплення аміногрупи з утворенням аміаку):

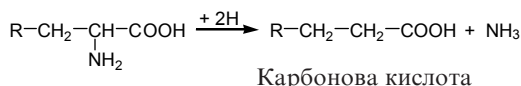
а) внутрішньомолекулярне дезамінування:



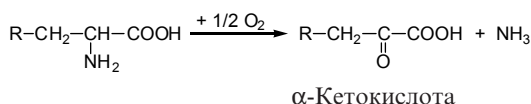
б) гідролітичне дезамінування:



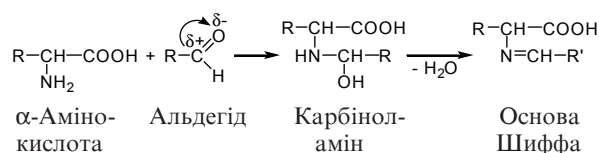
в) відновне дезамінування:



г) окиснювальне дезамінування:



4. Утворення основ Шиффа:

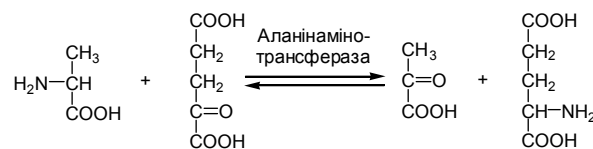


Реакція з формальдегідом лежить в основі кількісного визначення α-амінокислот методом *формального титрування* (метод Серенсена).

Амфотерний характер α-амінокислот не дозволяє безпосередньо робити титрування їх лугом в аналітичних цілях. При взаємодії α-амінокислоти з формальдегідом отримують відносно стійкі карбіноламіни, вільну карбоксильну групу яких потім титрують лугом.

5. Ряд найважливіших хімічних перетворень α-амінокислот відбувається в організмі під дією різних ферментів. Вони мають спільний механізм, зумовлений участю піридоксальфосфату (амінотрансферази, декарбоксилази амінокислот).

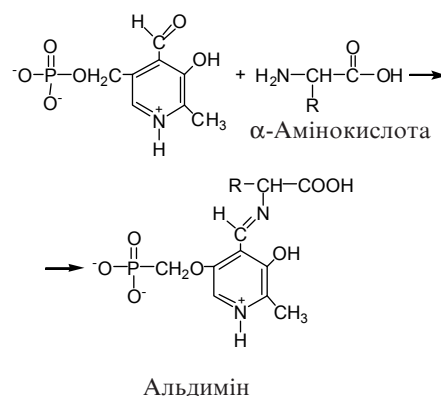
Реакція трансамінування — реакція перенесення аміногрупи -NH₂ від амінокислоти на α-кетокислоту з утворенням нової кетокислоти та нової амінокислоти.



α-Аланін α-Кетоглутарова кислота Піро-виноградна кислота L-Глутамінова кислота

Реакція трансамінування каталізується ферментами амінотрансферазами, коферментом яких є піридоксальфосфат.

α-Амінокислота і піридоксальфосфат утворюють альдимін (основа Шиффа) шляхом взаємодії альдегідної групи коферменту і аміногрупи α-амінокислоти за схемою:

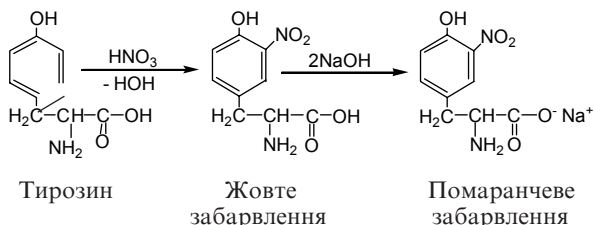


Піридоксальфосфат існує у вигляді дипольного іона. В альдиміні електронна густина спряженої системи зміщена до протонованого піридинового атома азоту, за рахунок чого виникає значна поляризація.

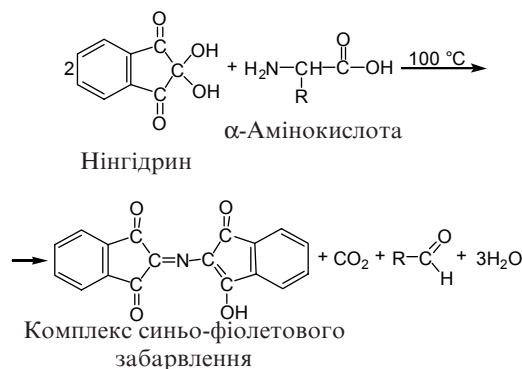
Залежно від того, який з цих трьох δ-зв'язків братиме участь у подальшій реакції (що визначається природою ферменту), з амінокислотою можуть відбуватися процеси трансамінування, декарбоксілювання та ін.

Якісні реакції на виявлення α-амінокислот

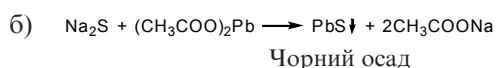
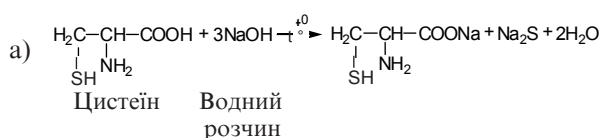
1. *Ксантопротеїнова реакція* на виявлення ароматичних і гетероциклічних α-амінокислот (фенілаланін, тирозин, гістидин, триптофан):



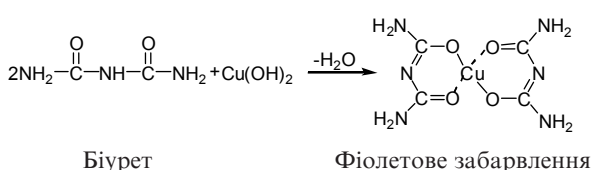
2. *Нінгідрінова реакція* на виявлення α-амінокислот у складі білкових гідролізатів після їх хроматографічного поділу, що використовується в аналізі первинної структури білків і пептидів:



3. *Реакція Фолья* — проба на сірковмісні амінокислоти (сульфгідрильна проба). При кип'ятінні розчину білка або відповідних амінокислот із лугом у присутності плумбіту натрію утворюється чорно-бурий осад сульфиду свинцю.



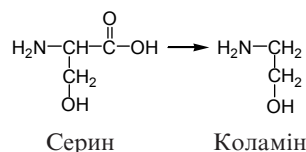
4. *Біуретова реакція*. Білки і пептиди, що містять не менше як два пептидних зв'язки, з сульфатом міді в лужному середовищі утворюють сполуки, забарвлені у фіолетовий колір:



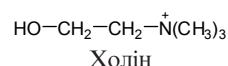
Аміноспирти

Аміноспирти — це похідні вуглеводнів, у яких атоми Гідрогену заміщені аміногрупою і спиртовим гідроксилом.

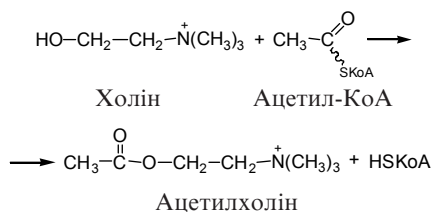
Колагін утворюється з амінокислоти серину:



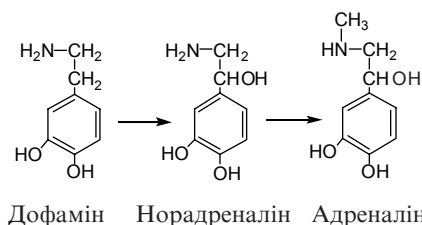
Аміноспирти колагін і холін використовуються в живих організмах для біосинтезу фосфоліпідів, нейромедіаторів. Колагін бере участь в утворенні *холіну*:



Складний ефір, утворений холіном і ацетил-КоА (активною формою оцтової кислоти) — ацетилхолін (нейромедіатор) — бере участь у передаванні нервових імпульсів:



Представниками аміноспиртів є *норадреналін* і *адреналін* (катехоламіни), які мають властивості як гормонів, так і медіаторів нервової системи:



Вони синтезуються в хромафінних клітинах мозкового шару надниркових залоз, структурах нервової системи.

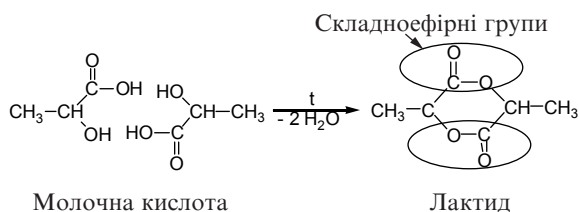
Дофамін виконує важливі фізіологічні функції в організмі людини. Зниження вмісту дофаміну спостерігається при хворобі Паркінсона.

Хімічні властивості і біологічне значення гідроксикислот

Гідроксикислоти містять у молекулі водночас карбоксильну та гідроксильну групи.

Аліфатичні гідроксикарбонові кислоти виявляють властивості, характерні як для карбонових кислот, так і для спиртів. Крім того, у них з'являється ряд специфічних властивостей, при нагріванні вони піддаються різним перетворенням.

Молочна кислота (2-гідроксипропанова кислота):



Молочна кислота при нагріванні вступає в реакцію естерифікації, що відбувається між двома молекулами, тобто *міжмолекулярно*. Утворюється циклічний ефір — *лактид*, що містить дві складноефірні групи.

Молочна кислота містить один хіральний атом Карбону, тому існує у вигляді пари енантіомерів:



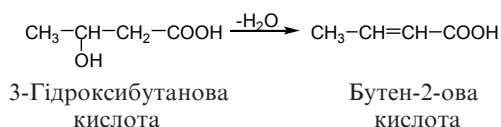
Правообертаюча L-молочна кислота утворюється в живих організмах у результаті розщеплення глюкози (анаеробний гліколіз). Особливо багато її накопичується в м'язах при значних фізичних навантаженнях.

Солі та ефіри молочної кислоти називаються *лактатами* (від лат. *lactis* — молоко). Лактати Кальцію та Феруму (II) застосовують у медицині.

γ-Гідроксимаєляна кислота (γ-гідроксикислота) вже при кімнатній температурі легко вступає в реакцію естерифікації. При цьому складний ефір утворюється за рахунок взаємодії між гідроксильною та карбоксильною групами однієї й тієї ж молекули, тобто *внутрішньомолекулярно*. Складний ефір, що при цьому утворюється, містить одну складноефірну групу. Така сполука називається *лактоном*.



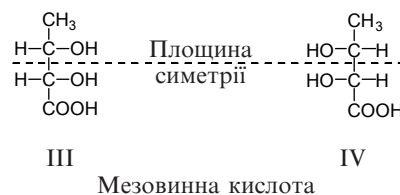
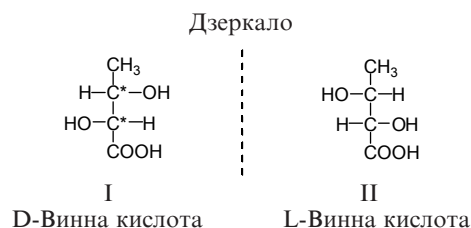
3-Гідроксибутанова кислота (β-гідроксикислота) при нагріванні вступає в реакцію дегідратації з утворенням α,β-ненасичених карбонових кислот:



Яблучна (гідроксибутанова) кислота містить один хіральний атом Карбону, тому можливе існування її у вигляді пари енантіомерів. У природі зустрічається L-яблучна кислота, яка міститься в ягодах і фруктах; це один із продуктів розпаду вуглеводів у живих організмах.



Винна (2,3-дигідроксибутанова) кислота містить два центри хіральності. Теоретично вона повинна існувати у вигляді чотирьох стереоізомерів I–IV.



Формули I і II відповідають *енантіомерним* D- і L-винним кислотам (віднесення до D- і L-стереохімічного ряду проводиться по «верхньому» центру хіральності). Формули III і IV — це формули тієї ж самої сполуки. При повороті проєкційної формули IV на 180° без виведення з площини вона перетворюється на формулу III, що свідчить про їхню рівнозначність. Формули III і IV відповідають одній сполуці — оптично неактивній мезовинній кислоті. Молекула *мезовинної кислоти* є *ахіральною*, тому що має площину симетрії, незважаючи на наявність двох асиметричних атомів Карбону. Мезовинна кислота по відношенню як до D-, так і L-винної кислоти є *діастереомером*.

Отже, винна кислота існує у вигляді трьох стереоізомерів. Крім того, відомий *рацемат* — суміш рівних кількостей D- і L-винної кислоти, яка називається *виноградною кислотою*.

У природі зустрічається D-винна кислота, що міститься у багатьох рослинах, особливо її багато у винограді. Виділяється у вигляді малорозчинної кислоти калієвої солі («винний камінь») у процесі бродіння виноградного соку. Солі та складні ефіри винної кислоти називають *тартратами*. Змішаний калієво-натрієвий тартрат — сегнетова сіль — при взаємодії з гідроксидом міді (II) у лужному середовищі утворює комплексну сполуку яскраво-синього кольору — *реактив Фелінга*.

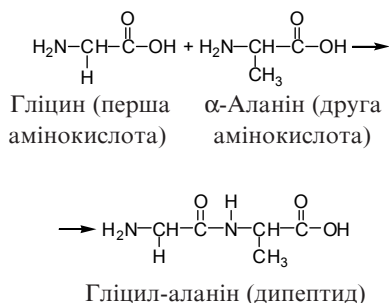
Пептиди

Пептиди отримують при взаємодії карбоксильної групи однієї амінокислоти (перша амі-

нокислота) та аміногрупи другої амінокислоти (друга амінокислота) з утворенням пептидного зв'язку:



Наприклад, при взаємодії гліцину та α -аланіну утворюється дипептид гліцил-аланін, який має пептидний зв'язок:

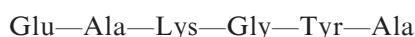


Пептид складається з двох або більше амінокислотних залишків, з'єднаних пептидними зв'язками.

Пептиди, що мають більше 10 амінокислотних залишків, називають поліпептидами.

Структуру пептиду прийнято позначати так, щоб *N-кінцевий залишок* (який містить вільну аміногрупу) розміщувався ліворуч, а *C-кінцевий залишок* (з вільною карбоксильною групою) — праворуч.

Лінійна послідовність амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі називається *первинною структурою пептиду*. При найменуванні пептиду його розглядають як похідне C-кінцевого амінокислотного залишку. Якщо первинна структура пептиду відома, то трілітерні позначення амінокислотних залишків з'єднують рисками:



Більшість природних поліпептидних ланцюгів містить від 50 до 2000 амінокислотних залишків. Молекулярна вага більшості поліпептидних ланцюгів — від 500 до 220 000. Вагу білків позначають у дальтонах (Да). Білки з молекулярною вагою 50 000 мають вагу 50 000 дальтон, або 50 кДа (кілодальтон).

Умовною різницею між поліпептидами та білками вважається молекулярна вага й здатність до діалізу. Поліпептиди мають молекулярну вагу до 5000 Да і здатні до діалізу, а білки — більше 5000 Да і не здатні до діалізу.

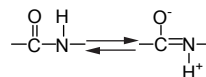
Рівні структури молекул білка

Розрізняють чотири рівні структури (структурної організації) білкової молекули.

I. Первинна структура молекули білка — це послідовне розміщення амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі. Зв'язок, стабілізуючий первинну структуру, — це пептидний зв'язок.

Жорсткість пептидного зв'язку

У структурних формулах пептидів зв'язок між атомами Карбону карбоксильної групи й атомами Нітрогену показується як одинарний, але він має характер часткового подвійного зв'язку. Вільне обертання навколо нього неможливе, і всі чотири атоми лежать в одній площині.



Обертання ж навколо інших зв'язків, навпаки, досить вільне (рентгеноструктурні дослідження пептидів свідчать про жорсткість і плоску конфігурацію пептидних груп).

II. Вторинна структура білка — просторове розміщення, тобто конформація сусідніх амінокислотних залишків поліпептидного ланцюга у просторі.

До вторинної структури належать α -спіраль і β -структура («складчастий лист»), β -згин (β -bend), нерегулярна структура (неупорядкований клубок), надвторинна структура.

α -Спіраль — найпростіша форма поліпептидного ланцюга, що містить жорсткі поліпептидні зв'язки (при тому, що навколо решти зв'язків свобода обертання зберігається).

У цій структурі поліпептидний остов утворює витки навколо довгої осі молекули.

Закручування поліпептидного ланцюга в α -спіралі відбувається за годинниковою стрілкою, що зумовлено α -амінокислотними залишками. На кожний виток спіралі припадає 3,6 амінокислотного залишку, крок спіралі (відстань на протязі осі) = 0,54 нм, на один амінокислотний залишок — 0,15 нм. Кут підйому спіралі = 26° ; через кожні 5 витків спіралі (18 амінокислотних залишки) структурна конформація поліпептидного ланцюга повторюється. Стабільність α -спіралі забезпечується переважно великою кількістю водневих зв'язків.

1. α -Спіраль стабілізується водневими зв'язками між атомами Гідрогену, зв'язками з атомами Нітрогену пептидної групи та карбонільним Оксигеном, що відстає від даного на протязі ланцюга на чотири позиції.

2. В утворенні водневого зв'язку беруть участь усі пептидні групи. Це забезпечує максимальну стабільність α -спіралі.

3. В утворення водневих зв'язків залучені всі атоми Нітрогену й Оксигену пептидних груп, що значною мірою знижує гідрофільність α -спіралі та збільшує її гідрофобність.

4. α -Спіраль утворюється самостійно та є найстійкішою конформацією поліпептидного ланцюга, що відповідає мінімуму вільної енергії.

5. У білках, побудованих з L-амінокислот, права спіраль набагато стабільніша за ліву.

Деякі амінокислоти запобігають скручуванню ланцюга в α -спіраль, в місці їх розміщення безперервність α -спіралі порушується. До таких амінокислот належать *пролін* (у ньому атом Нітрогену служить частиною жорсткого кільця, і обертання навколо пептидного зв'язку стає не-

можливим). Крім того, амінокислоти із зарядженими або об'ємними R-групами електростатично або механічно запобігають формуванню α -спіралі.

Отже, ми маємо чотири типи запобігань просторовій конформації поліпептидного ланцюга:

1. Жорсткість і транс-конфігурація пептидних зв'язків.

2. Електростатичне відштовхування (або притягнення) амінокислотних залишків, які містять заряджені R-групи.

3. Близьке розміщення в ланцюгу громіздких R-груп.

4. Наявність у поліпептидному ланцюзі залишків проліну.

Для кожного білка характерний певний тип спіралізації його поліпептидного ланцюга, α -спіральний тип структури мають глобулярні білки.

β -Структура — другий тип структури, виявлений у ряді фібрилярних білків. У цьому випадку два або більше лінійних поліпептидних ланцюги зв'язуються між собою водневими зв'язками, утворюючи структуру типу складчастого листа, тобто водневі зв'язки міжланцюгові, але не внутрішньоланцюгові, як у α -структурі. У результаті цього радикали амінокислот розміщені над і під площиною складчастого шару, стабільність вторинної структури в основному забезпечується водневими зв'язками, але певне значення в цьому мають і ковалентні, пептидні та дисульфідні зв'язки.

Існує різниця між α - та β -кератинами (α -спіраль і β -складчастий шар). У тих випадках, коли сусідні поліпептидні ланцюги складчастого β -шару йдуть у протилежних напрямках (від N- до C-кінця або від C- до N-кінця), то структуру називають *антипаралельним* складчастим β -шаром. Якщо сусідні ланцюги йдуть в одному напрямку, структуру α -кератину називають *паралельною*.

У формуванні таких структур беруть участь від двох до п'яти сусідніх поліпептидних ланцюгів: β -структура може утворюватися тільки за наявності в складі поліпептиду відповідних амінокислот, розміщених у певній послідовності; R-групи амінокислотних залишків повинні мати порівняно невеликі розміри (гліцин, α -аланін).

α -Вигин (від англ. *β -bends*, або *reverse, turns* — зворотний поворот) у поліпептидному ланцюзі сприяє утворенню компактної, глобулярної форми білка. β -Вигини звичайно утворюються на початку білкової молекули. Назва « β -вигин» пов'язана з антипаралельними β -структурами, що слідують одна за одною. Ця композиція звичайно складається з 4 амінокислот, одна з яких (пролін) — причина «петлі» (вигину). У поліпептидному ланцюзі для β -вигину також необхідний гліцин. Структура β -вигину стабілізована за рахунок водневих та іонних зв'язків.

Супервторинні структури

Глобулярні білки скручуються за допомогою комбінації структурних елементів (α -спіраль,

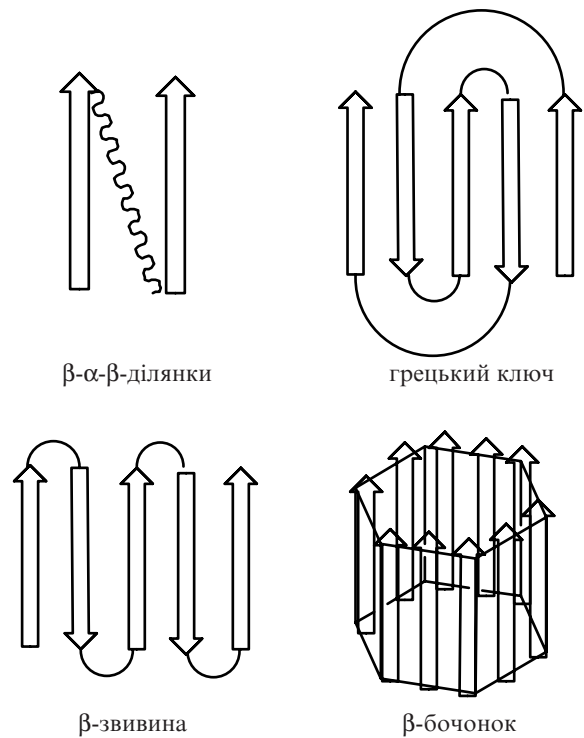


Рис. 2.5. Основні типи вторинних структур

β -структура, послідовності, що не повторюються). Вони формують серцевину, пов'язану з ділянками петель (наприклад β -вигин) на зовнішній стороні білка. Основні типи вторинних структур (*motifs* — напрямки) представлені на рис. 2.5.

III. Третинна структура

Третинна структура — це спосіб укладання поліпептидного ланцюга в певному об'ємі (інша назва — конформація білкової субодиниці в цілому; тримірна структура білка).

Первинна структура поліпептидного ланцюга визначає її третинну структуру (термін «третинний» означає укладання доменів — основної структурної та функціональної одиниці — і остаточно укладання доменів поліпептиду).

Домен — основна функціональна та просторова структурна одиниця поліпептиду. Поліпептидний ланцюг, який має значно більше 200 амінокислот за довжиною, складається з двох або більше доменів. **Ядро домену** побудоване з комбінації *супервторинних структурних елементів (мотивів)*. Укладання поліпептидного ланцюга в домен звичайно здійснюється незалежно від укладання (фолдингу) інших доменів. Тому кожний домен — маленький компактний глобулярний білок, що структурно не залежить від інших доменів у поліпептидному ланцюзі.

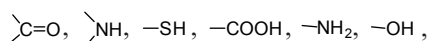
Взаємодії, що стабілізують третинну структуру

Третинна структура кожного поліпептиду визначається його амінокислотною послідовністю. Взаємодії між амінокислотами ланцюга — причина укладання поліпептидного ланцюга з утворенням компактної структури.

Стабільність тривимірної структури забезпечують усі можливі типи зв'язків (дисульфідні, водневі, гідрофобні, іонні). Рушійною силою виникнення тривимірної структури є взаємодія радикалів амінокислот із молекулами води. Гідрофобні радикали амінокислот ніби вдаються всередину білкової молекули. Гідрофільні групи виявляються орієнтованими у бік води. В якийсь момент виникає термодинамічно найвигідніша конформація в ланцюзі, яка стабілізується. У такій формі молекула білка має мінімальну вільну енергію. Отже, в утворенні певної тривимірної структури важливу роль відіграють гідрофобні зв'язки і жорсткість пептидного зв'язку.

Гідрофобний зв'язок

Молекула білка містить гідрофільні групи:



а також гідрофобні: метильні ($-\text{CH}_3$), етильні ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$), фенільні ($-\text{C}_6\text{H}_5$) та ін. У воді гідрофобні групи переміщуються до внутрішньої частини молекули білка, спричинюючи цим згортання поліпептидного ланцюга.

Отже, гідрофобний зв'язок утворюється в результаті зближення гідрофобних радикалів амінокислот (рис. 2.6).

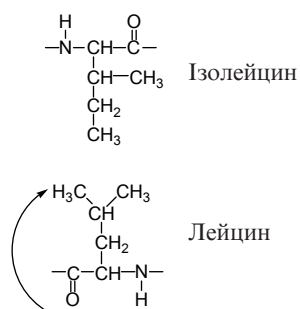


Рис. 2.6. Гідрофобна взаємодія між амінокислотами з неполярними радикалами

Цей вид зв'язку має важливе значення у формуванні певної третинної структури білкової молекули.

Іонний зв'язок (сольовий, електровалентний)

Молекули білка мають залишки моноамінодикарбонових кислот (аспарагінова та глутамінова), у яких є вільні карбоксильні групи у вигляді аніона $-\text{COO}^-$, та діаміномонакарбонових кислот (аргінін і лізин) із вільними аміногрупами у вигляді катіона $-\text{NH}_3^+$ (рис. 2.7).

Аніони та катіони, як протилежно заряджені, притягаються, утворюючи іонні зв'язки. Вони можуть з'єднувати витки одного або різних ланцюгів, тобто утворювати внутрішньоланцюгові та міжланцюгові зв'язки.

Водневі зв'язки

Виникають у результаті електростатичного притягання між позитивно зарядженим атомом

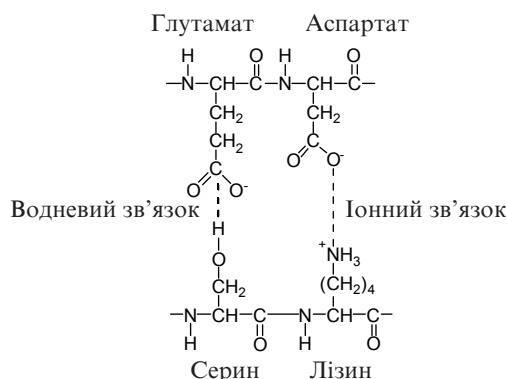


Рис. 2.7. Взаємодія амінокислот за допомогою водневих та іонних зв'язків

Гідрогену, ковалентно зв'язаним з атомом Нітрогену або Оксигену, та негативно зарядженим атомом Оксигену. Позитивно заряджений атом Гідрогену входить в аміногрупу пептидного зв'язку білкової молекули (>N-H), аміногрупу ($-\text{NH}_2$) діамінокарбонових амінокислот і гідроксильну групу ($-\text{OH}$) залишків амінокислот серину, треоніну та ін. Негативно заряджений атом Оксигену входить до складу карбонільної групи пептидного зв'язку (>C=O), гідроксильної групи карбоксилу ($-\text{COOH}$) (див. рис. 2.7).

Дисульфідний зв'язок (цистиновий)

Він утворюється в результаті відщеплення двох атомів Гідрогену від сульфгідрильних груп двох залишків амінокислоти цистеїну (рис. 2.8):



Рис. 2.8. Дисульфідний зв'язок

Дисульфідні зв'язки можуть бути як внутрішньо-, так і міжланцюговими.

Внутрішньоланцюгові зв'язки утворюються в межах одного поліпептидного ланцюга, що спричинює утворення та закріплення певних згинів і спіралей у поліпептидному ланцюгу.

Міжланцюгові дисульфідні зв'язки утворюються між залишками цистеїну двох поліпептидних ланцюгів, тобто з'єднуються між собою різні поліпептидні ланцюги.

Третинну структуру називають ще конформацією, оскільки будь-який вплив (фізичний, хімічний), що призводить до порушення цієї конформації молекули, супроводжується частковою або повною втратою білком його біологічних властивостей.

Різновидами третинної структури білкових молекул є глобулярна та фібрилярна структури. У глобулярній структурі переважають α -спіралі, а в фібрилярній — β -структури.

IV. Четвертинна структура

Четвертинна структура білкової молекули — це спосіб укладання та об'єднання кількох білкових частинок із третинною структурою (субодиниць) у макромолекулу білка.

Субодиниці в четвертинній структурі зв'язані між собою переважно водневими зв'язками. При додаванні до розчину гемоглобіну сечовини або солей його молекула в результаті розриву водневих зв'язків зворотно дисоціює (розпадається) на два α - та два β -ланцюги. Після видалення солей або сечовини автоматично відбувається асоціація (з'єднання) чотирьох субодиниць у початкову молекулу гемоглобіну.

Фермент фосфорилаза складається з двох ідентичних субодиниць, кожна з яких має по два поліпептидних ланцюги, тобто молекула фосфорилази є тетрамером. Окремі субодиниці цього ферменту не мають ферментативної активності.

Наявність усіх чотирьох рівнів структурної організації необов'язкова для кожного білка. Обов'язковою структурою для всіх білків є первинна структура. Багато біологічно активних білків (наприклад ферменти) мають третинну структуру, оскільки саме на цьому рівні структурної організації формуються активні центри, що характеризуються специфічністю дії ферментів.

Фізико-хімічні властивості білків

1. Молекулярна маса білків. Молекули білків мають певну форму, розміри й молекулярну масу. Відомі дві основні форми білкових молекул:

- *глобулярні білки* (куляста форма);
- *фібрилярні білки* (сильно видовжена форма).

Форма білкової молекули змінюється під впливом таких факторів: рН, природа розчинника, концентрація розчину, температура.

Розміри білкових молекул визначаються в трьох вимірах.

Молекулярна маса білків вимірюється в дальтонах (Да).

1 Да відповідає уніфікованій одиниці відносної атомної маси (1 Да = 1 а. о. м. = $1,66 \cdot 10^{-27}$ кг).

Молекулярну масу білків визначають різними методами:

- осмометричним;
- електрофоретичним;
- ультрафільтраційним;
- віскозиметричним та ін.

Використання ультрацентрифуг дає змогу розділяти частинки з різною молекулярною масою за допомогою осадження (седиментації) білків.

Швидкість осадження молекул залежить від розмірів, форми та маси частинок і характеризується коефіцієнтом седиментації (S), який збільшується зі зростанням молекулярної маси.

Седиментаційний аналіз використовують для визначення молекулярної маси білків за рівнянням Сведберга:

$$M = \frac{SRT}{D(1 - \nu\rho)},$$

- де M — молекулярна маса білка;
R — газова стала;
T — абсолютна температура, К;
S — коефіцієнт седиментації;
 ρ — густина розчинника;
 ν — парціальний питомий об'єм білка;
D — коефіцієнт дифузії.

Визначати молекулярну масу білків за *осмотичним тиском* можна для гомогенних білків у стані ізоелектричної точки (оскільки концентрація електролітів у розчині впливає на осмотичний тиск), тому що молекулярна маса білка тим вище, чим нижче осмотичний тиск його розчину:

$$PV = \frac{gRT}{M},$$

- де P — осмотичний тиск;
V — об'єм розчину білка;
g — маса білка.

Метод *гель-фільтрації* дозволяє оцінити гомогенність білка за розмірами, а також розділити білки з різними молекулярними масами.

При *гель-електрофорезі* розчину білків у присутності детергента (додецилсульфату натрію) швидкість міграції білків R_f пропорційна логарифму молекулярної маси білка.

Електрофорез — це рух заряджених частинок дисперсної фази у полі постійного електричного струму до одного з електродів. Електрофоретична рухливість частинок залежить від заряду молекули, в'язкості середовища, розмірів молекул, їх молекулярної маси. Тому методи електрофорезу застосовують для визначення молекулярної маси білків.

2. Кислотно-основні властивості білків

Розміщені на кінцях поліпептидного ланцюга вільна аміногрупа та карбоксильна група значно впливають на ці властивості. Завдяки наявності вільних NH_2 -груп залишків діамінокарбонових кислот і вільних COOH -груп залишків моноамінодикарбонових кислот білки, як і амінокислоти, виявляють усі властивості кислот та основ, тобто мають амфотерні властивості. Заряд білкової молекули виникає при іонізації функціональних груп залишків амінокислот.

Залежно від рН середовища та відношення кислих і основних амінокислот у структурі білка, білки в розчині мають *позитивний* або *негативний* заряд. У тих випадках, коли (+) та (–) електричні заряди білкової молекули врівноважуються і заряд її дорівнює нулю (як у цвітер-іоні), білок знаходиться в ізоелектричному стані. Те значення рН розчину, при якому білок знаходиться в ізоелектричному стані, називається ізоелектрич-

ною точкою білка (pI). Для більшості білків ізoeлектрична точка знаходиться в межах рН=5,5–7,0, що свідчить про часткове переважання в складі білків кислих амінокислот. Але такий білок, як пепсин, має рН=1,0. В ізoeлектричній точці білки малостійкі, легко випадають в осад, не переміщуються в електричному полі. Більшість природних білків є кислими, вони містять значну кількість дикарбонових кислот.

3. Гідрофільність білків

Розрізняють два основних фактори стабілізації білків у розчині: наявність заряду та гідратної оболонки. У молекулі білка є гідрофільні групи $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ (здатні до дисоціації), які притягують молекули води. У результаті цього навколо молекули білка утворюється гідратна оболонка, яка є другим фактором, що забезпечує стійкість розчинів білка. В ізoeлектричній точці розчинність білків мінімальна. Найменшу гідратну оболонку білки мають в ізoeлектричному стані. Необхідно відмітити, що гідратна оболонка, яка оточує білкову молекулу, може бути не суцільною. Наприклад, білки-ферменти мають невеликі гідрофобні (негідратовані) ділянки для зв'язування білка з іншими молекулами (субстратами, коферментами). Для осадження білків у розчині необхідно змінити електричний заряд їхніх частинок і зруйнувати гідратну оболонку:

— **рН**: зсув рН у будь-який бік від pI (ізoeлектрична точка) спричинює виникнення заряду, що підвищує розчинність білка;

— **температура**: для більшості білків розчинність підвищується з підвищенням температури до межі, що викликає денатурацію білка. Разом із тим, існують білки, розчинність яких знижується з підвищенням температури (гемоглобін, альдолаза);

— **іонна сила розчину** залежить від концентрації та заряду розчинних у ньому солей. Нейтральні солі у низьких концентраціях (іонна сила розчину невисока) підвищують розчинність білків за рахунок взаємодії іонів із полярними групами білка. При цьому руйнуються іонні зв'язки між окремими макромолекулами і розчинність білків підвищується. При високій концентрації іонів останні взаємодіють із гідратною оболонкою білкової молекули, руйнують її і білки випадають в осад (осаджуються).

4. Набухання білків — процес проникнення молекул розчинника між молекулами високомолекулярних сполук, що супроводжується значним збільшенням об'єму та маси полімеру. На ступінь набухання впливають такі фактори: температура, тиск, рН середовища, природа розчинника. Зміна рН у кислий або лужний бік від ізoeлектричної точки приводить до зростання ступеня набухання. рН знижується при укусі людини бджолами, комахами, тому тканина набрякає за рахунок рідини сусідніх ділянок.

5. Осадження білків (перехід білків із розчину в осад). Розрізняють оборотне та необоротне (денатурація) осадження білків. *Оборотне осаджен-*

ня використовують на практиці для виділення нативних білків, його проводять високими концентраціями солей електролітів для зняття заряду частинки (висолювання) та спиртом і ацетонном, для руйнування гідратної оболонки за схемою Кройта (рис. 2.9). Послідовність цих операцій суттєва для процесу осадження:

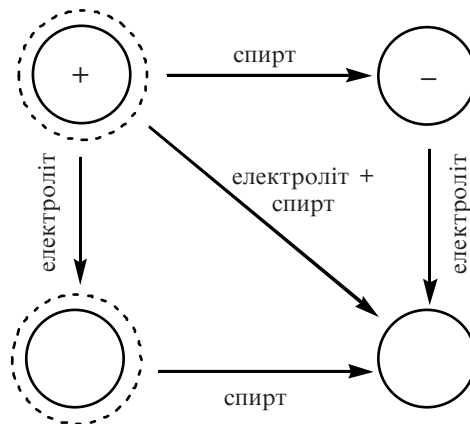
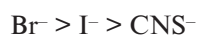


Рис. 2.9. Схема Кройта — осадження гідрофільних частинок

Ступінь осадження білків солями лужних і лужно-земельних металів залежить від радіуса та заряду іонів, їх здатності до гідrataції: чим більше потрібно води для гідrataції іона, тим менше води залишається для розчинення і тим краще відбувається висолювання. За осаджувальною здатністю іони розміщені в ряди, які називають ліотропними рядами катіонів і аніонів (рядами Гофмейстера):



ступінь гідrataції іонів зменшується
осаджувальна дія іонів зменшується

Коагуляція (від лат. *coagulation* — згортання, затвердіння) — поділ колоїдного розчину на дві фази.

Коагулювальна дія електролітів підпорядковується правилу *Шульце — Гарді*: коагуляцію спричинюють іони із зарядом, протилежним заряду гранули, і коагулювальна можливість тим вища, чим вищий заряд коагулюючого іона. При введенні в організм якого-небудь електроліту слід враховувати не тільки його концентрацію, а й заряд іона. Так, фізіологічний розчин хлориду натрію (NaCl) не можна замінити ізотонічним розчином MgCl_2 , оскільки Mg^{2+} має високу коагулюючу дію.

6. Денатурація. При нагріванні розчинів білків вище 50–60 °С, при додаванні до них солей важких металів (Cu , Pb , Ag , Hg та ін.), силь-

них кислот (H_2SO_4 , HNO_3 , сульфасаліцилової кислоти) відбувається руйнування всіх хімічних зв'язків у молекулі білка, крім пептидних зв'язків. Це призводить до втрати вторинних, третинних структур білка (але зберігається первинна структура), різкого зниження або повної втрати білком його біологічної функції (ферментативної, гормональної і т. ін.) — цей процес дістав назву *денатурація білків*. При недовготривалій дії та швидкому припиненні дії денатуруючого агента можлива ренатурація білка з повним відновленням його структури та функцій. При додаванні до розчинів білків солей лужних металів (наприклад $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) відбувається руйнування тільки однієї гідратної оболонки, що оточує білкову молекулу. При цьому іони лужних металів утворюють свої гідратні оболонки за рахунок гідратних оболонок білків (відбираючи у них воду). У результаті втрати одного з факторів стійкості розчинів білків молекули їх об'єднуються і випадають в осад. Процес осадження білків з їх розчинів за допомогою солей лужних металів дістав назву *висолювання білків*.

Висолювання — осадження нативних білків солями електролітів.

Після видалення з розчину білків солей лужних металів осад білка розчиняється.

Різні білки висолюються при різній концентрації солей лужних металів, тому цей метод використовують при фракціонуванні білків. Спочатку отримують аморфний осад, потім осад набуває форми кристалів. Так отримують кристалічні білкові препарати, необхідні для вивчення білків і практичного їх використання. У кристалічній формі отримано багато різних білків (пепсин, α -амілаза, уреаза).

7. Буферні властивості білків Буферними називають розчини, які здатні зберігати значення рН при розведенні або при додаванні невеликих кількостей кислоти або лугу. Здатність білків взаємодіяти як із кислотами, так і з лугами (амфотерність) визначає їх *буферні властивості*. Одним із важливих факторів гомеостазу організму є кислотно-основний стан. Реакція внутрішнього середовища організму визначається концентрацією в ньому водневих іонів. рН крові коливається у межах 7,36 і підтримується буферними системами, однією з них є *білкова буферна система*.

8. Колоїдні властивості білків. Білки належать до високомолекулярних сполук, що мають молекулярну масу 5000–1 000 000 та більше. Через великі розміри молекул розчини білків утворюють один із різновидів розчинів — *колоїдні розчини*. Для них характерно те, що розчинені молекули (білкові молекули) не проходять через напівпроникні мембрани (штучні або клітинні). Ці властивості колоїдних розчинів використовують для очищення білків від низькомолекулярних сполук, молекули яких проходять через напівпроникні мембрани. Цей метод очищення білків від низькомолекулярних сполук дістав назву *діалізу*. Оскільки однійменно заряджені молекули білка відштовхуються одна від одної, то заряд молекули білка має важливе значення для стій-

кості колоїдних розчинів білка, тобто електричний заряд молекули є одним із факторів, що забезпечує стійкість колоїдних розчинів білків. Розчини білків виявляють деякі властивості *колоїдних розчинів*: осмотичні, електрокінетичні, оптичні та ін.

Осмотичні властивості. Одностороння дифузія молекул розчинника через напівпроникну мембрану у більш концентрований розчин називається *осмосом* (від грецьк. *osmos* — тиск). Тиск, необхідний для запобігання проходження потоку розчинника крізь напівпроникну мембрану, називається *осмотичним тиском*. Осмотичний тиск крові — 7,7 атм.; 0,03–0,04 атм. загального осмотичного тиску крові забезпечується білками. Ця частина осмотичного тиску називається *онкотичним тиском* (від грецьк. *onkos* — надувати). Основне завдання осморегуляції виконують *нирки*. Осмотичний тиск сечі в нормі вищий, ніж плазми крові, що й забезпечує активний транспорт із крові в нирку. Осморегуляція здійснюється під контролем ферментативних систем.

Усі розчини, що вводяться як кровозамінники, мають такий самий осмотичний тиск, як у крові, — 7,7 атм. (*ізотонічні розчини*).

Класифікація білків

За формою молекули (просторової структури, конформації) білки поділяють на дві групи:

1. Глобулярні.
2. Фібрилярні.

Глобулярні білки мають форму молекули, близьку до кулеподібної (від грецьк. *globulus* — куля). До них належать альбуміни та глобуліни сироватки крові й інші білки.

Фібрилярні білки мають ниткоподібну (фібрилярну, від лат. *fibrilla* — волокно) форму молекули. Довжина молекули таких білків у сотні тисяч раз більша за їх діаметр. До фібрилярних білків належать кератин, міозин і т. ін.

За хімічною природою білки поділяють на **прості та складні**.

Прості

Глобуліни

До глобулінів належать такі білки, як антитіла, фібриноген та ін. Глобуліни сироватки крові методом електрофорезу розділяють на α_1 -, α_2 -, β -, γ -фракції, тимчасом як альбуміни при електрофорезі на папері є гомогенними білками.

α_1 -фракція глобулінів — це глобуліни, зв'язані з білірубіном або ліпідами (ліпопротеїни).

α_2 -глобуліни — це глобуліни, зв'язані з вуглеводами (глікопротеїни) — наприклад гаптоглобін.

β -глобуліни — до цієї фракції глобулінів входять церулоплазмін (транспортна форма міді), трансферин (транспортна форма заліза), фібриноген, а також ліпопротеїни.

γ -глобуліни — це переважно різноманітні антитіла. На відміну від альбумінів, у глобулінах міститься значно більше амінокислоти гліцину (3–4%), вони не розчинні у воді, висолюються із розчинів при 30–50%-му насиченні їх сульфатом амонію.

Молекулярна маса глобулінів дорівнює близько 160–180 тис. Да, тобто значно більше, ніж у альбумінів.

Протаміни та гістони

Ці білки входять до складу нуклеопротейінів ядра клітини. Молекулярна маса протамінів становить 4000–5000 Да; гістонів — 10 000–20 000 Да. До складу цих білків входить велика кількість діамінокарбонових кислот, тому вони виявляють властивості основ і називаються ще катіонними. Так, до складу протамінів входить 30–50 % аргініну, до складу гістонів — 20–30 % аргініну та лізину.

Проламіни та глутаміни

Ці білки належать до білків рослинного походження і складають основну масу клейковини. В їхньому складі значна кількість глутамінової кислоти та проліну.

Склеропротейіни (альбуміноїди)

До них належать кератини — білки шкіри, колагени — білки сполучної тканини та ін. Ці білки малорозчинні у воді, майже не розщеплюються ферментами, але мають особливу еластичність і міцність.

Складні білки

Вони складаються з білкової частини — *апопротейіну* та небілкової частини — *протетичної групи* (від грецьк. *prostheto* — приєдную, додаю), як правило, міцно зв'язаної з білковою молекулою. До складних білків належать: нуклеопротейіни; хромопротейіни (гемопротейіни, металопротейіни, флавопротейіни); глікопротейіни; ліпопротейіни; фосфопротейіни.

1. Нуклеопротейіни

Ці білки утворюють основну масу хроматину клітинного ядра, а також входять до складу мітохондрій і рибосом, де вони беруть участь у біосинтезі білків. З ними пов'язані процеси поділу клітин, збереження та передача спадкових властивостей. Нуклеопротейіни складаються з простих білків протамінів або гістонів і протетичної групи, роль якої виконує ДНК або РНК. Якщо протетична група нуклеопротейіну — ДНК, то він називається дезоксирибонуклеопротейін (ДНП); вони знаходяться переважно в ядрі та утворюють основну масу рибосом. Нуклеопротейіни, що містять у ролі протетичної групи РНК, називаються рибонуклеопротейіни (РНП). Кількість нуклеїнових кислот у нуклеопротейінах клітин становить 40–65 % (клітини тварин і людини). Проте у нуклеопротейінах вірусів нуклеїновим кислотам належить 2–5 % від загальної маси нуклеопротейіну.

2. Хромопротейіни

Протетична група цих білків, як правило, має забарвлення, тому вони і називаються хромопротейінами (від грецьк. *chroma* — забарвлення). Протетичною групою хромопротейінів можуть бути ферумпорфіринові комплекси, метали та похідні вітаміну В₂ (рибофлавіну) — ФМН і ФАД. Через це хромопротейіни поділяються таким чином:

1. Гемопротейіни (ферумпорфірини) — містять ферумпорфіринові комплекси.

2. Металопротейіни — їх протетичними групами є метали.

3. Флавопротейіни — містять ФМН і ФАД.

Гемопротейіни

Це група складних білків, небілковим компонентом яких є ферумпорфіринові комплекси. До складу цих комплексів входять 4 пірольних кільця, атом Феруму та різноманітні групи атомів (метинові містки –СН=, метильні групи –СН₃, вінільні групи –СН=СН₂– та ін.). До гемопротейінів належать такі білки, як гемоглобін, міоглобін, цитохроми, каталаза, пероксидаза та ін. Гемоглобін міститься в еритроцитах і складається з білка глобіну та протетичної групи — 4 молекули гема, який є ферумпорфіриновим комплексом. Цей білок переносить кисень від легень до тканин і СО₂ — від тканин до легень.

Небілковою частиною міоглобіну є також гем, але він відрізняється від гемоглобіну білковою частиною (складається з однієї субодиниці). Цей білок зв'язує кисень у тканинах (переважно у м'язах) і забезпечує їх киснем до надходження його з гемоглобіном крові. У людини та вищих тварин міоглобін зв'язує близько 10 % кисню в крові, а, наприклад, у тюленів близько 40 % усього кисню в організмі зв'язано з міоглобіном, що дає можливість цим тваринам довгий час перебувати під водою без кисню повітря.

Цитохроми, каталаза та пероксидаза містять ферумпорфіринові комплекси. Ці білки беруть участь у процесах біологічного окиснення.

Металопротейіни

До їх складу входять, окрім білка, іони одного або кількох металів. До металопротейінів належать білки, що містять негемове Ферум, Купрум, а також ферменти, з білковою частиною яких зв'язані атоми металів. Приклади металопротейінів, які містять Ферум: трансферин, феритин та ін.

Трансферин — протеїн, що знаходиться переважно в сироватці крові у складі β-глобулінів. Кількість Феруму, яка в ньому міститься, — 0,1 %. Одна молекула трансферину містить два атоми Феруму. Функція трансферину — транспорт іонів Феруму до ретикулоцитів, де відбувається біосинтез гемоглобіну.

Феритин — протеїн, який складається на 20–30 % із Феруму. Він виконує роль депо Феруму в організмі, сконцентрований головним чином у селезінці, печінці, кістковому мозку.

Купрумвмісним металопротейіном є церулоплазмін. Цей складний білок резервує і транспортує Купрум в організмі людини і тварин.

Металозалежні ферменти

До них належить ряд ферментів, для яких метал є містком між білковою його частиною та субстратом або метал безпосередньо виконує каталітичну функцію. Наприклад, карбоангідраза містить Цинк, фосфогідралази — Магній і т. ін.

Флавопротейіни

Флавопротейіни містять протетичні групи ФМН або ФАД, міцно зв'язані з білками. До флавопротейінів належать сукцинатдегідрогеназа, ацил-КоА-дегідрогеназа (містять ФАД), оксидаза α-амінокислот (містить ФМН). До складу фла-

вінопротеїнів може ще входити Ферум, яке ковалентно зв'язаний з атомами Сульфуру залишку цистеїну в білку. Флавінопротеїни беруть участь у процесах біологічного окиснення.

3. Ліпопротеїни

Протестична група ліпопротеїнів представлена будь-яким ліпідом: тригліцеридом, холестерином, фосфоліпідом або вільною жирною кислотою. Ліпопротеїни входять до складу клітинної мембрани (це структурні ліпопротеїни). У вільному стані ліпопротеїни наявні здебільшого в сироватці крові.

4. Глікопротеїни

Протестична група глікопротеїнів — це вуглеводи та їх похідні (глюкозаміни, галактозамін, нейрамінова, сіалова, гіалуронова, хондроїтин-сірчана кислоти та ін.). Глікопротеїни, у складі яких переважає вуглеводний компонент у вигляді глюкозаміну або галактозаміну, називаються лужними. Глікопротеїни, які містять значну кількість гексуринової кислоти та сульфати, мають кислий характер і тому називаються кислими. До глікопротеїнів належать фібриноген, гепарин (запобігає згортанню крові), альбуміни та глобуліни крові, муцин і деякі інші сполуки.

5. Фосфопротеїни

У цих білків як протестична група виступає залишок фосфорної кислоти, зв'язаний складним ефірним зв'язком через гідроксильну групу таких амінокислот, як серин і треонін. До фосфопротеїнів належать казеїноген молока, овоальбумін яєчного білка та ін.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Ліпіди: визначення, класифікація. Вищі жирні кислоти: пальмітинова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова, арахідонова. Прости

ліпіди. Триацилгліцероли (нейтральні жири): будова, фізіологічне значення, гідроліз.

2. Складні ліпіди. Фосфоліпіди: фосфатидна кислота, фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін, фосфатидилсерин. Сфінголіпіди. Гліколіпіди. Роль складних ліпідів у побудові біомембран.

3. Аміни: номенклатура, властивості. Біомедичне значення біогенних амінів (адреналіну, норадреналіну, дофаміну, триптаміну, серотоніну, гістаміну) та поліамінів (путресцину, кадаверину).

4. Аміноспирти: будова, властивості. Біомедичне значення етаноламіну (коламіну), холіну, ацетилхоліну.

5. Гідроксикислоти в біоорганічній хімії: будова і властивості монокарбонових (молочної та β-гідроксимасляної), дикарбонових (яблучної, винної) гідроксикислот.

6. Амінокислоти: будова, стереоізомерія, хімічні властивості. Біомедичне значення L-α-амінокислот. Реакції біохімічних перетворень амінокислот: дезамінування, трансамінування, декарбоксилювання.

7. Амінокислотний склад білків і пептидів; класифікація природних L-α-амінокислот. Хімічні та фізико-хімічні властивості протеїногенних амінокислот. Нінгідрінова реакція, її значення в аналізі амінокислот.

8. Білки та пептиди: визначення, класифікація, біологічні функції. Типи зв'язків між амінокислотними залишками у білкових молекулах. Пептидний зв'язок: утворення, структура; біуретова реакція.

9. Рівні структурної організації білків: первинна, вторинна, третинна та четвертинна структури. Олігомерні білки.

10. Фізико-хімічні властивості білків; їх молекулярна маса. Методи осадження. Денатурація білків.

Глава 3. ВУГЛЕВОДИ. МОНОСАХАРИДИ. ОЛІГО- ТА ПОЛІСАХАРИДИ

3.1. ВУГЛЕВОДИ. БУДОВА ТА ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МОНОСАХАРИДІВ

Хімія вуглеводів посідає одне з провідних місць в історії розвитку органічної хімії. Тростинний цукор можна вважати першою органічною сполукою, виділеною у хімічно чистому вигляді. Здійснений у 1861 р. О. М. Бутлеровим синтез (поза організмом) вуглеводів із формальдегіду був першим синтезом представників одного з трьох основних класів речовин (білки, ліпіди, вуглеводи), що входять до складу живих ор-

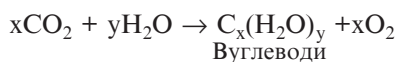
ганізмів. Хімічна структура найпростіших вуглеводів була з'ясована наприкінці XIX ст. у результаті фундаментальних досліджень Е. Фішера. Значний внесок у вивчення вуглеводів зробили вчені А. О. Коллі, П. П. Шоригін, М. К. Кочетков та ін. У 20-х рр. XX ст. роботами англійського дослідника У. Хеурса було закладено основи структурної хімії полісахаридів. А в другій половині XX ст. відбувся стрімкий розвиток хімії та біохімії вуглеводів, обумовлений їх важливим біологічним значенням.

Вуглеводи (гліциди, цукри) — біоорганічні сполуки, які за своєю хімічною будовою є альдегідо- та кетопохідними багатоатомних спиртів,

або поліоксіальдегідами та поліоксикетонами. Раніше було виявлено, що багато сполук цього класу мають молекулярну формулу типу $C_x(H_2O)_y$. Назву запропонував російський хімік К. Шмідт (1844). Однак подальші дослідження довели, що це визначення не охоплює багатьох сполук (наприклад дезоксирибозу, гексоз) тощо. Міжнародна комісія з реформи хімічної номенклатури запропонувала термін «вуглеводи» замінити терміном «гліциди», однак стара назва «вуглеводи» укорінилася і є загальною визначеною.

На частку вуглеводів припадає близько 2 % від сухої маси тіла людини, у рослинних організмах — близько 80 % сухої маси, тому в біосфері вуглеводів значно більше, ніж усіх інших органічних речовин, разом узятих. Джерелом вуглеводів для всіх живих організмів є фотосинтез, що здійснюється рослинами. Тваринні організми одержують моносахариди з рослинних джерел, а потім використовують їх, у тому числі для синтезу полісахаридів. Процес можна представити у вигляді такої схеми:

Фотосинтез:



В організмі тварин і людини вуглеводи виконують такі важливі функції: енергетичну, структурну, захисну та ін. Вони беруть участь в утворенні біологічно активних сполук.

1. *Енергетична функція:* близько 2/3 енергії (60–70 %), необхідної людині протягом доби, вивільнюється в процесі окиснення саме вуглеводів. Особливо необхідні вуглеводи як джерело енергії для головного мозку, що на 80–85% забезпечується енергією за рахунок окиснення глюкози. В енергетичному обміні головна роль належить глюкозі й глікогену.

Метаболізм:



2. *Структурна функція:* пентози нуклеотидів і нуклеїнових кислот, вуглеводи гліколіпідів, глікопротеїнів і протеогліканів входять до структурно-функціональних компонентів клітини. Опорну функцію виконує структурний полісахарид целюлоза в рослинних організмах і хондроїтинсульфати — у кістковій тканині.

3. *Гідроосмотична та іонрегулювальна функція:* глікозаміноглікани завдяки високій гідрофільності й негативному заряду здатні утримувати велику кількість води і катіонів. Наприклад, гіалуронова кислота зв'язує міжклітинну воду і катіони, регулюючи міжклітинний осмотичний тиск. Ця кислота перешкоджає зайвому нагромадженню вільної води у міжклітинному просторі.

4. *Захисна функція.* Цю функцію виконують такі вуглеводи:

1) *Глікозаміноглікани*, що з білками утворюють сполуки *протеоглікани*. Останні входять до складу слизів, що вкривають слизові оболонки, до складу рідини суглобів тощо. Вкриваючи тонким шаром поверхню клітин, мукопротеїни захищають їх від механічних, хімічних й інших ушкоджень.

2) *Глікопротеїни крові:* альбуміни, глобуліни, антитіла, фактори згортання крові. Їх утворюють вуглеводи в комплексі з білками. Ці комплекси сполуки захищають організм від інфекції (глобуліни, антитіла) і крововтрати (фактори згортання крові).

3) *Глюкуронова кислота* знешкоджує в печінці токсичні продукти гниття, що утворюються з білків у кишечнику і надходять у печінку.

5. *Участь в утворенні біологічно активних сполук*

Вуглеводи входять до складу:

1) *Нуклеопроєїнів:*

а) нуклеотидів-макроергів — АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ;

б) нуклеотидів-коферментів — НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, ФМН, КоА та ін.

2) *Нуклеїнових кислот* — ДНК, РНК, що забезпечують передачу спадкової інформації та біосинтез білка.

6. *Перетворення вуглеводів на ліпіди, амінокислоти й інші сполуки*

Із вуглеводів в організмі можуть синтезуватися сполуки інших класів, зокрема ліпіди й деякі амінокислоти.

Класифікація та номенклатура вуглеводів

Класифікація вуглеводів ґрунтується на їхній хімічній структурі та фізико-хімічних властивостях.

За *фізико-хімічними властивостями* вуглеводи поділяють таким чином:

— нейтральні, до складу яких входять тільки гідроксильні та карбонільні групи;

— основні, до складу яких входять аміногрупи (аміноцукри);

— кислі, до складу яких входять карбоксильні групи.

За *структурою* вуглеводи діляться на три групи (рис. 3.1):

Моносахариди — вуглеводи, не здатні до гідролізу.

Олігосахариди — вуглеводи, молекула яких складається з 2, 3, 4 залишків моносахаридів, при їх гідролізі вони розпадаються на моносахариди.

Вищі полісахариди — їх молекула складається із сотень або тисяч залишків моносахаридів. При гідролізі вони розпадаються на моносахариди.

Моносахариди та їхні похідні

Залежно від того, яку групу містять моносахариди — альдегідну чи кетонну, вони поділяються на *альдозу* і *кетозу*. За кількістю атомів Карбону в ланцюзі моносахаридів розрізняють тріози, тетрози, пентози, гексози, октози, нонози. Відомо близько 50 моносахаридів. Найрозповсюдженішими є пентози і гексози. За номенклатурою ІЮПАК будь-яка альдопентоза має назву 2,3,4,5-тетрагідроксипентаналь, а альдогексоза — 2,3,4,5,6-пентагідроксигексаналь. Однак міжнародна номенклатура в хімії вуглеводів практично не застосовується, а користуються

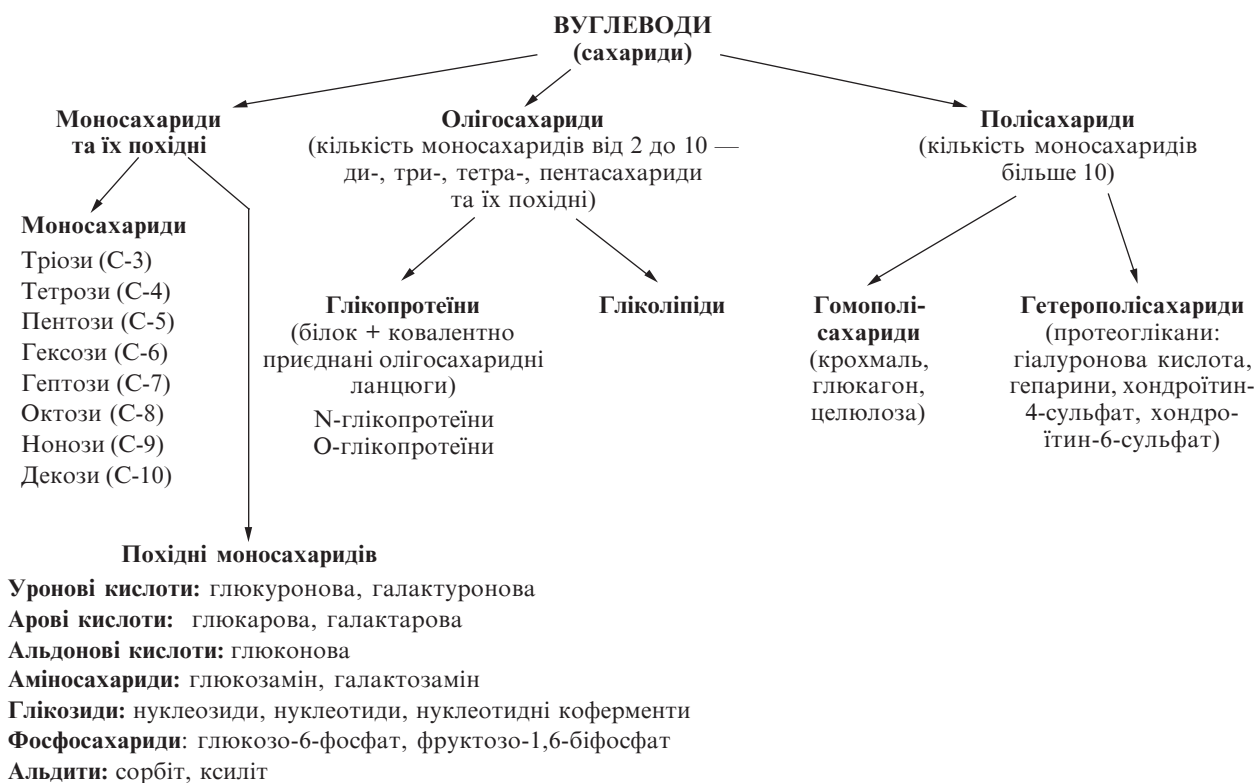
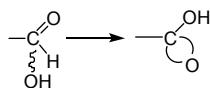


Рис. 3.1. Структура вуглеводів

тривіальними назвами. У водному розчині моносахариди існують у вигляді циклічних сполук. Циклічні форми моносахаридів за хімічною природою є *циклічними напівацетальми*.



Альдегідо-спирт Циклічний напівацеталь
(пентоза, глюкоза) (глікозидний гідроксил)

Напівацетальну гідроксильну групу, що утворилася, називають *глікозидною*.

У результаті внутрішньомолекулярної взаємодії утворюються термодинамічні більш стійкі цикли: п'ятичленні — *фуранозні* і шестичленні — *піранозні*. Циклічні форми моносахаридів відсутні у тріоз і тетроз. Назва циклів походить від назв родинних гетероциклічних сполук — *фурану* і *пірану*.



Фуран



Піран

Ізомерія вуглеводів. Цикло-оксо-таутомерія

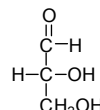
Молекули моносахаридів містять кілька хіральних центрів (асиметричних атомів), тому одній структурній формулі відповідають кілька стереоізомерів. Кількість ізомерів обчислюється за формулою:

$$N = 2^n,$$

де N — кількість ізомерів;

n — кількість хіральних центрів.

До найпростіших моносахаридів належать гліцеральдегід і діоксіацетон, які у вигляді фосфорних ефірів відіграють важливу роль у засвоєнні цукрів та енергії, яка утворюється при їх окисненні. Крім того, тріозофосфати використовуються для біосинтезу простих жирів і складних ліпідів.



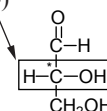
Гліцеральдегід
(альдоза, тріоза)



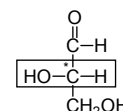
Діоксіацетон
(кетоза, тріоза)

Відносна конфігурація моносахаридів визначається за конфігураційним стандартом (*D*-глицериновий альдегід). З ним порівнюється конфігурація хірального центру, найбільш віддаленого від оксогрупи.

Центр хіральності, який визначає приналежність до стереохімічного ряду (*D*-, *L*-)



D-Гліцеральдегід

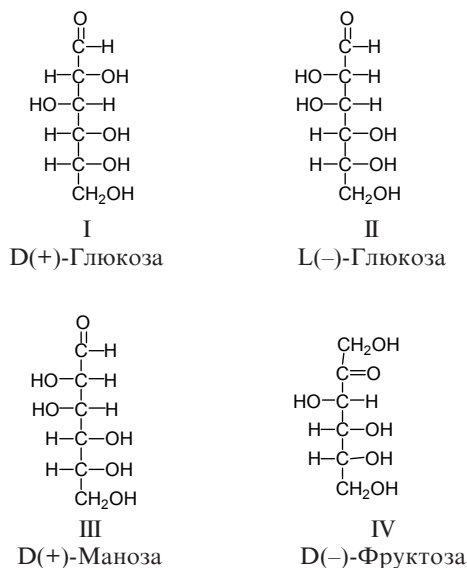


L-Гліцеральдегід

* — хіральний атом Карбону

Гліцеральдегід має *хіральний атом Карбону*, тому може існувати у вигляді *D*- і *L*-ізомерів. «Хіральність» означає, що два предмети так співвідносяться між собою, як ліва і права рука

(від грецьк. *cheir* — рука), тобто являють собою дзеркальне зображення. У проекційній формулі D-гліцеральдегідів гідроксильна група знаходиться *праворуч* біля «кінцевого» хірального центру, а в L-гліцеральдегіді — *ліворуч*. D- і L-гліцеральдегід є *енантіомерами* (стереоізомери, що співвідносяться між собою як предмет і несумісне з ним дзеркальне зображення). Наявність хіральних центрів у молекулі моносахаридів свідчить про те, що вони мають оптичну активність, тобто здатні обертати плоскополяризоване світло за годинниковою стрілкою або проти неї (вправо-вліво). Знак обертання площини поляризації світла моносахаридами не пов'язаний з їх приналежністю до D- чи L-рядів. Він визначається експериментально і залежить від вкладу всіх хіральних центрів у молекулі. Оптичну активність вуглеводів позначають знаком (+) для правообертаючих сполук і знаком (–) — для лівообертаючих. Серед альдогексоз і кетогексоз D-стереохімічного ряду є як лівообертаючі, так і правообертаючі сполуки. Для зображення стереоізомерів у моносахаридах користуються проекційними формулами Фішера.



Сполуки I, III, IV належать до D-генетичного ряду, II — до L-ряду.

Оптичні ізомери I і II — енантіомери; I і III — епімери.

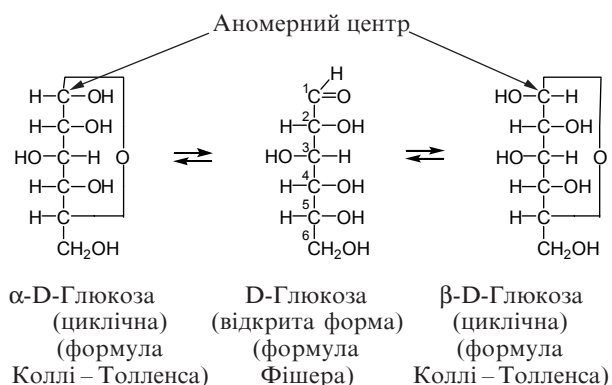
Епімери називають діастереомери, які відрізняються за конфігурацією тільки одного асиметричного атома Карбону (для I і III — це C-2).

Переважає більшість природних моносахаридів належить до D-ряду. Живі організми не «впізнають» і не вмюють переробляти L-глюкозу; L-глюкоза не піддається спиртовому бродінню дріжджовими клітинами.

Кількість виділених ізомерів виявилася вдвічі більшою, ніж слід очікувати за формулою Фішера: $N=2^n$. Відомі 32 ізомери альдогексоз (замість 16). Для всіх альдогексоз, виділених із живих організмів чи синтезованих, встановлені відносні конфігурації замісників біля асиметричних

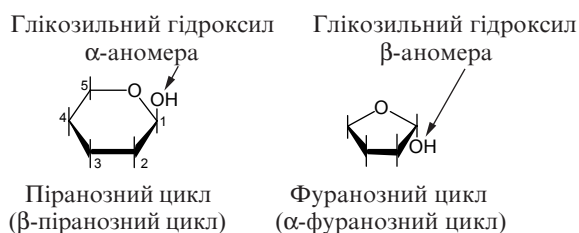
атомів. Вперше припущення про циклічну будову глюкози висунув дослідник А. О. Коллі (1870), а згодом — німецький учений Б. Толленс (1883). У п'яти- і шестивуглецевих ланцюгах може спостерігатися зближення в просторі двох функціональних груп — альдегідної (кетонної) і гідроксильної біля C-4 чи C-5 атома Карбону. За рахунок цієї внутрішньомолекулярної взаємодії утворюється внутрішній циклічний напівацеталь.

Якщо утворюється п'ятичленна циклічна похідна, замкнена на атом Оксигену, то цикл називається *фуранозним*, а якщо шестичленна — то *піранозним*. OH-групу, що утворилася, називають *напівацетальною*, чи *глікозидною*. Наприклад, глюкоза існує в п'яти формах, із них — чотири циклічних.

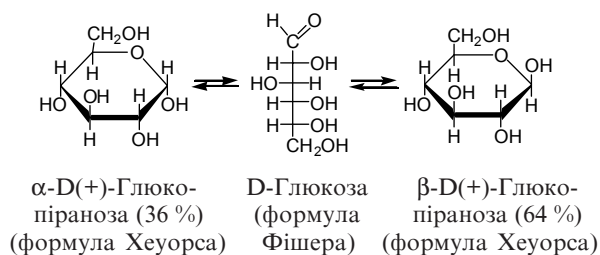


У циклічній формулі виникає додатковий центр хіральності, який називають *аномерним*, а два стереоізомери, що утворилися, — α- і β-аномерами. В α-аномері конфігурація аномерного центру збігається з конфігурацією «кінцевого» хірального центру в молекулі моносахариду, а у β-аномері вона є протилежною. У цілому α- і β-аномери через наявність ще кількох центрів хіральності в молекулі є діастереомерами, а не енантіомерами.

Аномери — це окремий випадок епімерів. Для зображення кисневмісних циклів зручно користуватися формулами не Коллі — Толленса, а Хеуорса. Вони мають вигляд плоских багатокутників, розташованих перпендикулярно до площини рисунка. Атом Оксигену розміщується в піранозах у далекому правому куті циклу, а в фуранозах — за площиною рисунка. У циклічній формулі виникає додатковий центр хіральності — атом Карбону, що раніше входив до складу карбонільної групи. Цей атом називається *аномерним*, а два відповідних стереоізомери — α- і β-аномерами. У α-аномера конфігурація аномерного центру однакова з конфігурацією «кінцевого» хірального центру, що визначає приналежність до D- чи L-ряду, а в β-аномера — протилежна.



Перехід від проєкційних формул до формул Хеурса здійснюється таким чином. Усі замісники, що знаходяться ліворуч від вуглецевої ланцюга, розмищуються над площиною оксидного циклу, а праворуч — під площиною. В альдогексоз D-ряду CH_2OH -група завжди розміщується над площиною. У твердому стані моносахариди мають циклічну будову. Залежно від розчинника під час перекристалізації глюкопіраноза може бути виділена в α -формі ($[\alpha]=+112^\circ$) — питомий кут обертання — або в β -формі ($[\alpha]=+19^\circ$). Через деякий час свіжоприготовлений розчин глюкози поступово змінює питомий кут обертання до $+52,5^\circ$. Зміна з часом кута обертання площини поляризації світла розчинами цукрів називається *мутаротацією*. Хімічна основа мутаротації — здатність цукрів до цикло-оксо-таутомерії, або кільцево-ланцюгової таутомерії.



Таким чином, у водному розчині D-глюкоза існує у вигляді п'яти таутомерів: α - і β -аномерів піранозних і фуранозних циклічних форм й оксиформи (рис. 3.2).

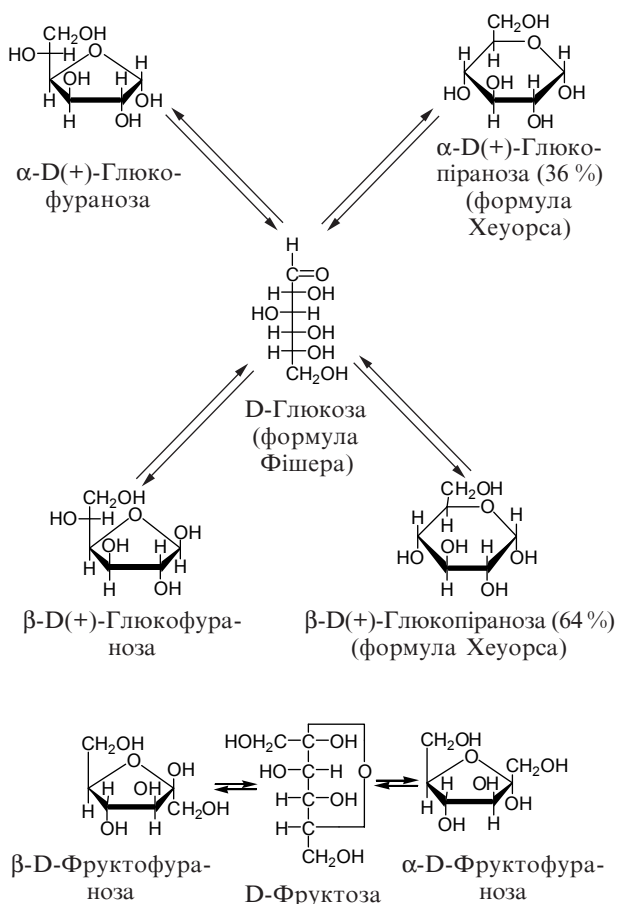


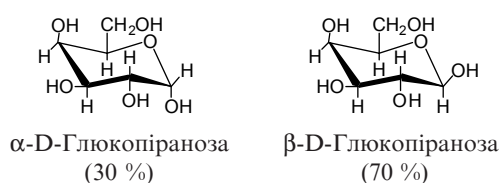
Рис. 3.2. Таутомери D-глюкози

У суміші таутомерів превалюють піранозні форми. Оксоформа, а також таутомери з фуранозними циклами містяться у малих кількостях. Аналогічні таутомерні перетворення відбуваються у кетогексоз за переважання фуранозних форм.

Конформації

Хоча у формулах Хеурса моносахариди зображуються у вигляді плоского багатокутника, у дійсності вони не мають плоскої будови. Наприклад, шестичленний піранозний цикл подібно до циклогексану набуває найбільш вигідної конформації *крісла*.

Методом рентгеноструктурного аналізу встановлено, що з двох кріслоподібних конформацій піранозного циклу в β -D-глюкопіранозі відбувається та, в якій усі великі за розміром замісники перебувають в екваторіальному стані:

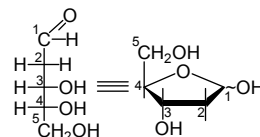
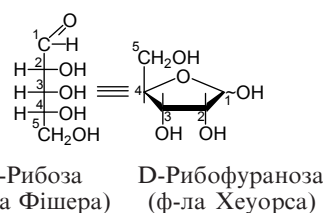


У β -аномері всі великі за розміром замісники перебувають у більш енергетично вигідному екваторіальному стані, тому він переважає в суміші.

β -D-глюкопіраноза — унікальний моносахарид із повним екваторіальним розміщенням замісників. Цим зумовлена його висока термодинамічна стійкість, що є основною причиною його широкого розповсюдження в природі.

Пентози

Біологічно важливими пентозами є: — *альдопентози*: D-рибоза, 2-дезоксид-рибоза, L-арабіноза, D-ксилоза; — *кетопентози*: D-рибулоза, D-ксилулоза.



D-рибоза — альдопентоза, у β -фуранозній формі входить до складу рибонуклеїнових кислот, ряду коферментів (НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, ФМН), глікозидів і антибіотиків.

2-Дезокси-D-рибоза (дезоксирибоза) — альдопентоза, відрізняється від D-рибози відсутністю

N-Ацетилглюкозамін у вигляді гомополімеру хітину формує скелет комах і ракоподібних; у бактерій, поряд із *N*-ацетилмурамовою кислотою, є компонентом клітинної стінки.

У тваринному світі *N*-ацетилглюкозамін входить до складу глікозаміногліканів сполучної тканини (гіалуронової кислоти, хондроїтин-сульфатів, гепарину), глікопротеїнів (групи крові).

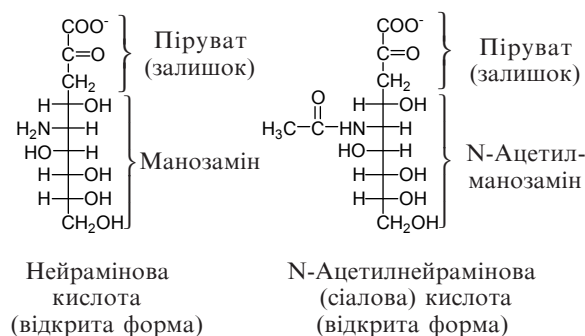
Залишок *N*-ацетилглюкозаміну звичайно знаходиться на відновлюючому кінці *N*-глікозидних вуглеводних ланцюгів тварин глікопротеїнів, який утворює зв'язок вуглеводбілок.

N-Ацетилгалактозамін виконує аналогічну роль, але в *O*-глікозидних ланцюгах, у складі глікопротеїнів і гліколіпідів. *N*-Ацетилгалактозамін є детермінантним цукром груп крові, що визначає їхню специфічність.

Нейрамінова і сіалові кислоти

Нейрамінова кислота і її похідні (сіалові кислоти) є компонентами біомембран (гангліозидів), глікопротеїнів і протеогліканів біологічних рідин, слизів, сполучної тканини.

У вільному стані нейрамінова кислота міститься у спинномозковій рідині. З хімічної точки зору вона є кетонозою (нонулоза).



Назвою «сіалові кислоти» позначається група різних *N*- і *O*-ацильованих похідних нейрамінової кислоти. Знаходячись на відновлюючому кінці олігосахаридних ланцюгів (гліколіпідів і глікопротеїнів), сіалові кислоти додають полімеру негативного заряду. Наявність сіалових кислот на кінцях олігосахаридних ланцюгів тварин глікопротеїнів забезпечує можливість циркуляції останніх у кровотоку, запобігаючи захопленню їх клітинами печінки.

Сіалові кислоти багато в чому визначають властивості клітинної поверхні. Зміна вмісту сіалових кислот на клітинній поверхні супроводжує такі процеси, як диференціація клітин і злоякісне переродження. Наявністю надлишкової кількості сіалових кислот на поверхні пояснюють багато властивостей пухлинних клітин.

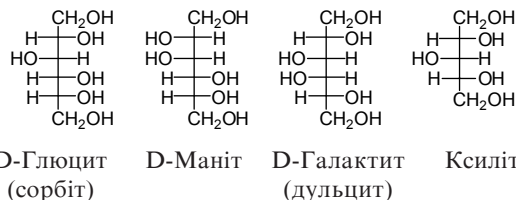
Альдити (поліоли)

При відновленні карбонільної групи моносахаридів утворюються багатоатомні спирти (поліоли), які називаються *альдитами*.

Ці альдегіди добре розчинні у воді, мають солодкий смак і часто використовуються як заміники цукру. *Сорбіт* виявлений у горобині,

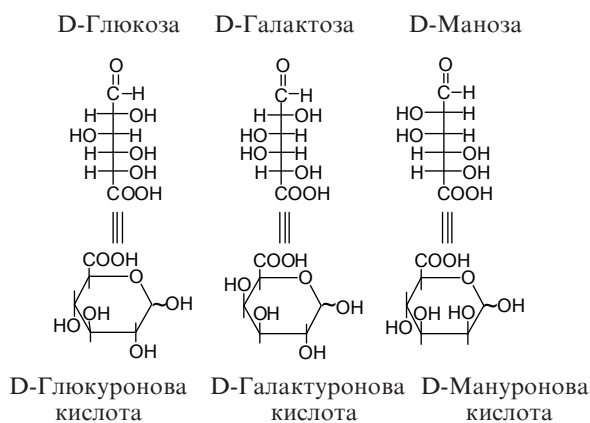
маніт — у водоростях. Велике значення має *ксиліт* — один із найсолодших поліолів, який застосовується у харчовій промисловості і як заміник цукру при діабеті.

Відновлення фруктози в організмі до *сорбіту* спричинює нагромадження його в кристалику ока при цукровому діабеті, що викликає *катаракту*.

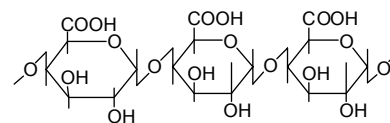


Глюкуронові (уронові) кислоти

Глюкуронові кислоти — вуглеводи, в яких первинна спиртова група замінена на карбоксильну:



Уронові кислоти є компонентами рослинних і бактеріальних полісахаридів. *Пектинові речовини*, що містяться в плодах і овочах, являють собою продукти поліконденсації *D*-галактуронової кислоти — полігалактуронової (пектинової) кислоти.

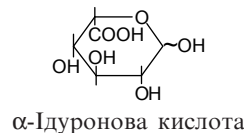


Полігалактуронова (пектинова) кислота

Деякі пектинові речовини справляють противиразкову дію і є основою низки препаратів (наприклад плантаглюцид із подорожника).

Утворення глікозидів глюкуронової кислоти — глюкуронідів — є окремим випадком процесу кон'югації, тобто взаємодії лікарських препаратів або їх метаболітів із біогенними речовинами.

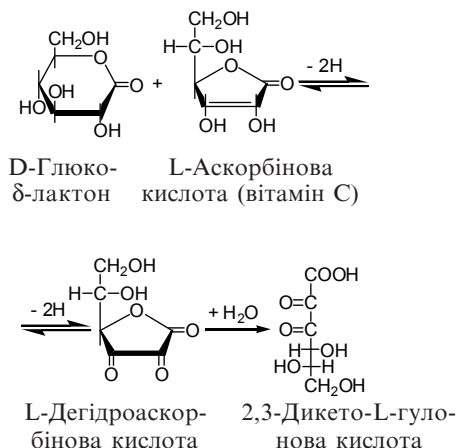
D-Глюкуронова і α -ідуронова кислоти є структурними одиницями *гепарину*.



Уронові кислоти виконують в організмі важливу функцію: утворюють з лікарськими речовинами, їх метаболітами в печінці водорозчинні глікозиди, які виводяться з сечею.

Альдонові кислоти

Альдонові і уронові кислоти мають тенденцію до внутрішньомолекулярної етерифікації з утворенням 5- і 6-членних лактонів (циклічних ефірів).



Прикладом альдонових кислот є глюконова кислота, яка у вигляді фосфорного ефіру утворюється в організмі при окисненні глюкози (пентозофосфатний шлях). У медицині використовується кальцієва сіль глюконової кислоти (*глюконат кальцію*).

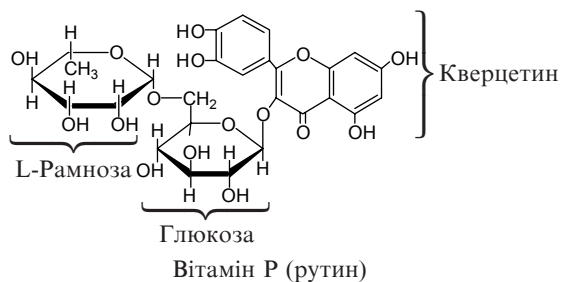
Вітамін С є γ-лактоном α-дикетоглулонової кислоти (альдонової кислоти).

Глікозиди

Глікозиди — сполуки, які є продуктами конденсації моносахаридів (або моносахаридних залишків у складі складного цукру) зі спиртами чи фенолами.

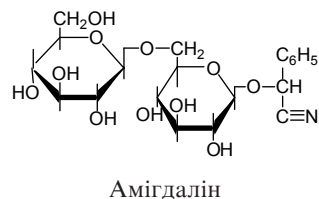
Глікозиди складаються з двох частин: *аглікону* (невуглеводний фрагмент) і *глікону* (вуглеводна частина). Вуглеводна частина найчастіше представлена D-глюкозою, рідше — D- і α-галктозою, D-манозою.

Особливо широко глікозиди представлені в рослинах: це пігменти квітів, ароматичні речовини, багато природних барвників. Вітамін Р (рутин) є О-глікозидом. Вуглеводна частина рутину — це дисахарид, що складається із залишків D-глюкози та L-рамнози; невулеводна (аглікон) — похідне *флавонолу* кверцетин:



Амігдалін — сполука, що міститься в кісточках плодів (персик, абрикос, вишня, мигдаль).

Вуглеводна частина побудована з двох залишків β-D-глюкози. Аглікон складається із залишків бензенowego альдегіду та синільної кислоти:



Серцеві глікозиди, що використовуються для стимуляції діяльності міокарда при серцевій недостатності, виділяють із різних видів наперстянки, конвалії, горицвіту.

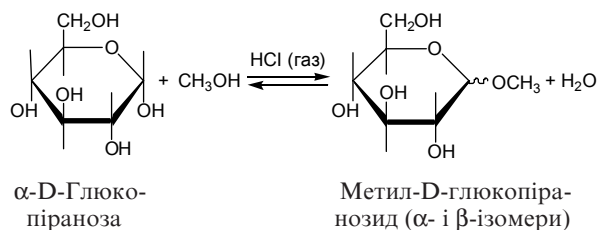
Глікозиди зустрічаються й у тваринному світі. Найбільш відомими і розповсюдженими глікозидами є гліколіпіди — *гангліозиди*, що входять до складу нуклеїнових кислот і більшості коферментів.

Реакційна здатність моносахаридів

Моносахариди вступають у більшість реакцій, які характерні для спиртів і оксополук.

Біологічна дія моносахаридів зумовлена їх хімічною будовою. Структура цукрів визначає механізм реакцій, які лежать в основі біохімічних перетворень. Так, утворення циклічних структур спричинило появу найбільш реакційоздатного напівацетального гідроксиду.

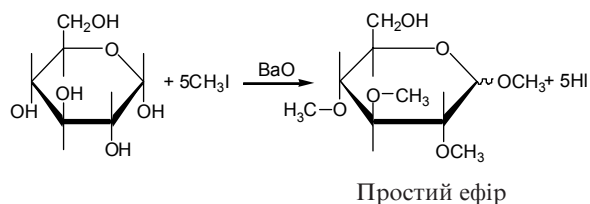
Завдяки високій реакційній здатності напівацетального гідроксиду відбувається утворення важливих метаболітів. Моносахариди при взаємодії зі спиртами в безводному середовищі за наявності кислотного каталізатора утворюють *повні ацетали*. Зв'язок між C=1 і OR називають *глікозидним*. Незалежно від аномерної форми вихідного моносахариду в результаті утворюється суміш α- і β-ізомерів. Метод синтезу глікозидів запропонував Е. Фішер (1893).



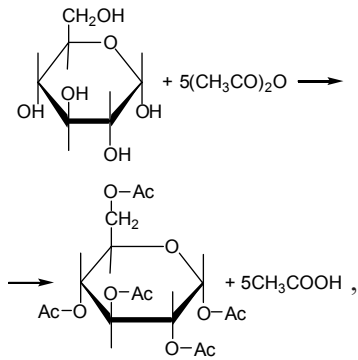
Розчини глікозидів не мутаротують, оскільки таутомерні переходи неможливі.

Глікозиди, як і всі ацетали, гідролізуються в кислому середовищі, але стійкі до дії розведених лугів.

Алкірування моносахаридів — утворення простих ефірів:

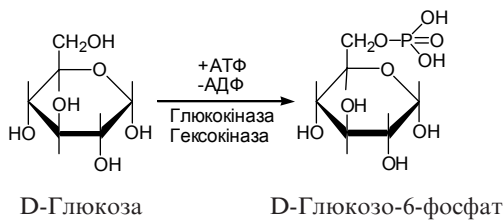


Утворення складних ефірів:

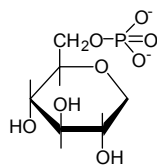


де Ac — залишок оцтової кислоти.

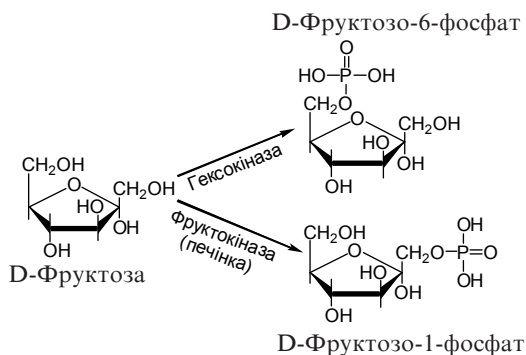
Ефіри неорганічних кислот, зокрема ефіри фосфорної кислоти — *фосфати* — містяться у всіх рослинних і тваринних організмах, вони являють собою метаболічно активні форми моносахаридів. До них належать фосфати D-глюкози і D-фруктози. У печінці є фермент *глюкокіназа*, що каталізує фосфорилювання глюкози (ефір фосфорної кислоти) по 6-му атому Карбону з утворенням глюкозо-6-фосфату. Ця ж сполука утворюється в м'язах за допомогою ферменту *гексокінази*.



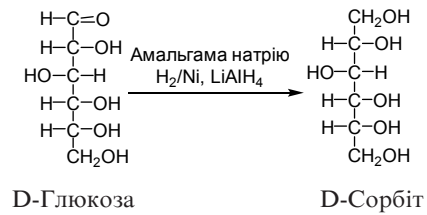
Глюкозо-6-фосфат у повністю протоніваній формі може існувати в середовищах із рН нижче 6. В організмі рН дорівнює 7,3, тому глюкозо-6-фосфат перебуває переважно у формі діаніону.



Фруктоза під дією ферменту *гексокінази* в організмі людини перетворюється на фруктозо-6-фосфат, а під дією ферменту печінки *фруктокінази* — переважно на фруктозо-1-фосфат.



Відновлення

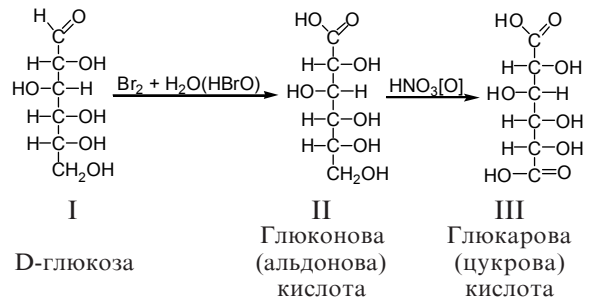


При відновленні цукрів утворюються багатоатомні спирти. Цукрові спирти — це безбарвні солодкі речовини, які легко розчиняються у воді.

Сорбіт є вихідним продуктом для синтезу аскорбінової кислоти (вітамін С). Він замінює цукор хворим на діабет.

Окиснення

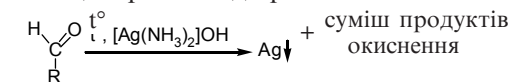
Залежно від природи окисника та умов реакції (рН середовища, температури) моносахариди перетворюються на різні продукти. Продуктами окиснення цукрів є полігідроксициклоти (альдонові за дії м'яких окисників і глікарові, якщо окисником є HNO_3 чи KMnO_4).



Ці реакції відбуваються в кислому чи нейтральному середовищі.

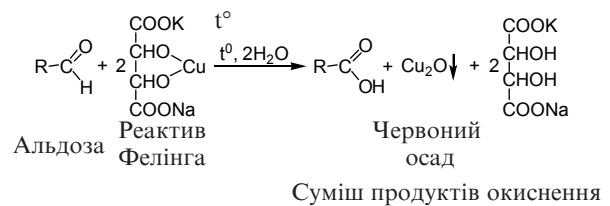
Якщо реакція перебігає в лужному середовищі, то утворюється суміш продуктів окиснення вуглеводів. Ці реакції застосовуються для якісного визначення положення карбонільної групи у вуглеводах. Навіть такі слабкі окисники, як гідроксид срібла в аміачному середовищі (реактив Толленса) чи лужний розчин тартратного комплексу Купруму (II) (реактив Фелінга), легко відновлюються альдозами.

Реакція срібного дзеркала:



Альдоза

Реакція Фелінга:



Альдоза

Реактив Фелінга

Суміш продуктів окиснення

3.2. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ ОЛІГО- І ПОЛІСАХАРИДІВ

Дисахариди

Дисахариди (олігосахариди) складаються з двох моносахаридних ланок однакової або різної природи. Легко гідролізуються. Загальна формула дисахаридів така: $C_{12}H_{22}O_{11}$. Це кристалічні речовини. При розчиненні у воді вони утворюють істинні розчини, солодкі на смак. Основні біози, при гідролізі яких утворюються монози, наведені нижче:



Дисахариди належать до О-глікозидів, у яких друга молекула моносахариду відіграє роль аглікону. За типом зв'язування моносахаридних залишків дисахариди можна розподілити на дві групи:

1. Зв'язок утворюється за рахунок напівацетальної (глікозидної) ОН-групи одного і будь-якої спиртової ОН-групи іншого моносахариду (відновлювальні дисахариди).

2. Зв'язок утворюється за рахунок напівацетальних (глікозидних) ОН-груп обох моносахаридів (невідновлювальні дисахариди).

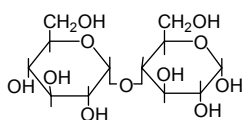
Відновлювальні дисахариди

У відновлювальних дисахаридів у утворенні глікозидного зв'язку бере участь напівацетальний гідроксил однієї монози і спиртовий гідроксил другої, найчастіше у С-4 або С-6, іноді у С-3. При цьому одна напівацетальна ОН-група залишається вільною і зберігає здатність до розкриття циклу (цикло-оксо-таутомерія). Свіжоприготовлені розчини таких дисахаридів мутаротують і реагують із реактивами на альдегідну групу аналогічно глюкозі: відновлюються в багатомірні спирти, окиснюються в альдонові кислоти. Для відновлювальних цукрів характерною є цикло-оксо-таутомерія.

Мальтоза (солодовий цукор)

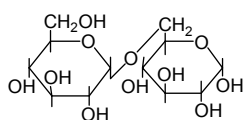
Дисахарид мальтоза (α -D-глюкопіранозил-1,4- α -D-глюкопіраноза) складається із залишків двох α -глюкоз, зв'язок α -1,4-глікозидний. У назві цієї сполуки перша молекула має закінчення «озил», якщо в реакції брав участь напівацетальний гідроксил, а друга молекула зберігає закінчення «оза».

Утворюється як проміжний продукт при дії амілаза на крохмаль.



Мальтоза

α -1,4-Глікозидний зв'язок

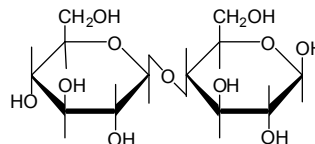


Ізомальтоза

α -1,6-Глікозидний зв'язок

Целобіоза

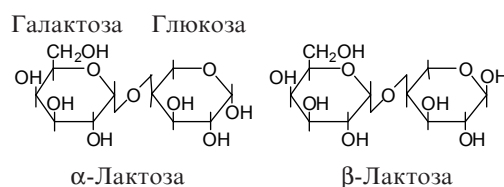
Целобіоза є проміжним продуктом гідролізу клітковини. При гідролізі утворює дві молекули глюкози. Це відновлювальний цукор, може бути окиснений у целобіонову кислоту. Відмінність від мальтози полягає в тому, що аномерний атом, який бере участь в утворенні глікозидного зв'язку, має β -конфігурацію.



β -D-Глюкопіранозил-1,4- β -D-Глюкопіраноза

Лактоза (молочний цукор)

Лактоза (β -D-галактопіранозил-1,4- β -D-глюкопіраноза) міститься в молоці (4–5 %). Вона складається із залишків β -D-галактопіранози і D-глюкози, які з'єднані β -зв'язком.



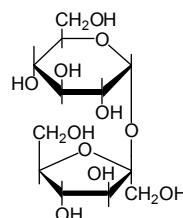
α -Лактоза

β -Лактоза

Лактоза застосовується в фармацевтичній промисловості для виготовлення порошків і таблеток, вона є складовою частиною продуктів харчування для малюків. У материнському молоці вміст лактози сягає 8 % від маси.

Невідновлювальні дисахариди

Представником цього ряду дисахаридів є *сахароза* (буряковий і тростинний цукор). До її складу входять α -D-глюкоза і β -D-фруктоза: глюкоза — у піранозній, а фруктоза — у фуранозній формі. Глікозидний зв'язок утворюється за рахунок гідроксильних груп при аномерних атомах Карбону. Тому сахароза не здатна до цикло-оксо-таутомерії і не виявляє відновних властивостей (не реагує з реактивом Толленса і реактивом Фелінга).



α -D-Глюкопіранозил-1,2- β -D-фруктофуранозид (сахароза)

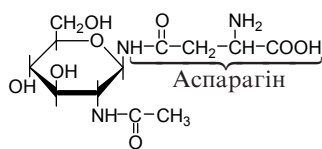
При гідролізі сахарози, яка має праве обертання, знак обертання змінюється, тому що утворюється D-фруктоза, яка значно сильніше обертає вліво, ніж D-глюкоза — вправо. Це явище називається *інверсією*, а одержана суміш — *інвертним цукром* (штучний мед).

Ферменти людського організму здатні розщеплювати 1,4- і 1,6-глікозидні зв'язки в крохмалі та глікогені. Відмічено, що гідроліз сахарози, на відміну від інших біоз, перебігає легше, оскільки фруктоза, що входить до її складу, перебуває у вигляді менш стійкого п'ятичленного фуранозного циклу. Сахароза легко гідролізується в кишечнику і, подібно до моносахаридів, потрапляє у кров. Гідроліз іншого дисахариду — лактози — відбувається сповільнено внаслідок зниження активності ферменту, що розщеплює лактозу, — *лактази*. Зниження активності ферменту призводить до непереносності деякими людьми молока та молочних продуктів харчування. Олігосахариди досить поширені в природі. У рослинному світі вони відіграють роль резервних вуглеводів. Найчастіше зустрічаються олігосахариди групи сахарози. Майже так широко, як сахароза, у рослинах поширені рафіноза і стахіоза.

Другою великою групою природних олігосахаридів є олігосахариди молока, яким належить важлива роль у формуванні кишкової флори новонароджених, необхідної для травлення. Вони сприяють розвитку в шлунково-кишковому тракті мікроорганізму *Lactobacillus bifidus*, який розщепляє лактозу молока (дисахарид) з утворенням молочної й оцтової кислоти, яка перешкоджає росту патогенних бактерій. До їхнього складу входять D-галактоза, α -фруктоза, N-ацетилглюкозамін і залишок лактози. Один із важливих олігосахаридів молока — лакто-N-фуктопентоза.

Глікопротеїни

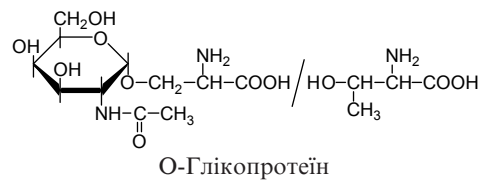
Глікопротеїни — це змішані біополімери, в яких молекула білка містить ковалентно приєднані олігосахаридні ланцюги.



N-Глікопротеїн

Глікопротеїни входять до складу всіх органів, тканин і клітин організму людини і тварин; вони містяться в секреторних рідинах і плазмі крові. Функції глікопротеїнів надзвичайно різноманітні. Серед них зустрічаються ферменти, гормони, білки імунної системи, компоненти плазми крові, муцини, рецептори клітинних мембран. Найбільш розповсюдженим типом зв'язку у тваринних глікопротеїнах є *N-глікозидний зв'язок*, утворений залишками N-ацетилглюкозаміну і β -амідною групою аспарагіну (імуноглобуліни, антигени тканинної сумісності).

Іншим типом зв'язку у тваринних глікопротеїнах є *O-глікозидний зв'язок* між залишками N-ацетилгалактозаміну і гідроксильною групою серину чи треоніну. Цей тип зв'язку характерний для муцинів, речовин груп крові, глікофорину мембрани еритроцитів і т. ін.

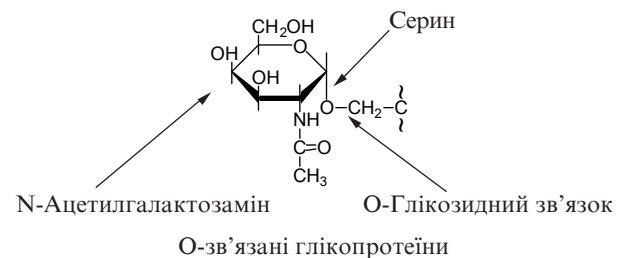


O-Глікопротеїн

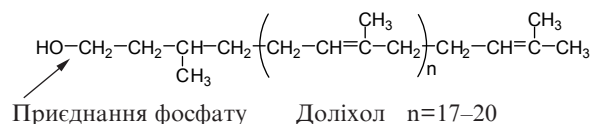
У багатьох глікопротеїнах (як сироваткових, так і мембранних) одночасно присутні O- і N-глікозидні ланцюги.

Синтез вуглеводної частини глікопротеїнів

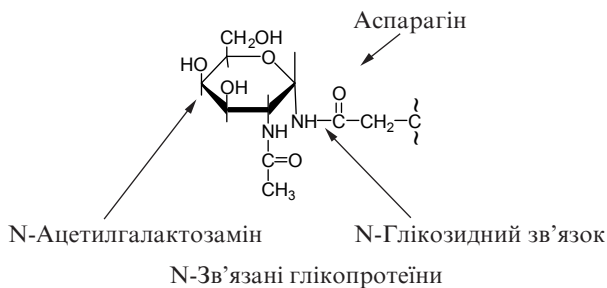
1. *O-зв'язані глікопротеїни*. Поліпептидні ланцюги O-зв'язаних глікопротеїнів кодуються відповідними мРНК; оскільки більшість глікопротеїнів зв'язана з мембранами, вони звичайно транслюються на мембранозв'язаних полірибосомах. Олігосахаридні ланцюги глікопротеїнів O-глікозидного типу конструюються шляхом *східчастого додавання цукрів із нуклеотидцукрів*, таких як УДФ-GalNAc, УДФ-Gal, ЦДФ NeuAc. Ферменти, які каталізують цю реакцію, являють собою мембранозв'язану *глікопротеїн-глікозилтрансферазу*. Для утворення одного типу зв'язку потрібна відповідна трансфераза (гіпотеза: «один зв'язок — одна глікозилтрансфераза»).



2. *N-зв'язані глікопротеїни*. Синтез полісахаридів, приєднаних N-глікозидним зв'язком, відбувається інакше, у цьому випадку бере участь проміжний носій олігосахариду *доліхолфосфат*. Це амфіфільна речовина. Гідрофобним кінцем вона занурена в мембрану, а виступаючий гідрофільний кінець служить акцептором першого моносахариду — GlcNAc; у результаті реакції утворюється N-ацетилглюкозаміндифосфатдоліхол.



Потім при дії серії специфічних глікозилтрансфераз приєднуються інші моносахари, утворюється олігосахарид. Він переноситься на амідну групу аспарагіну в складі пептидного ланцюга (глікопротеїну) в процесі їх утворення на мембранних полірибосомах. Далі під дією окремих глікозилтрансфераз, локалізованих головним чином в апараті Гольджі, відбувається приєднання вуглеводного фрагмента.



Найбільш поширені гліколіпіди — це глікоцераміди (глікофінголіпіди), що являють собою похідні кераміду. Антигени А і В мембран еритроцитів є глікоцерамідами. Гліколіпіди зустрічаються тільки в мембранах (головним чином, у плазматичній мембрані).

Полісахариди

Полісахариди утворюють основну масу органічної речовини нашої планети. Досить згадати, що з них складається основна частина рослинного світу, де полісахариди виконують скелетні функції, а також служать резервними вуглеводами.

Гомополісахариди

Із вищих полісахаридів найбільш розповсюдженими і важливими є крохмаль, глікоген і клітковина. Усі три полісахариди мають загальну формулу $(C_6H_{12}O_5)_n$ і складаються із залишків глюкози. Однак їхні структури істотно розрізняються.

Крохмаль є запасним поживним вуглеводом рослин — тимчасове депо глюкози рослин. Складається з двох фракцій: амілози й амілопектину (табл. 3.1). Амілоза в крохмалі становить близько 20 %, амілопектин — близько 80 %.

Таблиця 3.1

Склад крохмалю

Амілоза	Амілопектин
α-1,4-глікозидні зв'язки	Крім α-1,4-глікозидних зв'язків є і α-1,6-глікозидні зв'язки, що забезпечують його форму. На 30 α-1,4 зв'язків припадає приблизно один α-1,6-зв'язок
Входить до складу 200–1000 залишків глюкози	Входить до складу 600–6000 залишків глюкози
Добре розчинна в гарячій воді	Погано розчинний у гарячій воді
Йодом забарвлюється в синій колір	Йодом забарвлюється у фіолетовий колір

Глікоген — основне депо вуглеводів (глюкози) в організмі тварин і людини. Глюкоза глікогену використовується організмом в інтервалах між прийманням їжі й у період м'язової активності. Особливо багаті на глікоген печінка і скелетні м'язи, де зосереджено близько 90 % всієї його кількості в організмі. У печінці глікогену міститься 2–5 % від загальної ваги органа (близько 150 г), у скелетних м'язах — 0,5–2 % (близько 200 г). Глікоген, як і крохмаль, складається із залишків α-глюкоз, з'єднаних α-1,4-глікозидними зв'язками,

але крім цього наявна значна кількість α-1,6-глікозидних зв'язків, що забезпечують гіллясту будову глікогену, тобто за будовою глікоген близький до амілопектину. Приблизно на кожен десяток молекул глюкози з α-1,4-глікозидними зв'язками припадає один α-1,6-глікозидний зв'язок (рис. 3.3).

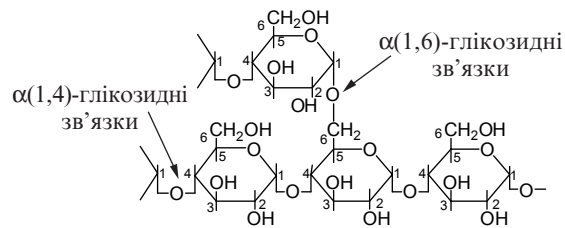
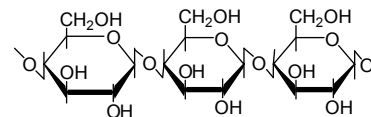


Рис. 3.3. Будова крохмалю і глікогену

Целюлоза (клітковина) — лінійний полісахарид, побудований з молекул β-глюкози, з'єднаних β-(1→4)-глікозидними зв'язками, ступінь полімеризації 2000–3000.

Звичайне її джерело — деревина, містить близько 50 % целюлози.



Целюлоза

Геміцелюлоза — суміш полісахаридів клітинної стінки рослин, склад яких залежить від виду рослини. Залежно від моносахаридного складу основного ланцюга геміцелюлози поділяються на ксилани, глюкоманани і галактани.

У наземних рослинах і водоростях широко представлені **пектинові речовини** — поліуроніди. Основним компонентом рослин є *D-галактуронова кислота*, а в малих кількостях присутні L-арабіназа і D-галактоза.

Розчинні пектинові речовини знаходяться, головним чином, у соках рослин, нерозчинні утворюють міжклітинну речовину і значну частину стінки молодих рослин. Частково етерифіковані поліуроніди називаються **пектиновими кислотами**, а самі поліуроніди — **пектовими кислотами**. Пектинові кислоти здатні утворювати в розчинах міцні гелі та колоїди, що зумовлено міжмолекулярною асоціацією. Це знаходить застосування в кондитерській і фармацевтичній промисловості.

Гетерополісахариди

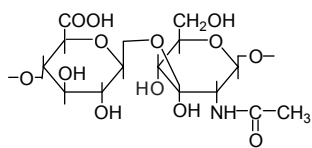
Камедями називаються полісахариди, що виділяються при ушкодженні кори рослин у вигляді в'язких розчинів і перетворюються на склоподібну масу. **Слизи** — споріднені камедям полісахариди, присутні у неушкоджених рослинах. Джерелами слизів служать кора, листя, корені тощо. Слизи є продуктом метаболізму рослин. Камеді утворюються в результаті патологічних процесів — механічного і бактеріального походження. Обидва типи утворень є гетерополісахаридами складного складу і будови.

Протеоглікани — сполуки, що складаються з білків і полісахаридів, у яких на частку полісахариду припадає основна частина молекули — звичайно більше 95 %. Вуглеводна частина в протеогліканах представлена **глікозаміногліканами** (кислими мукополісахаридами).

Глікозаміноглікани утворюються з повторюваних дисахаридних залишків, кожний з яких є похідною аміногексози — звичайно *D*-глюкозаміну чи *D*-галактозаміну. Щонайменше один із двох цукрів у повторюваному дисахаридному залишку глікозаміноглікану містить кислотну групу, що має при рН=7 негативний заряд — як правило, це карбоксильна чи сульфатна група.

Протеоглікани присутні в гелеподібній основній речовині, що заповнює в більшості тканин простір між клітинами. Крім того, вони містяться в хрящах, сухожиллях і шкірі, а також у *синовіальній рідині*, що виконує функцію змащування в суглобах. Молекули протеогліканів у розчині «розпушені» внаслідок відштовхування одноіменно заряджених ланцюгів глікозаміногліканів (займають великий об'єм). При збільшенні тиску об'єм, який займають молекули, зменшується, тому що рідина вичавлюється з проміжків. Якщо тиск зняти, молекула знову набуває розпушеної форми. Ця властивість дуже важлива для суглобів.

Гіалуронова кислота — це глікозаміноглікан міжклітинної основної речовини тканин тварин, що складається із залишків *D*-глюкуронової кислоти і *N*-ацетил-*D*-глюкозаміну, які багаторазово чергуються.

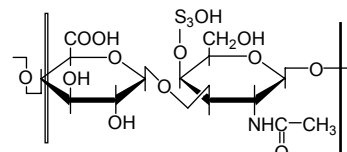


Гіалуронова кислота

Гіалуронова кислота утворює дуже в'язкі, гелеподібні розчини. Протеоглікановий гель обмежує дифузію і проникність для молекул і частинок. Фермент *гіалуронідаза*, який секретується деякими патогенними бактеріями, здатний гідролізувати глікозидні зв'язки гіалуронової кислоти і тим самим полегшувати проникнення бактерій у тканину.

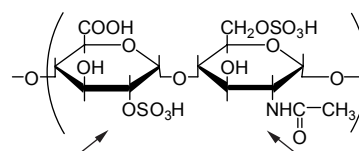
Хондроїтин-4-сульфат — основний компонент протеогліканів хряща, що складається з

D-глюкуронової кислоти і *N*-ацетил-*D*-галактоз-4-сульфату.



Хондроїтин-4-сульфат

Гепарин відомий як коагулянт, це — глікозаміноглікан. Він синтезується тучними клітинами.



Залишок *D*-глюкуронової 2-сульфату

Залишок *N*-ацетил-глюкозаміну-6-сульфату

Гепарин

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Вуглеводи: визначення, класифікація. Моносахариди (альдози і кетози; тріози, тетрози, пентози, гексози, гептози); біомедичне значення окремих представників.

2. Моносахариди: пентози (рибоза, 2-дезоксирибоза, ксилоза), гексози (глюкоза, галактоза, маноза, фруктоза) — будова, властивості. Якісні реакції на глюкозу.

3. Будова та властивості похідних моносахаридів. Амінопохідні: глюкозамін, галактозамін. Уронові кислоти. *L*-Аскорбінова кислота (вітамін С). Продукти відновлення моносахаридів: сорбіт, маніт.

4. Олігосахариди: будова, властивості. Дисахариди (сахароза, лактоза, мальтоза); їх біомедичне значення.

5. Полісахариди. Гомополісахариди: крохмаль, глікоген, целюлоза, декстрини — будова, гідроліз, біомедичне значення. Якісна реакція на крохмаль.

6. Гетерополісахариди: визначення, структура. Будова та біомедичне значення глікозаміногліканів (мукополісахаридів) — гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфатів, гепарину.

Глава 4. БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНІ СПОЛУКИ. НУКЛЕОЗИДИ, НУКЛЕОТИДИ, НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

4.1. КЛАСИФІКАЦІЯ, БУДОВА ТА ЗНАЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО ВАЖЛИВИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК

Циклічні сполуки, які у складі циклу, крім атомів Карбону, містять інші атоми, дістали на-

зву гетероциклічних (від грецьк. *heteros* — інший). Найбільше значення мають гетероциклічні сполуки з атомами Нітрогену, Сульфуру й Оксигену. Валентні кути між зв'язками у цих атомів майже не відрізняються від валентних кутів атомів Карбону у стані sp^3 - або sp^2 -гібри-

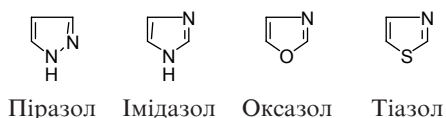
дизації. Тому такі цикли утворюються порівняно легко, додаткового напруження не виникає, не змінюється загальна геометрія молекул. Залежно від кількості атомів, що входять до циклу, їх підрозділяють на три-, чотири-, п'яти- та шестичленні з одним, двома чи більше гетероатомами. Три- та чотиричленні гетероцикли нестійкі. Тому клас гетероциклічних сполук утворюють, головним чином, п'яти- та шестичленні гетероцикли, які здебільшого не змінюються у разі хімічних перетворень. Широко розповсюджені гетероциклічні сполуки, в яких гетероцикл конденсований з бензеновим ядром або іншим гетероциклом.

П'ятичленні гетероциклічні сполуки

З одним гетероатомом:

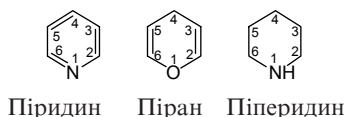


З двома гетероатомами (азоли):



Шестичленні гетероциклічні сполуки

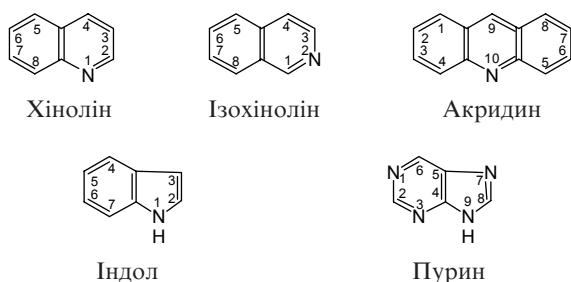
З одним гетероатомом:



З двома гетероатомами (діазини):



Гетероциклічні сполуки з конденсованими ядрами

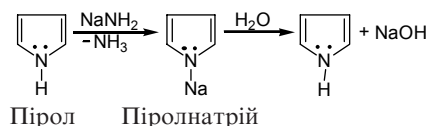


П'ятичленні ароматичні гетероцикли з одним гетероатомом

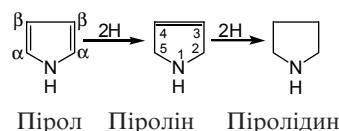
Група піролу

Пірол (від грецьк. *piros* — вогонь і лат. *oleum* — олія) має дуже важливе значення для життєдіяльності тваринних і рослинних організмів. Його ядро міститься у гемі, хлорофілі та багатьох інших біологічно активних сполуках. Молекула піролу планарна, у спряженні беруть участь 6 електронів ($4n+2$): чотири р-електрони атомів Карбону взаємодіють із вільною електронною парою атома Нітрогену.

Участь неподіленої пари електронів гетероатома в утворенні π -електронного секстету знижує основність піролу порівняно з вторинними ароматичними амінами і призводить до ослаблення зв'язку N–H, тобто атом Нітрогену в піролі набуває кислотності. Останнє доводиться реакцією з сильними основами з утворенням солі, яка розкладається водою:

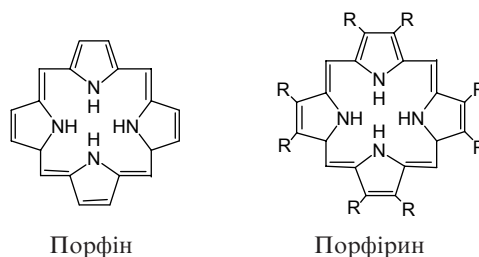


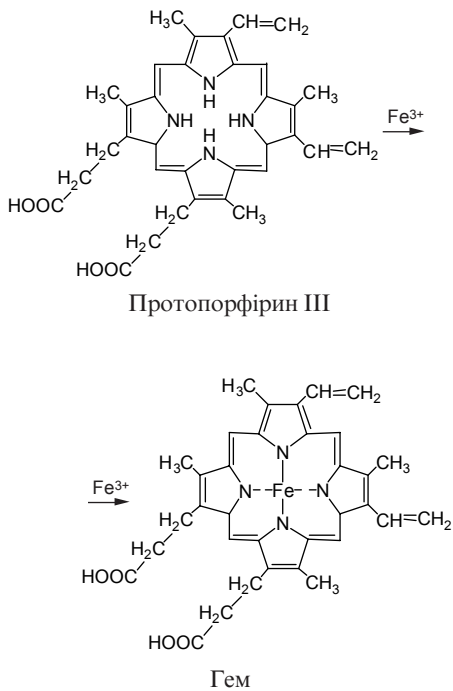
Електрофільне заміщення в піролі відбувається в лужному середовищі або за наявності електрофільних реагентів з основами типу піридину. Відновлення перебігає поступово, найбільш реакційними у піролі є α -вуглецеві атоми:



Піролідин — сильна основа. Його ядро входить до складу деяких природних сполук, лікарських засобів, алкалоїдів тощо.

Ядра піролу та продуктів його відновлення утворюють молекулу порфіну — циклічну тетрапірольну структуру. Похідні піролу (*порфірини*) в комплексі з атомами Феруму, Купруму, Магнію — *металопорфірини* — є компонентами складних білків (*міоглобіну*, *цитохромів*, *каталази*, *пероксидази*, *гемоглобіну*), які беруть участь у транспорті кисню та каталізі окисно-відновних реакцій у живих організмах.





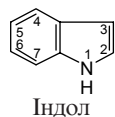
Порфіни, частково чи повністю заміщені в пірольних циклах, називаються порфіринами. Похідною порфірину, що входить до складу гемоглобіну, є *гем* — комплекс протопорфірину III (за старою номенклатурою Фішера — протопорфірин IX) з іоном Феруму (II).

Гемоглобін, у якого гем є активним центром, утворює з киснем нестійку молекулярну сполуку — оксигемоглобін, що легко дисоціює з виділенням кисню.

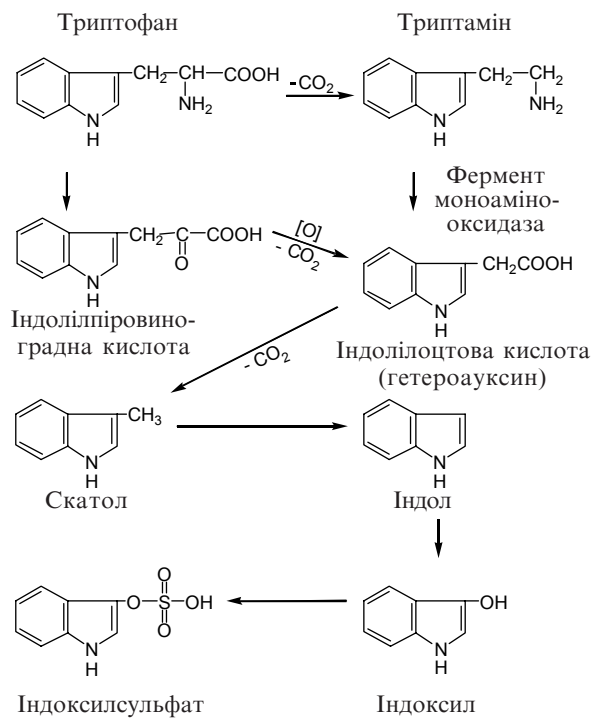
Г. Фішер (1935) виявив структуру гему та синтезував його. Розщеплення гему спричинює утворення лінійних тетрапірольних структур, головно з яких — *білірубін*.

Група індолу

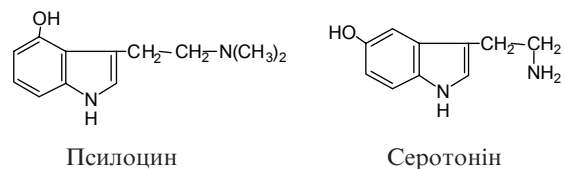
Індол (або бензопірол) — конденсований гетероцикл із ядрами піролу і бензену. Багато фізіологічно активних сполук містять ядра індолу. У природі індол зустрічається, головним чином, у вигляді похідних, здебільшого утворених із триптофану внаслідок різних біохімічних перетворень.



Індол — це кристалічна сполука з неприємним запахом екскрементів. Але в дуже малих концентраціях індол має запах жасмину, тому застосовується у виробництві парфумів. Ядро індолу міститься у ряді важливих сполук: триптофан, серотонін, триптамін, індоксил, алкалоїди, лікарські засоби. Індол утворюється при гнитті білків. У клітинах печінки індол, що надходить із кишечника, піддається детоксикації шляхом мікросомального окиснення (індоксил) та утворення складного ефіру з сульфатною кислотою (реакція кон'югації), який екскретується нирками у вигляді калієвої солі — *індикану*:



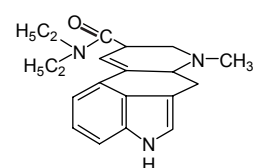
Концентрація індикану в сечі є біохімічним показником активності процесів гниття білків у кишечнику та функціонального стану печінки. Похідними триптаміну є псилоцин (4-гідроксидиметилтриптамін) і серотонін. Псилоцин був одержаний з отруйних шкірних виділень жаб, він є одним із найбільш сильнодіючих галюциногенів.



Галюциногени спричиняють у людини стан, подібний до сну, що супроводжується зоровими (кольоровими) та слуховими галюцинаціями.

Серотонін (5-гідрокситриптамін) відіграє роль одного з медіаторів нервової системи у людини і вищих тварин, регулює кров'яний тиск.

До групи речовин, що містять ядро індолу, також належать алкалоїди: стрихнін, резерпін, лізергінова кислота. Так, діетиламід лізергінової кислоти (ЛСД) — найактивніший із галюциногенів і найбільш сильнодіючий наркотик, його діюча доза — близько 1 мг.

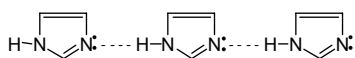


П'ятичленні гетероцикли з двома гетероатомами

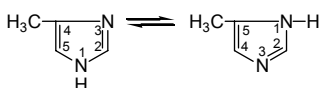
Група імідазолу

За наявності кількох гетероатомів у циклі з спряженими подвійними зв'язками електронна густина в кільці розподілена неоднаково, що позначається на хімічних властивостях цих сполук. Вони менш активні в реакціях електрофільного заміщення порівняно з п'ятичленними циклами з одним атомом Нітрогену, утворюють водневі зв'язки і мають схильність до таутомерних перетворень.

Молекули імідазолу утворюють водневі зв'язки за рахунок атома Гідрогену в положенні 1 і неподіленої електронної пари атома Нітрогену в положенні 3, що приводить до виникнення асоціатів:

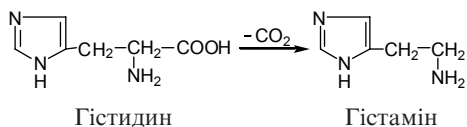


Наслідком такої асоціації є швидкий міжмолекулярний обмін атомами Гідрогену, наявність якого доводиться прототропною таутомерією для деяких похідних імідазолу:



4-Метилімідазол 5-Метилімідазол

Багато похідних імідазолу зустрічається в природі. Вони мають велике біологічне значення. Найважливішими є α -амінокислота гістидин і продукт її декарбоксілювання — гістамін.



Гістидин

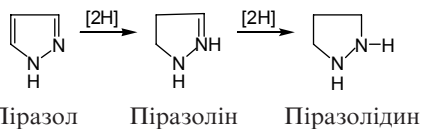
Гістамін

Гістидин (незамінна амінокислота) бере участь у біосинтезі білків, у тому числі й глобіну.

Імідазолне ядро входить до складу пуринових основ, кофеїну, теоброміну, сечової кислоти і пілокарпінових алкалоїдів.

Група піразолу

Піразол можна розглядати як похідне піролу, в якого група $\text{CH}=\text{N}$ заміщена одним гетероатомом Нітрогену. В піразолі в α -положенні перебуває другий атом Нітрогену, внаслідок чого він має основні властивості на відміну від піролу, але ароматичність ядра зберігається. За відновлення піразолу на першій стадії утворюється *піразолін*, а потім *піразолідин*:



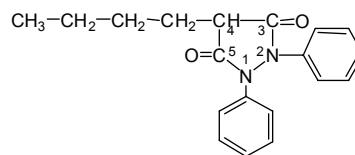
Піразол

Піразолін

Піразолідин

Ядро піразолідину є основою бутадіону, що

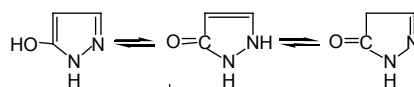
має анальгезуючі, жарознижувальні та протизапальні властивості. За протизапальною активністю він значно сильніший, ніж амідопірин або похідні саліцилової кислоти.



Бутадіон

1,2-дифеніл-4-бутилпіразолідиндіон-3,5

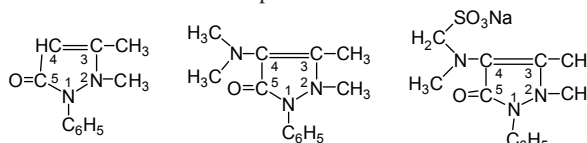
Ядро піразолу у вигляді оксопохідного є основою таких лікарських препаратів, як *антипірін*, *амідопірин* і *анальгін*, що використовуються як анагетика та жарознижувальні засоби.



Гідроксиформа

Оксоформи

Піразолон-5



Антипірін

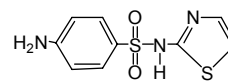
Амідопірін

Анальгін

Слабка розчинність амідопірину у воді робить неможливим його застосування у вигляді ін'єкцій, тому в молекулу амідопірину ввели залишок гідросульфату натрію і отримали новий препарат — анальгін.

Група тіазолу

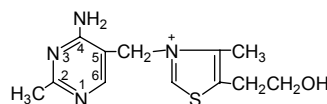
Тіазольне ядро входить до складу найважливіших природних і синтетичних біологічно активних і лікарських речовин: вітаміну B_1 (тіамін), пеніциліну та сульфаніламідних препаратів. Деякі сульфаніламідні препарати (у тому числі норсульфазол) мають високу активність проти кокових бактерій і кишкових інфекцій.



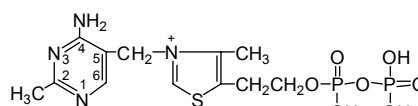
Норсульфазол

2-(пара-амінобензенсульфамідо)-тіазол

Тіамін (B_1) — один із найважливіших вітамінів. У його молекулі два гетероциклічних ядра — піримідинове та тіазольне, які з'єднані метиленовою групою.



Тіамін (вітамін B_1)



Кокарбоксілаза

Дефіцит вітаміну В₁ у продуктах харчування призводить до тяжкої хвороби під назвою берібері, що виявляється нервовими розладами, порушенням серцевої діяльності та захворюваннями шкіри. Потреба у вітаміні В₁ пов'язана з тим, що він у вигляді тіамініпірофосфату (кокарбоксілаза) входить до складу кількох ферментних систем, які каталізують процеси окиснювального декарбоксілювання багатьох α-кетокислот, і бере участь у синтезі ацетилкоензиму А. Кокарбоксілаза — складній ефір тіаміну та пірофосфорної кислоти.

Шестичленні гетероцикли з одним і двома гетероатомами

Група піридину

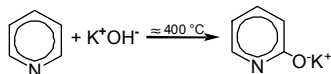
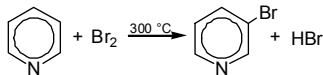
Ядро піридину входить до складу багатьох природних сполук, наприклад, алкалоїдів (нікотин, анабазин), вітамінів, коферментів, численних лікарських препаратів. До цієї групи належать гетероциклічні сполуки, які мають одне ядро з одним гетероатомом Нітрогену (піридин), а також сполуки з конденсованими ядрами — хінолін, ізохінолін і акридин.



Піридин

Піридин — ароматична сполука. Порівняно з бензеном він є менш реакційноздатним щодо електрофільних реагентів і більш реакційноздатним — щодо нуклеофільних реагентів.

Наприклад, бромування, гідроксилювання піридину — реакція електрофільного заміщення:

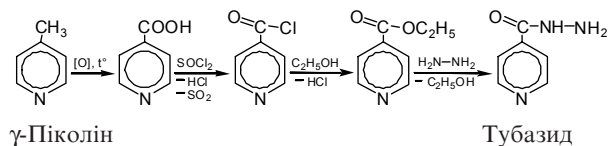


Реакція нуклеофільного заміщення відбувається тільки з сильними нуклеофільними реагентами (луги реагують із піридином тільки при $t=400^\circ\text{C}$ з утворенням солі α-піридинів). Із біохімічної точки зору, важливими є такі похідні піридину, як нікотинава й ізонікотинава кислоти, амід нікотинавої кислоти і деякі інші похідні.

Ізонікотинава кислота

Широкого застосування у фтизіатрії сьогодні набув протитуберкульозний препарат тубазид — гідразид ізонікотинавої кислоти (ізоніазид).

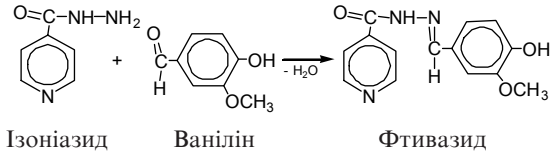
Ізонікотинавову кислоту отримують окисненням γ-піколіну:



γ-Піколін

Тубазид

Високою протитуберкульозною активністю, що перевищує активність пара-аміносаліцилової кислоти (ПАСК) і антибіотика стрептоміцину, характеризуються продукти конденсації ізоніазиду з оксисполуками — це фтивазид, салюзид, ласуран тощо. Фтивазид є продуктом конденсації ізоніазиду (тубазиду) та ваніліну:



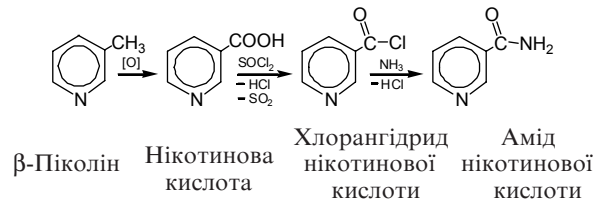
Ізоніазид

Ванілін

Фтивазид

Нікотинава кислота, нікотинамід

Вітамін РР, або амід нікотинавої кислоти, застосовується як протипеларгічний засіб, він є складовою частиною близько 100 ферментів, структурною одиницею коферментів НАД⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотид) та НАДФ⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат), які разом із відповідними білками каталізують процес перенесення Гідрогену. Амід нікотинавої кислоти одержують із β-піколіну:



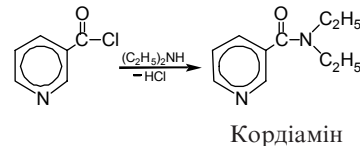
β-Піколін

Нікотинава кислота

Хлорангідрид нікотинавої кислоти

Амід нікотинавої кислоти

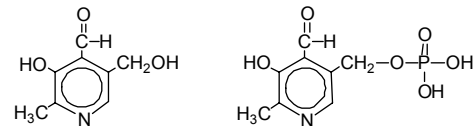
Діетиламід нікотинавої кислоти (кордіамін) є ефективним стимулятором ЦНС. Кордіамін одержують із хлорангідриду нікотинавої кислоти:



Кордіамін

Вітамін В₆

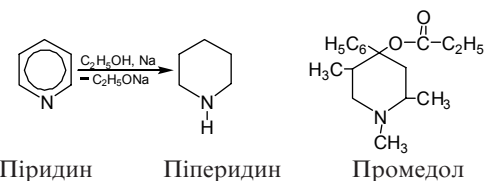
Піридинове ядро міститься в піридоксалі, піридоксаміні та піридоксолі (піридоксині). Фосфорильовані похідні вітаміну В₆ (піридоксальфосфат і піридоксамінфосфат) виконують коферментні функції в реакціях обміну амінокислот.



Піридоксаль

Піридоксальфосфат

Ядро піперидину лежить в основі деяких синтетичних замінників морфіну — промедолу та ін.:

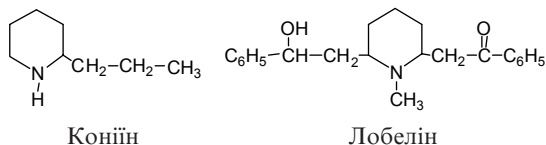


Піридин

Піперидин

Промедол

За своєю дією на ЦНС промедол близький до морфіну: він знижує чутливість ЦНС до больових імпульсів, знижує умовні рефлекс, але меншою мірою, ніж морфін, пригнічує дихальний центр і збуджує центр блукаючого нерва. Піперидинове ядро міститься в алкалоїдах, які мають різний вплив на ЦНС.



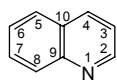
Коніїн

Лобелін

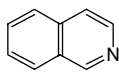
Коніїн токсичний, він паралізує нервові закінчення. Лобелін та алкалоїди, близькі до нього за структурою, застосовують у вигляді гідрохлоридів як ефективні засоби, що стимулюють дихання.

Група хіноліну

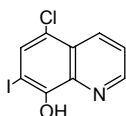
Хінолін та ізохінолін належать до конденсованої системи піридину і бензенного ядра. Похідними хіноліну є деякі природні алкалоїди, наприклад, хінін і цинхонін — протималарійні та жарознижувальні засоби. Гідроксильований хінолін — структурний компонент деяких ліків, що характеризуються антибактеріальною та протигрибковою активністю. Препарати, що містять ядро хіноліну, застосовуються як хіміотерапевтичні й антисептичні засоби (ентеросептол, нітросолін):



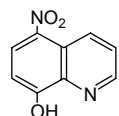
Хінолін



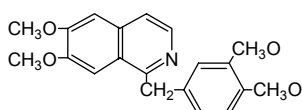
Ізохінолін



Ентеросептол



5-НОК (або нітросолін)



Папаверин

Ізохінолінове ядро входить до складу деяких алкалоїдів, що мають знеболювальний (морфін) і протисудорожний (папаверин) ефект.

Група піримідину

Шестичленні гетероциклічні сполуки з двома гетероатомами називаються *азинами*. Наявність другого атома Нітрогену в ядрі значно знижує його електронну густину, особливо в положенні 2, 4, 6. У реакції електрофільного заміщення азини практично не вступають. Їх реакційна здатність помітно збільшується у разі введення електроннодонорних замісників (-ОН, -NH₂).



1,2-Діазин
(піридазин)

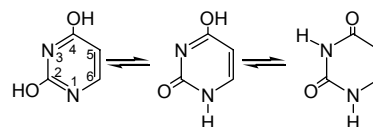


1,3-Діазин
(піримідин)

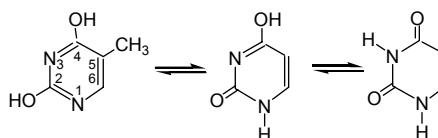


1,4-Діазин
(піразин)

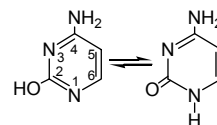
Ядро піримідину входить до складу багатьох біологічно активних сполук: деяких вітамінів, ліків, нуклеїнових кислот тощо. Особливо важливі гідрокси- та амінопохідні піримідину: урацил, тимін і цитозин — компоненти нуклеїнових кислот. Їм притаманна лактимлактамна таутомерія:



Урацил (2,4-дигідроксипіримідин)

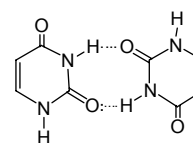


Тимін (2,4-дигідрокси-5-метилпіримідин)



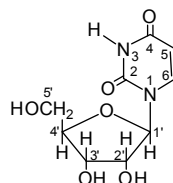
Цитозин (4-аміно-2-гідроксипіримідин)

Урацил, тимін, цитозин — тверді сполуки, мають високу температуру плавлення, розчинні у воді, але нерозчинні в неполярних органічних розчинниках. Для них характерна наявність міжмолекулярних водневих зв'язків, які відіграють значну роль у формуванні просторової структури нуклеїнових кислот.

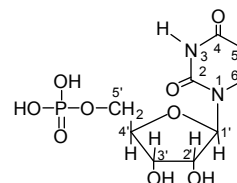


Урацил (димер)

У нуклеїнових кислотах урацил, тимін і цитозин перебувають у вигляді β-глікозидів рибози чи дезоксирибози — *нуклеозидів*. Фосфорильовані нуклеозиди утворюють групу нуклеотидів:



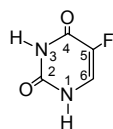
Уридин
(нуклеозид)



Уридилова кислота
(нуклеотид)

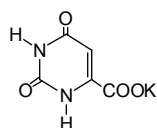
Фторпохідні урацилу та тиміну застосовуються в онкології для лікування деяких форм он-

кологічних захворювань. 5-Фторурацил належить до групи антиметаболітів. Протипухлинна активність препарату залежить від його перетворення в ракових клітинах на речовину, яка є конкурентним інгібітором ферменту (тимідинсинтетаза), що бере участь у синтезі ДНК.



5-Фторурацил

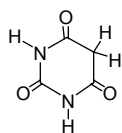
Калієва сіль урацил-6-карбонової (оротової) кислоти — стимулятор обмінних процесів.



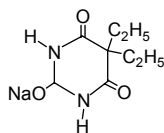
Оротат калію

Гідроксипохідні піримідину

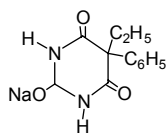
Наявність гідроксильних груп надає похідним піримідину кислотних властивостей. Так, 2,4,6-тригідроксипіримідин (барбітурова кислота) сильніший за оцтову кислоту. Для барбітурової кислоти характерні два види таутомерії — лактимлактамна та кето-енольна. Як снотворні та протисудомні засоби в медицині застосовують 5,5-дизаміщені похідні барбітурової кислоти — барбітурати. Вони утворюють водорозчинні солі. Для барбітуратів можлива тільки лактимлактамна таутомерія.



Барбітурова кислота



Веронал

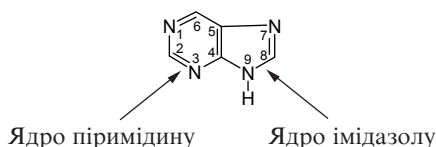


Люмінал

Біциклічні гетероцикли

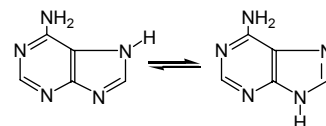
Група пурину

Найбільш розповсюдженими в природі біциклічними гетероциклами є сполуки пуринового та птеридинового ряду. Пурин — це конденсована система, яка складається з двох гетероциклів — піримідину й імідазолу.



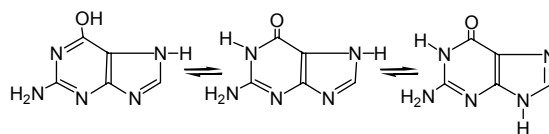
Пурин — це ароматична сполука, він стійкий до дії окисників, добре розчинний у воді, амфотерний, утворює солі не тільки з сильними кислотами (Нітроген піримідинового ядра), але і з

лужними металами (NH-група). Найбільше біологічне значення мають гідрокси- та амінопохідні пурину. Так, амінопурини (аденін і гуанін) поряд із цитозиним, тиміном та урацилом є азотистими основами нуклеїнових кислот. Вони входять до складу деяких коферментів. Для аденіну можлива прототропна таутомерія за рахунок міграції атома Гідрогену між N₇ та N₉.



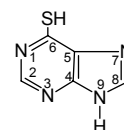
Аденін

Завдяки наявності гідроксильної групи гуанін може перебувати в двох таутомерних формах.



Гуанін

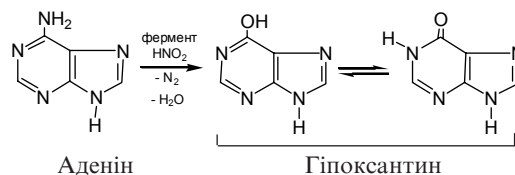
Похідне пурину 6-меркаптопурин застосовується для лікування хворих на гострий лейкоз або хронічний мієлолейкоз.



6-Меркаптопурин

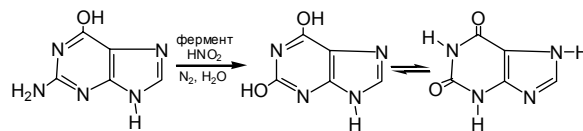
Антилейкемічна активність 6-меркаптопурину пов'язана з його біологічною дією як антиметаболіту пуринів. 6-Меркаптопурин активно втручається в обмін пуринів, спричиняючи порушення синтезу нуклеїнових кислот. Особливо ця дія виявляється в деяких пухлинних клітинах і незрілих лейкоцитах.

Аденін і гуанін легко дезамінують ферментативно або під дією HNO₂, утворюючи гіпоксантин і ксантин (продукти метаболізму азотистих основ пурину):



Аденін

Гіпоксантин



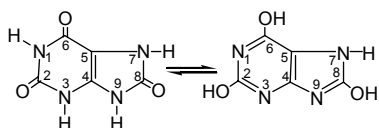
Гуанін

Ксантин

Велике значення для медичної практики мають метильовані за атомом Нітрогену ксантини: теофілін, теобромін і кофеїн. Вони збуджують ЦНС, а у малих кількостях підвищують працездатність.



Теобромін міститься в зернах какао (близько 1,8 %), теофілін і кофеїн — у листі чаю та зернах кави. Сечова кислота (2,6,8-тригідроксипурин) є одним із кінцевих продуктів метаболізму нуклеїнових кислот. Вона виводиться з сечею (близько 1 г на добу).



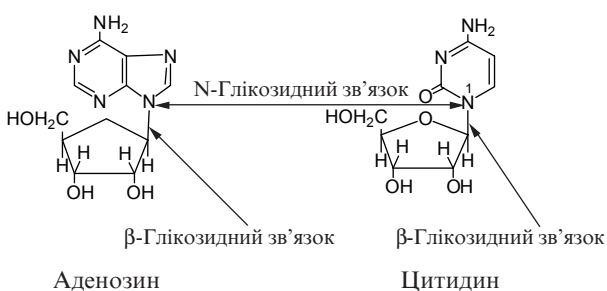
Сечова кислота (2,6,8-тригідроксипурин)

При порушенні обміну речовин в організмі солі сечової кислоти (урати) відкладаються в суглобах (подагра), а також у вигляді ниркових каменів.

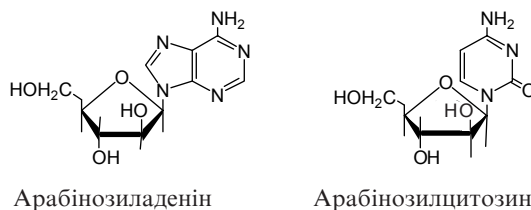
4.2. СТРУКТУРА ТА БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ НУКЛЕОЗИДІВ І НУКЛЕОТИДІВ

Нуклеозиди

Азотисті основи, з'єднуючись із пентозами, утворюють сполуки, що дістали назву нуклеозидів. Пуринові основи через 9-й атом азоту, а піримідинові — через 1-й утворюють N-глікозидний зв'язок із рибозою або 2'-дезоксирибозою.



Проте частіше використовують назви, які походять від тривіальної назви відповідної азотистої основи із закінченням *-идин (-идин)* у піримідинових і *-озин* — у пуринових нуклеозидів. Важлива роль рибози і дезоксирибози в утворенні нуклеїнових кислот стала підґрунтям для створення лікарських засобів методом модифікації природних нуклеозидів. Так, у структурі аденінових нуклеозидів, які є нормальними складовими нуклеїнових кислот (метаболіти), β-рибозу і 2-дезоксирибозу замінюють у синтетичних лікарських препаратах на епімер D-рибози — D-арабінозу.



Арабінозиладенін та арабінозилцитозин виявляють антивірусну активність. За будовою вони близькі до природного нуклеозиду, проте незначна зміна в будові й конфігурації С-2' атома Карбону виявилася достатньою для того, щоб ці сполуки виконували роль інгібітора ДНК.

Нуклеотиди

Нуклеотиди — це фосфати нуклеозидів. Найчастіше в нуклеозиді етерифікується гідроксильна група біля С-5' або С-3' пентозного залишку. Залежно від будови пентози розрізняють рибонуклеотиди і дезоксирибонуклеотиди (рис. 4.1).

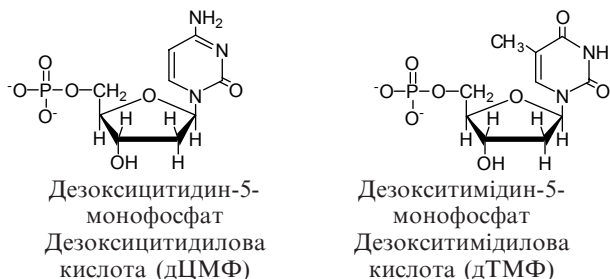
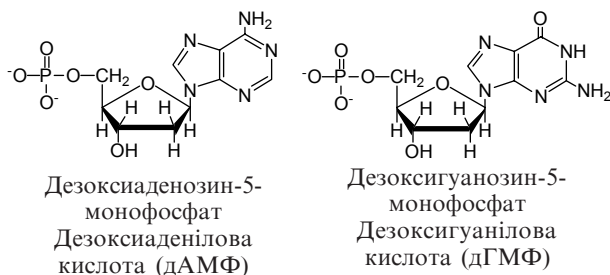
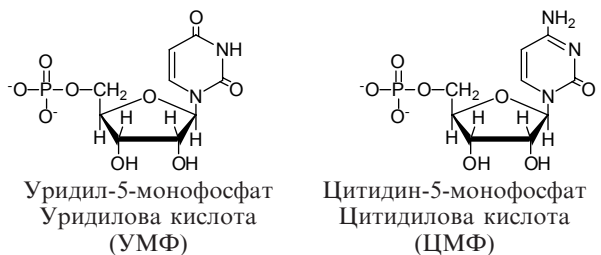
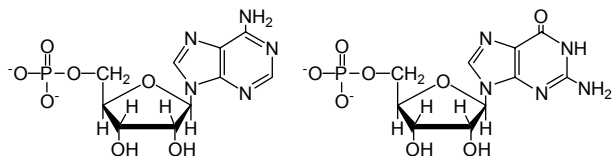
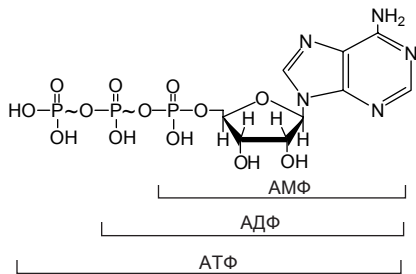


Рис. 4.1. Мононуклеотиди
Скорочені позначення: АМФ, ЦМФ тощо завжди відносяться до 5'-нуклеотидів

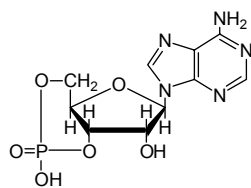
У скороченій назві інших нуклеотидів (наприклад у 3'-похідних) завжди проставляється положення фосфорної кислоти: 3'-АМФ, 3'-дАМФ тощо.

Нуклеотиди входять до складу не тільки нуклеїнових кислот, але й складних ферментних систем. Вони можуть також перебувати у вільному стані.

До нуклеозидмонофосфатів можуть приєднуватися за допомогою фосфоангідридного зв'язку ще один або два залишки фосфорної кислоти. При цьому утворюються нуклеозидтрифосфати: АМФ, АДФ і АТФ, які виконують важливу роль в обмінних процесах організму. Так, АТФ бере участь в енергетичному обміні організму, є однією з основних макроергічних сполук. При відщепленні від АТФ однієї або двох молекул фосфорної кислоти, з'єднаних між собою макроергічним зв'язком (-), виділяється 32–42 кДж/моль енергії, тоді як енергія звичайного фосфатного зв'язку — 8–12 кДж/моль. В обміні речовин та енергії беруть участь й інші фосфорильовані нуклеотиди: ГТФ, ЦТФ, УТФ та ін.



Окрім зазначених, відомі нуклеотиди, в яких фосфорна кислота одночасно етерифікує (зв'язує) дві гідроксильні групи пентозного залишку, утворюючи циклофосфати. Практично в усіх клітинах присутні два циклічних нуклеотиди — цАМФ і цГМФ, які є найважливішими регуляторами внутрішньоклітинних процесів.

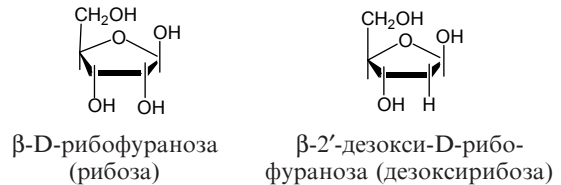


Аденозин-3',5'-цикломонофосфат (цАМФ)

4.3. БУДОВА ТА БІОЛОГІЧНА РОЛЬ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

Нуклеїнові кислоти — це високомолекулярні органічні сполуки, які складаються з великої кількості залишків мононуклеотидів (нуклеотидів), з'єднаних 3',5'-фосфодієфірними зв'язками в полінуклеотидні ланцюги, і виконують важливу роль у збереженні й передачі генетичної інформації, беруть участь у біосинтезі та регуляції біосинтезу специфічних білків живого організму.

За умови повного гідролізу нуклеїнової кислоти утворюються пуринові та піримідинові азосугариди — пентоза (рибоза або дезоксирибоза) і фосфорна кислота. Усі нуклеїнові кислоти поділяються на два типи залежно від того, яка пентоза входить до їхнього складу. Нуклеїнова кислота називається рибонуклеїновою (РНК), якщо до її складу входить рибоза, або дезоксирибонуклеїновою (ДНК) — якщо дезоксирибоза:



Будова полінуклеотидного ланцюга. Нуклеотиди є мономерними одиницями олігонуклеотидів і полінуклеотидів. Олігонуклеотиди містять у своєму складі кілька мономерів, а полінуклеотиди — багато. Роль містка між нуклеотидами виконує 3',5'-фосфодієфірний зв'язок, який з'єднує С-3'-рибози (або 3'-дезоксирибози) одного нуклеотиду і С-5' — другого. У зв'язку з цим полінуклеотидний ланцюг має певний напрямок: на одному кінці (початок ланцюга) залишається вільною 5'-ОН, на іншому — 3'-ОН група (кінець ланцюга) (рис. 4.2). Тому кінці лінійного (нерозгалуженого) полінуклеотидного ланцюга позначають 5'-кінець (ліворуч) і 3'-кінець (праворуч), оскільки написання ланцюга починають із 5'-кінця. У цьому випадку загальний напрямок утворення фосфодієфірних зв'язків у ланцюгу позначається 5' → 3'.

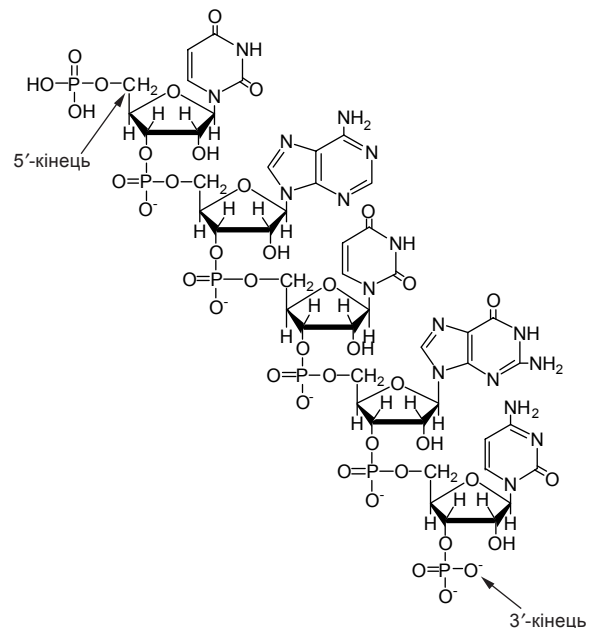


Рис. 4.2. Полінуклеотид РНК

Дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК)

Структура нуклеїнових кислот краще вивчена у найпростіших живих організмів — прокаріотів (бактерії, рикетсії, мікоплазми, синьозелені водорості). У клітинах прокаріотів міститься одна хромосома, яка складається з однієї молекули ДНК, не відокремленої від цитоплазми мембраною (немає оформленого ядра). У клітинах еукаріотів (тварини, рослини, гриби, більшість різновидів водоростей) знаходиться ядро, оточене мембраною. Ядерний матеріал розподіляється між кількома хромосомами, основа яких — це ДНК, білки (головним чином, гістони) і велика кількість РНК.

Первинна структура ДНК — кількість, якість і порядок розташування залишків дезоксирибонуклеотидів у полінуклеотидному ланцюзі.

Мономери в молекулах нуклеїнових кислот з'єднані складнофірним зв'язком, який утворюється фосфатним залишком одного нуклеотиду та 3'-ОН пентозного залишку другого нуклеотиду (3',5'-фосфодієфірний зв'язок) (рис. 4.3):

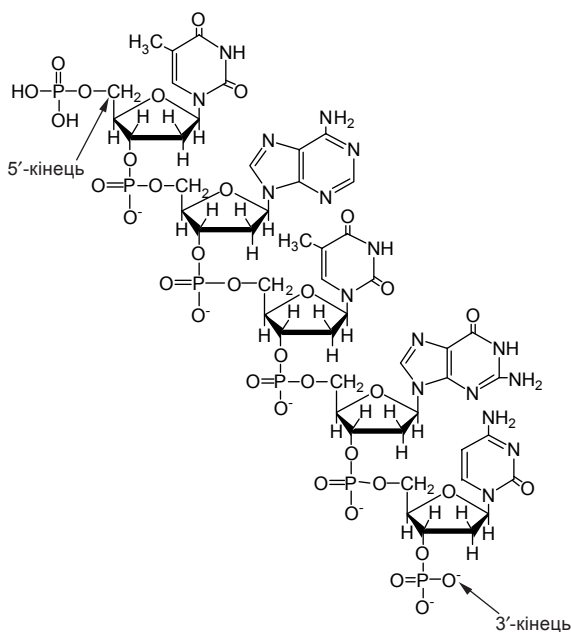


Рис. 4.3. Первинна структура ДНК

Нуклеїнові кислоти — полінуклеотиди, азотисті основи ДНК: аденін, гуанін, цитозин і тимін.

Із чотирьох різних нуклеотидів можна побудувати велику кількість нуклеїнових кислот, які відрізняються первинною структурою.

Вторинна структура ДНК — це просторова організація полінуклеотидних ланцюгів в її молекулі. З'ясування вторинної структури ДНК — одне з найважливіших досягнень біології, оскільки при цьому одночасно було відкрито механізм передачі спадкової інформації через покоління.

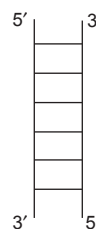
Біологічна функція нуклеїнових кислот ґрунтується переважно на властивостях основ утворювати специфічно (комплементарно) зв'язані пари азотистих основ. Першим доказом існування таких структур став той факт, що в кожному типі ДНК міститься приблизно однакова кількість аденіну і тиміну, а також гуаніну і цитозину.

Правило Чаргаффа: у ДНК кількість пуринових нуклеотидів дорівнює кількості піримідинових нуклеотидів:

$$A + G = C + T$$

Виходячи із правила Чаргаффа, Дж. Вотсон і Ф. Крик (Великобританія) запропонували модель будови ДНК (1953).

1. Молекула ДНК побудована з двох полінуклеотидних ланцюгів, орієнтованих антипаралельно і на всьому протязі з'єднаних між собою водневими зв'язками.



2. Водневі зв'язки утворюються за рахунок специфічної взаємодії A=T (два водневих зв'язки) та G≡C (три водневих зв'язки).

Основи, які утворюють пару, комплементарні одна одній (від лат. *complementum* — засіб поповнення). Такий порядок співвідношення азотистих основ (а також нуклеотидів), при якому аденін вибірково взаємодіє з тиміном (A=T), а гуанін — із цитозином (G≡C), називається комплементарністю.

3. Первинна структура одного ланцюга молекули ДНК комплементарна первинній структурі іншого ланцюга.

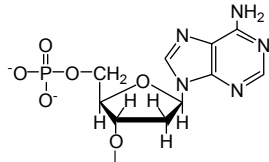
4. Два ланцюги закручені у спіраль, яка має загальну вісь. Довжина витка — 34 Å, виток має близько 100 залишків азотистих основ, діаметр — 1,8–2,0 нм. Пуринові та піримідинові основи звернені всередину спіралі; їхні площини перпендикулярні осі спіралі та паралельні між собою, отже, виходить стопка основ. Між основами у цій стопці виникають гідрофобні взаємодії, які здійснюють основний внесок у стабілізацію подвійної спіралі — стекінг-взаємодія (від англ. *stack* — штабель).

A T
G Ц
Ц G
A T
T A

Оскільки ланцюги зв'язані тільки нековалентними взаємодіями, подвійна спіраль при нагріванні легко розпадається на окремі ланцюги (денатурує). При повільному охолодженні раніше неупорядковані окремі ланцюги завдяки спарюванню основ знову утворюють подвійну спіраль (ренатурують).

Процеси де- і ренатурації відіграють важливу роль у *генній інженерії*. У функціональному відношенні два ланцюги ДНК не є еквівалентними. Кодуючим (матричним) ланцюгом є той із них, що зчитується в процесі транскрипції. Саме цей ланцюг служить матрицею для РНК. Некодуючий ланцюг за послідовністю подібний до РНК (за умови заміни Т на У).

Нуклеїнові кислоти — це досить *сильні кислоти*, повністю іонізовані в біосферах, тому їхня послідовність несе *негативний заряд*:



Нуклеїнові кислоти взаємодіють із білками, які містять додаткові аміногрупи (так звані *слабоосновні білки* — *гістони*). ДНК із білками утворюють *нуклеопротейни*.

Необхідно зауважити, що конфігурація подвійної спіралі ДНК сильно змінюється залежно від вмісту води та іонної сили навколишнього середовища. Методами рентгеноструктурного аналізу доведено існування не менше чотирьох форм ДНК, які дістали назву А-Е і Z-форм.

Нині відомо, що між А- і В-формами ДНК здійснюються взаємні переходи. В-форма ДНК найбільше відповідає моделі Дж. Уотсона і Ф. Крика. Ці переходи, які відбуваються під впливом розчинників або білків, очевидно, мають певний біологічний зміст. Вважається, що в А-формі ДНК виконує роль матриці в процесі транскрипції (синтез РНК на молекулі ДНК), а у В-формі — роль матриці в процесі реплікації (синтез ДНК на молекулі ДНК).

В *А-конформації* ДНК зберігається права подвійна спіраль, однак, на відміну від В-форми, основи вже не перпендикулярні осі, а знаходяться під іншим кутом.

В *Z-конформації*, яка може утворюватися в ділянках *В-ДНК*, багатих на гуанін і цитозин, положення нуклеотидів цілком інше, подвійна спіраль *скручена вліво*, а остов має характерну *zigzagоподібну форму*.

Третинна структура ДНК. Дослідження будови ДНК показало, що лінійні двоспіральні або кільцеві форми ДНК у просторі утворюють спіралізовані та суперспіралізовані форми (тобто третинні структури).

Третинна структура ДНК прокариотів і еукариотів має особливості, пов'язані з будовою та функціями їхніх клітин. Для третинної структури ДНК вірусів і бактеріофагів характерною є наявність специфічної суперспіралізації одно- або дволанцюгових або кільцевих форм. Третинна структура ДНК еукариотичних клітин утворюється завдяки багаторазовій суперспіралізації молекули, однак, на відміну від прокариотів, вона реалізується у формі комплексів ДНК і білків.

ДНК еукариотів майже вся знаходиться в хромосомах ядер, лише невелика її кількість містить-

ся в мітохондріях, а у рослин — ще й у пластидах. Сумарний матеріал хромосом — хроматин, він містить ДНК, гістони та негістонові білки, невелику кількість РНК та іонів металів. Близько 50 % хроматину — це прості білки гістони, які за вмістом залишків амінокислот аргініну і лізину поділяються на п'ять груп: H_1 , H_2A , H_2B , H_3 , H_4 . Так, гістон H_1 дуже багатий на лізин, а гістон H_4 — на аргінін.

Рибонуклеїнові кислоти

Первинна структура РНК — кількість, якість і послідовність розташування залишків рибонуклеотидів у полінуклеотидному ланцюзі. Азотисті основи — урацил, цитозин, аденін, гуанін. У РНК можна також зустріти багато незвичних і модифікованих азотистих основ.

Вторинна структура. На відміну від ДНК, РНК не утворює подвійних спіралей, але містить короткі ділянки зі спареними основами, у вигляді коротких двоспіральних «шпильок», «петель», у яких між азотистими основами виникають водневі зв'язки, утворюючи комплементарні пари аденіну з урацилом (А-У), гуаніну з цитозином (Г-Ц). Характерною особливістю вторинної структури РНК є те, що полінуклеотидний ланцюг її спіралізований не повністю (для них РНК від 10 до 70 %).

РНК клітини істотно розрізняються за розмірами, будовою та тривалістю існування. Переважна частина — *рибосомні РНК* (рРНК), які утворюють структурні та функціональні частини рибосом. Рибосомні РНК синтезуються в ядрі, там же піддаються процесингу й асоціюють із рибосомними білками, утворюючи рибосому. На частку рРНК припадає близько 80 % усієї РНК клітини.

Матричні РНК (мРНК) становлять близько 2 % від усіх РНК клітини, переносять генетичну інформацію. Її транскрипти також значно модифікуються в ядрі (процес дозрівання мРНК). Оскільки з мРНК зчитується на рибосомі кодон за кодоном, вона не повинна складатися в стабільну третинну структуру. Спарюванню основ перешкоджають білки, асоційовані з мРНК.

У сплайсингу попередників мРНК беруть участь *малі ядерні РНК* (мяРНК), вони асоційовані з рядом білків, утворюючи «сплайсосоми».

Транспортні РНК (тРНК) становлять близько 15 % усієї РНК клітини. Існує кілька десятків видів тРНК. Молекули транспортних РНК зазвичай містять близько 75 нуклеотидів. Завдяки кільком внутрішньоланцюговим комплементарним ділянкам усі тРНК мають вторинну структуру, що дістала назву «конюшиний лист».

Молекули всіх видів тРНК мають чотири основних плеча. *Акцепторне плече* складається з «стебла» спарених нуклеотидів і закінчується послідовністю ЦЦА ($5' \rightarrow 3'$).

За допомогою $3'$ -ОН групи аденозильного залишку відбувається зв'язування з карбоксильною групою амінокислоти. *Антикодонове плече* розпізнає нуклеотидний триплет, або *кодон* у

мРНК. Дплече назване так через наявність у ньому дигідроуридину.

ТФЦплече назване за послідовністю ТПсевдоуридин-Ц. Додаткове плече являє собою найбільш варіабельну структуру і є основою класифікації тРНК.

Вторинна структура, обумовлена системою комплементарних взаємодій нуклеотидних основ відповідних плечей, характерна для всіх видів тРНК.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. П'ятичленні гетероцикли з одним гетероатомом (пірол, фуран, тіофен). Біомедичне значення тетрапірольних сполук: порфінів, порфіринів, гему.

2. Індол і його похідні: триптофан, реакції утворення триптаміну та серотоніну; індоксил, скатол, скатоксил — значення в процесах гниття білків у кишечнику.

3. П'ятичленні гетероцикли з двома гетероатомами азоту. Піразол, піразолон; похідні піразолону-5 як лікарські засоби (антипірін, амідопірін, анальгін). Імідазол і його похідні: гістидин, гістамін.

4. П'ятичленні гетероцикли з двома різними гетероатомами: тiazол, оксазол. Тiazол як структурний компонент молекули тіаміну (вітаміну В₁).

5. Шестичленні гетероцикли з атомом Нітрогену: піридин. Нікотинамід (вітамін РР) як складова частина окисно-відновних піридинових коферментів. Піридоксин і молекулярні форми вітаміну В₆.

6. Шестичленні гетероцикли з двома атомами Нітрогену. Діазини: піримідин, піразин, піридазин. Азотисті основи — похідні піримідину (урацил, цитозин, тимін).

7. Похідні піримідину як лікарські засоби: 5-фторурацил, оротат калію. Барбітурова кислота; барбітурати як снодійні та протиепілептичні засоби (фенобарбітал, веронал).

8. Пурин і його похідні. Амінопохідні пурину (аденін, гуанін), їх таутомерні форми; біохімічне значення в утворенні нуклеотидів і коферментів.

9. Гідроксипохідні пурину: гіпоксантин, ксантин, сечова кислота. Метильовані похідні ксантину (кофеїн, теофілін, теобромін) як фізіологічно активні сполуки з дією на центральну нервову та серцево-судинну систему.

10. Нуклеозиди, нуклеотиди. Азотисті основи пуринового і піримідинового ряду, що входять до складу природних нуклеотидів. Мінорні азотисті основи.

11. Нуклеозиди. Нуклеотиди як фосфорильовані похідні нуклеозидів (нуклеозидмоно-, ди- і трифосфати). Номенклатура нуклеозидів і нуклеотидів як компонентів РНК та ДНК.

12. Будова та біохімічні функції вільних нуклеотидів: нуклеотиди-коферменти; циклічні нуклеотиди 3',5'-цАМФ та 3',5'-цГМФ.

13. Нуклеїнові кислоти (дезоксирибонуклеїнові, рибонуклеїнові) як полінуклеотиди. Полярність полінуклеотидних ланцюгів ДНК та РНК.

14. Будова та властивості ДНК; нуклеотидний склад, комплементарність азотистих основ. Первинна, вторинна і третинна структура ДНК.

15. РНК: будова, типи РНК та їх роль у біосинтезі білків.

Глава 5. ВСТУП У БІОХІМІЮ.
БІОХІМІЧНІ КОМПОНЕНТИ КЛІТИН

Предметом вивчення біохімії є хімічний склад і хімічні реакції, що відбуваються в організмі людей, тварин, мікроорганізмів. Найважливішою рисою біохімічних перетворень є те, що вони відбуваються ферментативним шляхом і тісно пов'язані між собою. Єдність обміну речовин у організмі обумовлює його життєдіяльність, оскільки це не тільки зв'язок протилежно спрямованих процесів (анаболізму і катаболізму), але й єдність обміну окремих класів органічних сполук між собою (вуглеводів, ліпідів, білків), що дозволяє організму у разі ушкодження певних ланок метаболізму одного класу речовин компенсаторно залучати до метаболізму речовин інших класів, тим самим підвищуючи резистентність до ушкоджуючого впливу факторів внутрішнього і зовнішнього середовища.

Важливою особливістю живих організмів є наявність біологічних мембран, що дозволяє впорядкувати переміщення речовин із міжклітинного простору до клітин і в протилежному напрямку. За участю біологічних мембран формуються субцелюлярні структури (ядра, мітохондрії, рибосоми, лізосоми та ін.), відбувається компартменталізація метаболічних процесів. Залежно від хімічного складу мембран формується їх функціональна здатність.

5.1. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ БІОЛОГІЧНИХ МЕМБРАН

Плазматична мембрана. Зовнішня мембрана клітини дістала назву плазматичної мембрани. Її роль полягає в тому, що вона: 1) відокремлює вміст клітини від навколишнього середовища; 2) регулює надходження в клітину молекул та іонів і вихід їх назовні; 3) у ній перебувають різні ферменти й рецептори, природа яких залежить від особливостей даної клітини.

Мембрани клітинного ядра. Багато клітин мають ядро, в якому зберігається генетичний ма-

теріал (хроматин). Цей матеріал потребує захисту, який здійснюється зовнішньою й внутрішньою мембранами клітинного ядра. У деяких місцях ці мембрани ядра замикаються; тут утворюються пори («дірки»), заповнені якимось матеріалом. Через ці пори проходять молекули й іони з цитоплазми в ядро й назад (у тому числі й нуклеїнові кислоти).

Мітохондріальні мембрани. Мітохондрії забезпечують клітину енергією. Кожна мітохондрія складається з двох мембран — зовнішньої й внутрішньої. Зовнішня мембрана гладка, а внутрішня утворює складки (вип'ячування), які називаються кристами. Ці мембрани відділені одна від одної міжмембранним водним простором. Порожнина, утворена внутрішньою мембраною, заповнена драгледоподібною рідиною, що дістала назву матрикс.

Лізосоми. Ці субклітинні утворення являють собою оточені мембраною пухирці. До складу лізосом входять ферменти, що розщеплюють білки, нуклеїнові кислоти, полісахариди та інші речовини.

Ендоплазматичний ретикулум. Ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) — ще один вид внутрішньоклітинних мембран. Це глибокі складки, що безпосередньо примикають до плазматичної мембрани; ЕПР складається з безлічі пухирців і каналців. Він неоднорідний і містить різні мембрани, що відрізняються між собою за структурою, складом й виконуваними функціями; мембрани об'єднані в єдину систему й точно взаємодіють між собою. До частини мембран ЕПР прикріплені рибосоми, тому ці мембрани називають шорсткуватими. У рибосомах відбувається біосинтез білка. Мембрани ЕПР, що не несуть рибосом, називаються гладкими. Гладкі мембрани ЕПР у клітинах печінки беруть участь у знешкодженні різних речовин, які порушують роботу клітини (наприклад, лікарських речовин, гербіцидів, пестицидів тощо). До мембран ЕПР примикає так званий апарат Гольджі, що складається з обмежених мембранами пухирців і цистерн. Функції апарата Гольджі: білки, синтезовані рибосома-

ми, переміщуються до апарату Гольджі й проходять через нього. При цьому білки упаковуються в гранули, які просуваються по каналцях ЕПР і виділяються клітиною в навколишнє середовище. Отже, в апараті Гольджі відбувається упакування білків у пакети для експорту їх «за кордон». Крім упакування білків, в апараті Гольджі до них приєднуються вуглеводи, тобто відбувається сполучення вуглеводів із білками, у результаті чого утворюються складні білки глікопротеїни. У деяких клітинах апарат Гольджі формує також лізосоми.

5.2. СКЛАД БІОМЕМБРАН

Найважливішими мембранами у тваринних клітинах є плазматична мембрана, внутрішня і зовнішня ядерні мембрани, мембрани ендоплазматичного комплексу, комплексу Гольджі, внутрішні та зовнішні мітохондріальні мембрани. Лізосоми, пероксисоми, різні везикули відокремлені від цитоплазми мембранами. Клітини рослин містять додатково мембрани хлоропластів, лейкопластів і вакуолей. Всі мембрани полярні, тобто існує різниця у складі внутрішнього та зовнішнього по відношенню до цитоплазми шарів (рис. 5.1).

Функції біомембран

Головною функцією плазматичної мембрани є підтримання гомеостазу клітини за допомогою жорсткого контролю її внутрішнього середовища. Фосфоліпідний бішар ізолює цитоплазму клітини від змін зовнішнього середовища, створює ліпідну суспензію, в якій переміщуються мембранні білки, здійснюючи необхідні зміни життєдіяльності клітини. Для функціонування і росту клітини, а також для оптимальної роботи транспортних і сигнальних білків мембрана повинна мати достатню плинність.

Біомембрани та їх складові виконують такі функції:

Відокремлення і відмежування клітин і органел. Відмежування клітин від міжклітинного середовища забезпечується плазматичною (клітинною) мембраною, яка захищає клітини від механічних і хімічних впливів. Плазматична мембрана забезпечує також збереження різниці концентрацій метаболітів і неорганічних іонів між внутрішньоклітинним і зовнішнім середовищем.

Транспорт метаболітів й іонів визначає внутрішнє середовище, що суттєво для підтримання постійної концентрації метаболітів і неорганічних іонів та інших фізіологічних параметрів. Транспорт метаболітів, неорганічних іонів через пори, що регулюється і здійснюється за допомогою переносників, стає можливим завдяки відме-

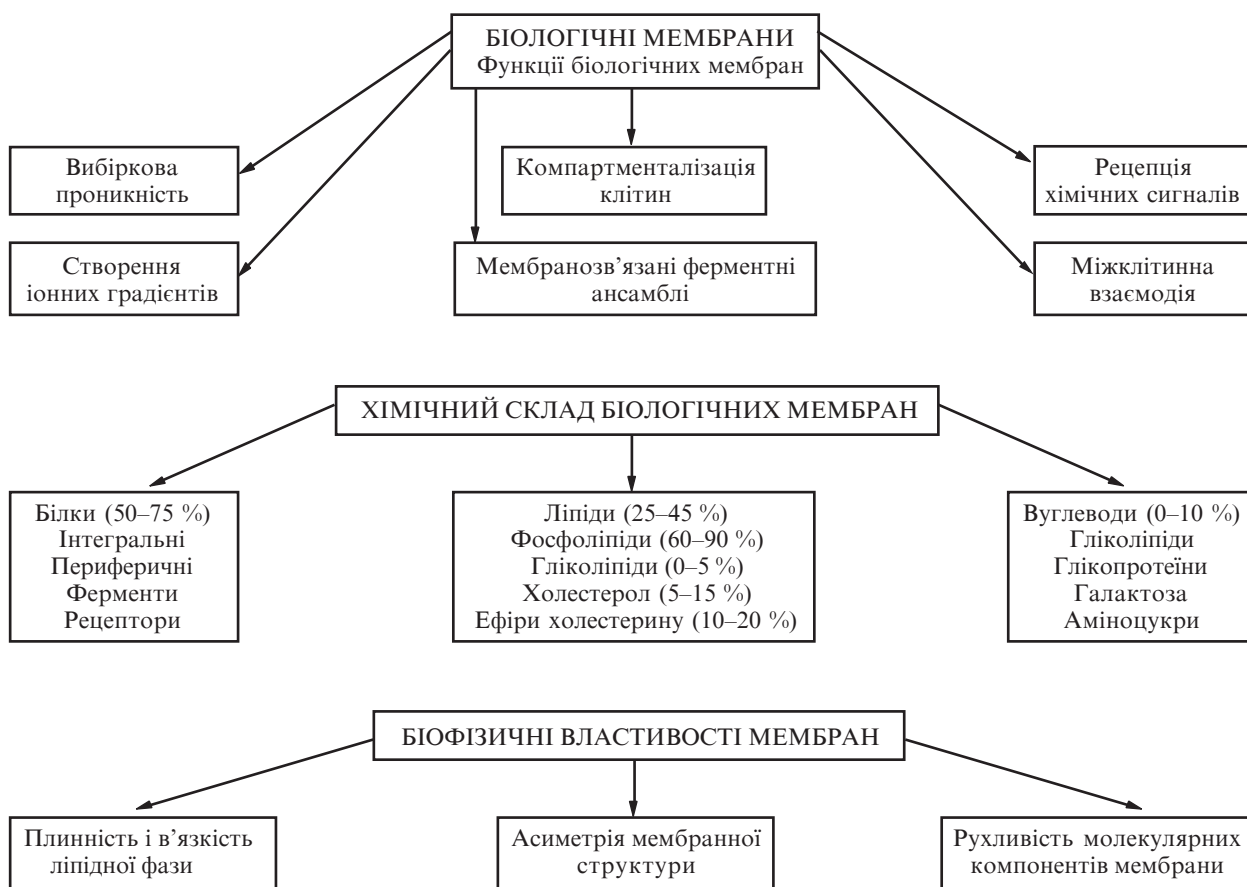


Рис. 5.1. Біологічні мембрани

жуванню клітин і органел за допомогою мембранних систем.

Сприйняття позаклітинних сигналів та їх передача всередину клітини, а також ініціація сигналів. У плазматичну мембрану вмонтовані рецептори гормонів і медіаторів, завдяки яким відбувається передача сигналів від них на субклітинні структури і змінюється клітинний метаболізм. Існує безліч рецепторів і відповідних їм лігандів. Рецептор, зв'язаний з лігандом на верхній клітині, змінює свою конформацію й активує внутрішньоклітинний компонент. На верхній будь-якої клітини зустрічаються сотні тисяч різних рецепторів. Більшість із них (хоча не обов'язково всі) — це глікопротеїни. Серед речовин, які захоплюються рецепторами, є специфічні ліганди — гормони або медіатори. Тонкою, але дуже важливою зміною, опосередкованою деякими рецепторами, коли вони зв'язуються з лігандом, є так зване «розкриття воріт». Це тимчасове розкриття каналу, по якому певні іони або речовини надходять у клітину або виводяться з неї.

Ферментативний каталіз. У мембранах на межі між ліпідною та водною фазами локалізовані ферменти. Саме тут відбуваються реакції з неполярними субстратами. Прикладом служить біосинтез ліпідів і метаболізм неполярних ксенобіотиків. У мембранах локалізовані найважливіші реакції енергетичного обміну, такі як окисне фосфорилювання. Мембрани впливають на метаболізм клітини, змінюючи активність ферментів. Так, деякі ферменти активні тільки тоді, коли вони прикріплені до мембрани; інші, навпаки, починають діяти після того, як мембрана «випускає» їх у цитоплазму. Крім цього, мембрани з'єднують різні ферменти в єдиний конвеєр, у якому кожний із ферментів діє в суворій відповідності з іншими.

Транспортна функція — регулює вхід і вихід різних речовин у клітині або у субклітинних структурах (див. нижче).

Крім цих загальних функцій, більшість мембран виконують і спеціальні функції. Наприклад, мембрани мітохондрій беруть участь у трансформації енергії; мембрани нервових клітин генерують електричні імпульси; мембрани скелетних м'язів і міокарда беруть участь у скороченні й розслабленні м'язів; клітини органів чуття містять спеціалізовані мембрани, що перетворюють енергію світла й звуку на електричні імпульси.

Склад біомембран

Всі біомембрани побудовані однаково: вони складаються з двох шарів ліпідних молекул (близько 6 нм), в які вбудовані білки. Деякі мембрани також містять вуглеводи, зв'язані з ліпідами і білками. Співвідношення ліпіди : білки : вуглеводи є характерним для клітини або мембрани і суттєво змінюється залежно від типу клітин або мембран. Головними компонентами біомембран є білки, які становлять близько половини всієї маси мембрани. Вуглеводи знайдені тільки у зовнішньому шарі, це лише кілька відсотків від маси

мембрани. Прикладом незвичайного складу служить *мієлін* оболонки нервових клітин, який на три чверті складається з ліпідів. З іншого боку, для внутрішньої мембрани мітохондрій характерний низький вміст ліпідів і високий рівень білків.

Всі мембрани побудовані в основному з трьох типів речовин: ліпідів, білків і вуглеводів, причому останні хімічно зв'язані або з ліпідами, або з білками. Вміст ліпідів у більшості випадків становить близько половини всієї біомаси мембрани.

Мембранні ліпіди

Більш детальний аналіз складу ліпідів у різних мембранах виявляє їх клітинну і тканинну специфічність. У кількісному відношенні переважають фосфоліпіди, потім — гліколіпіди і холестерол. Триацилгліцероли (нейтральні жири) в мембранах не знайдені. Холестерол присутній виключно в еукаріотичних клітинах. Мембрани тваринних клітин містять холестеролу значно більше, ніж мембрани рослин, у яких холестерол замінений іншими стеринами. У прокариот, за деякими винятками, взагалі немає холестеролу. Внутрішня мітохондріальна мембрана еукаріотів також майже повністю позбавлена холестеролу. Всі молекули ліпідів складаються з двох частин: 1) полярна голівка (або гідрофільна частина), що має електричний заряд. На неї припадає не більше чверті всієї довжини молекули; 2) неполярний хвіст (або ліпофільна частина) не несе електричного заряду. неполярний хвіст ліпідної молекули — це довгі ланцюги, побудовані з атомів Карбону й Гідрогену. Голівки можуть мати найрізноманітнішу будову, але для ліпідів мембран переважають похідні вуглеводів і фосфорної кислоти, тобто гліколіпіди й фосфоліпіди.

Полярні голівки всіх ліпідних молекул або заряджені негативно, або нейтральні, тобто несуть одночасно й негативні, й позитивні заряди. Позитивно заряджені голівки не зустрічаються.

У молекулах ліпідів з'єднуючою ланкою між хвостом і голівкою найчастіше є залишок гліцеролу (у гліцероліпідів) або аміноспирт сфінгозин (у сфінголіпідів).

Молекула холестеролу, як і ліпідів, має полярну голівку, представлена чотирма вуглецевими кільцями з полярною гідроксильною групою поблизу крайнього шестичленного кільця А і неполярний хвіст, утворений вуглеводневим ланцюжком із восьми атомів Карбону, зв'язаних із п'ятичленным вуглецевим циклом. Тому молекула холестеролу добре вбудовується в ліпідні ансамблі, що утворюють клітинну мембрану. Наприклад, у плазматичній мембрані клітин печінки холестерол становить близько 30 % усіх мембранних ліпідів.

Циклічна структура холестеролу примикає до гліцеринових залишків фосфоліпиду і тієї частини вуглеводневого ланцюга, що безпосередньо прилягає до нього. Оскільки циклічна структура холестеролу тверда, при такій взаємодії різко зменшується рухливість початкових ділянок вуглеводневих ланцюгів, тоді як кінці зберігають відносну рухливість. Тому в присутності холе-

стеролу центральна частина бішару впакована щільніше, ніж ділянка полярних голівок.

У більшості клітинних мембран голівки ліпідів несуть одночасно негативний і позитивний заряди, що взаємно нейтралізуються. У випадку електронейтральних полярних голівок (лецитин, сфінгомієлін) ліпідні молекули легко можуть бути щільно упаковані, ліпіди з негативно зарядженими голівками переважають лише в більш ніжних мембранах, захищених від зовнішніх впливів додатковою щільною структурою (цитоплазматичні мембрани бактерій, внутрішні мембрани мітохондрій). Таким ліпідам складніше об'єднатися в бішарові агрегати, тому що між голівками діють електростатичні сили відштовхування. Для мембранних ліпідів характерний мезоморфізм, тобто вони можуть існувати у двох фазових станах (кристалічному і рідкокристалічному), які відрізняються щільністю упаковки і рухливістю білкових молекул. Для нормального функціонування клітини ліпіди, що входять до складу її мембран, повинні перебувати у рідкій фазі. Серед ліпідів, що перебувають у рідкому стані, існують і тверді ліпідні ділянки. Роль регулятора агрегатного стану ліпідної частини мембрани, необхідного для нормального функціонування клітин, виконує холестерол. Фазові переходи можуть бути викликані коливаннями температури, іонного та жирнокислотного складу мембран. Стероїдна структура холестеролу не дозволяє йому пронизувати наскрізь усю товщу мембрани. Холестерол при фізіологічних температурах зменшує плинність мембран, але при нижчих температурах підвищує її, забезпечуючи нормальне функціонування мембрани.

Мембранні білки

Різноманіття функцій, виконуваних біомембранами, у більшості випадків зумовлене білками, що містяться в них. Вміст білка в мембрані значною мірою визначається тим, наскільки різноманітна її ферментативна активність. Так, мієлінова мембрана, що виконує, головним чином, тільки функцію ізолятора й виявляє всього два види ферментативної активності, містить лише 20 % білка. Цитоплазматична мембрана тваринних клітин, яка виконує поряд із бар'єрною функцією багато ферментативних функцій, містить уже близько 50 % білка, а у внутрішній мембрані мітохондрій, що відрізняється високою ферментативною активністю, білки становлять більше 75 %. Для більшості мембран кількість білків — 60–70 %.

Запропонована диференціація білків на основі функцій, виконуваних ними в мембрані: а) каталізатори метаболізму. До цієї групи належать білки, які мають ферментативну активність; б) транспортні білки. До цієї групи належать білки, які здійснюють транспорт речовин, молекул, іонів, що не супроводжується хімічним перетворенням субстратів. Залежно від структури білків, характеру їх взаємодії з мембранним бішаром, одні білки розташовуються на поверхні мембрани (периферійні білки), інші пронизують

ліпідний бішар, міцно інтегруючись у нього (інтегральні білки).

Білки мембран — це переважно ферменти, білки іонних каналів, білки транспортних систем, рецепторні білки. Речовини, які не можуть безпосередньо проходити крізь ліпідний бішар, переміщуються по *білкових каналах* або за допомогою полегшеного транспорту *білками-переносниками*.

Інші білки, які беруть участь у передачі інформації в клітину, розташовані на внутрішній або зовнішній стороні мембрани, наприклад, *рецептори нейромедіаторів* або *білки-транспортери* (G-білок), які зв'язують рецептори з цитоплазматичними білками і ферментами.

Білки можуть зв'язуватися з мембраною по-різному.

Інтегральні мембранні білки мають трансмембранні спіралізовані ділянки (домени), які одно- або багаторазово перетинають ліпідний бішар. Такі білки щільно зв'язані з ліпідним оточенням.

Периферичні мембранні білки затримуються на мембрані за допомогою ліпідного «якоря» і зв'язані з іншими компонентами клітини: наприклад, вони часто бувають асоційовані з інтегральними мембранними білками.

У інтегральних мембранних білків фрагмент пептидного ланцюга, який перетинає ліпідний шар, як правило, складається з 21–25 переважно гідрофобних амінокислот, які утворюють праву α -спіраль із 6 або 7 витками (трансмембранна спіраль).

Синтез ліпідів і білків мембрани відбувається в *ендоплазматичному ретикулумі* клітини. Ліпіди синтезуються всередині стінки ендоплазматичного ретикулума, а потім — на поверхні проходять добудову в апараті Гольджі.

Мембранні вуглеводи

Вуглеводи входять до складу мембран не у вільному стані — вони зв'язані з молекулами ліпідів або білків, тому називаються відповідно гліколіпідами й глікопротеїнами. Вміст їх у клітинах зазвичай незначний, але біологічна роль дуже важлива.

Мономерами вуглеводів, що входять до складу гліколіпідів і глікопротеїнів, є такі (загалом дев'ять): глюкоза, галактоза, маноза, фукоза, арабіноза, ксилулоза, N-ацетилглюкозамін, N-ацетилгалактозамін, N-ацетилнейрамінова (сіалова) кислота. Ці вуглеводи з'єднуються між собою, утворюючи ланцюжки полісахаридів різної довжини. У більшості гліколіпідів вуглеводний ланцюжок пов'язаний з гідроксильною групою аміноспирту сфінгозину. Зв'язок вуглеводного ланцюжка з білком має складніший характер. Причому зв'язуватися з білком може один із п'яти моносахаридів, однак кожний з них вступає у зв'язок тільки з певною амінокислотою: галактоза з оксилізином, ксилулоза — із серином, арабіноза — з оксипроліном, N-ацетилглюкозамін — з аспарагіном. Гідроксильні групи амінокислот беруть участь у зв'язуванні вуглеводів за рахунок відщеплення води. Тільки N-ацетилглюко-

замін зв'язується з аспарагіном за рахунок гідроксильної групи Гідрогену й водню аміногрупи амінокислоти.

Друга структурна відмінність гліколіпідів від глікопротеїнів — кожна молекула гліколіпиду має лише один вуглеводний ланцюг, тоді як у глікопротеїнів таких ланцюгів може бути кілька. Ці ланцюги бувають різної довжини, однак є одне важливе обмеження: кожна молекула глікопротеїну завжди містить ланцюги тільки одного типу, тобто з однаковою моносахаридною послідовністю.

Вуглеводи зв'язуються із зовнішніми ділянками молекул мембранних білків і ліпідів, утворюючи *глікопротеїни* і *гліколіпіди*. Вуглеводний шар, що утворюється на зовнішній поверхні мембрани, дістав назву *глікокалікс*. Він заряджений негативно, виконує кілька важливих функцій: зв'язує позаклітинний кальцій, стабілізує мембранні структури, служить матриксом для прикріплення інших клітин.

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

Глікопротеїни мембран утворюються за рахунок ковалентних зв'язків із білками мембран: гідроксильних груп серину та треоніну (О-глікозидні зв'язки) і амідної групи аспарагіну (N-глікозидні зв'язки).

Олігосахаридні залишки гліколіпідів і глікопротеїнів виконують функції лігандів для зовнішніх білків, тобто забезпечують процес розпізнавання і міжклітинної взаємодії, а також особливо важливі в реакціях клітинного імунітету.

Аномальні зміни структури поверхневих *гангліозидів* у мембранах пухлинних клітин призводять до втрати характерного для росту нормальних клітинних пластів феномена «контактного інгібування», що спричинює неконтрольований ріст.

Моделі мембран

Ліпіди здатні взаємодіяти з білками своїми полярними групами — у цьому випадку їхні молекули зв'язуються між собою силами електростатичного притягання зарядів. Було встановлено, що коли ліпіди розташовуються у воді суцільним бімолекулярним шаром, то білки могли б розташовуватися на верхній і нижній поверхні цього шару. Утворюється щось подібне до бутерброда: зверху й знизу — два шари білка, а всередині ліпіди, на зразок масла. У такій примітивній формі «бутербродна» модель мембран запропонована американськими дослідниками Даніелі й Доусоном (1931) (рис. 5.2).

Згодом, з надходженням нових даних, її поступово вдосконалювали і змінювали. З'явилися факти, які суперечили «бутербродній» моделі та уявленням про її універсальність. Насамперед, якщо всі мембрани побудовані за єдиним принципом, то вони повинні містити однакову кількість ліпідів і білків. Виявилось, що мієлінова мембрана містить в 2,5 рази більше ліпідів, ніж білка, тоді як у мембрані еритроцитів співвідношення

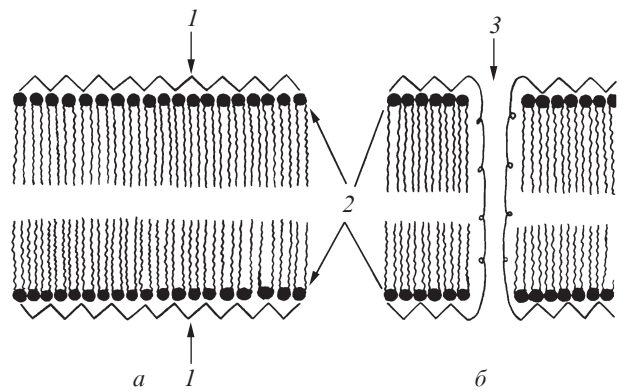


Рис. 5.2. Моделі біомембрани:
а — за Даніелі — Доусоном;
б — за Стейном — Даніелі
Позначення: 1 — білкові шари; 2 — ліпідний бішар;
3 — мембранні пори.

зворотне, а в мембранах деяких бактерій вміст білка в 5–6 разів перевищує кількість ліпідів.

«Бутербродна» модель виявилася також неспроможною пояснити той факт, що природні мембрани не розщеплюються на білки й ліпіди при додаванні в середовище неорганічних солей. У присутності солей слабшає електростатична взаємодія між білками й ліпідами, на якій ґрунтується ця модель. Штучно виготовлені моделі, в яких ліпіди й білки зв'язані електростатичними силами, у розчинах солей розпадаються, а природні мембрани чомусь виявляються стійкими.

З'явилася нова модель мембрани — мозаїчна, відповідно до якої мембрана складається з білків, простір між якими заповнено ліпідними молекулами, тобто мембрана — це ліпідне море, в якому плавають білкові айсберги. Подальші детальні електронно-мікроскопічні дослідження підтвердили мозаїчну модель мембрани (рис. 5.3).

Відповідно до цієї моделі, присутні в мембрані білки розділяють на два типи:

1. Периферійні білки — це білки, прикріплені до зовнішньої поверхні мембрани електростатич-

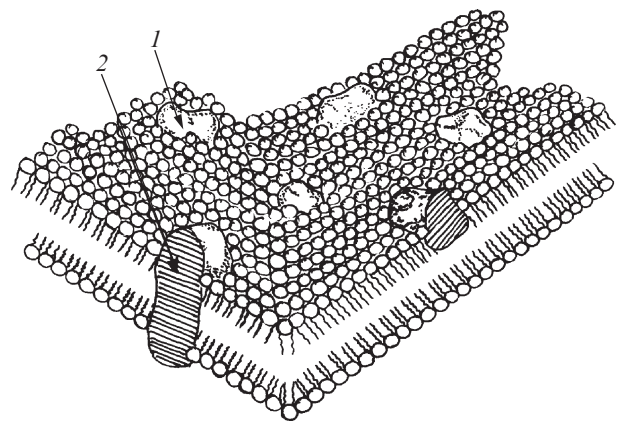


Рис. 5.3. Рідинно-мозаїчна модель біомембрани за Сингером — Нікольсоном
Позначення: 1 — периферичні білки; 2 — інтегральні білки.

ними силами: а) сумарний позитивний заряд білка й негативно заряджені голівки мембранних ліпідів; б) більшість периферійних білків мають негативний сумарний заряд, тому пов'язані з голівками не безпосередньо, а через катіони Ca^{2+} і Mg^{2+} .

2. Інтегральні білки — це білкові глобули, що плавають у «ліпідному морі» подібно до айсбергів, так що одна частина глобули занурена в мембрану, а друга — у водне середовище. Частина білкових глобул («айсбергів») не вільно плаває у ліпідному морі, а зв'язана з цитоплазматичними структурами клітини — мікротрубочками й мікрофіламентами. Деякі з інтегральних білків другого типу пронизують мембрану наскрізь. Одна полярна ділянка пронизуючих білків найчастіше несе вуглеводні ланцюги, виходить у зовнішній простір, а друга — у цитоплазму. Між ними існує неполярна ділянка, що пронизує ліпідний бішар. Уявлення про мембрану у вигляді мозаїчної моделі досить спрощене й схематичне. По-перше, у «ліпідному морі» у багатьох випадках більше «айсбергів», ніж «води». По-друге, не всі ліпіди, що входять до складу мембран, розташовані за принципом бішару.

Мембранний транспорт

Незаряджені ліпофільні (жиророзчинні) речовини можуть безпосередньо проникати крізь ліпідну серцевину плазматичних мембран. Серед

них важливе значення мають гази — *кисень, вуглекислий газ*. Деякі невеликі полярні молекули (H_2O , NH_3 , гліцерол, сечовина, етанол, наркотики) також здатні проникати крізь ліпідний бішар через міжмолекулярні пори.

Розчинність багатьох речовин у жирах залежить від рН середовища. Багато молекул можуть існувати в *протонованій формі* (речовина + H^+) або в *непротонованій формі*. Непротонована молекула проходить крізь мембрану легше, ніж протонувана. Однією з основних функцій мембран є регуляція надходження й виходу різних речовин у клітину та з клітини. Одні речовини вільно проходять через мембрану, а для інших вона непроникна. Розрізняють такі шляхи транспорту речовин через мембрану: а) пасивний транспорт (проста та полегшена дифузія); б) активний транспорт.

Гідрофільні речовини і великі полярні молекули, які не розчиняються в ліпідах, відштовхуються ліпідною серцевиною мембрани. Щоб пройти крізь плазматичну мембрану, вони повинні взаємодіяти зі спеціальними білками-носіями або білком трансмембранного каналу (рис. 5.4).

Пасивний транспорт

Якщо мембрана клітини проникна для розчинної речовини, то ця речовина вільно переміщається з більш концентрованого розчину в менш концентрований, такий шлях транспорту

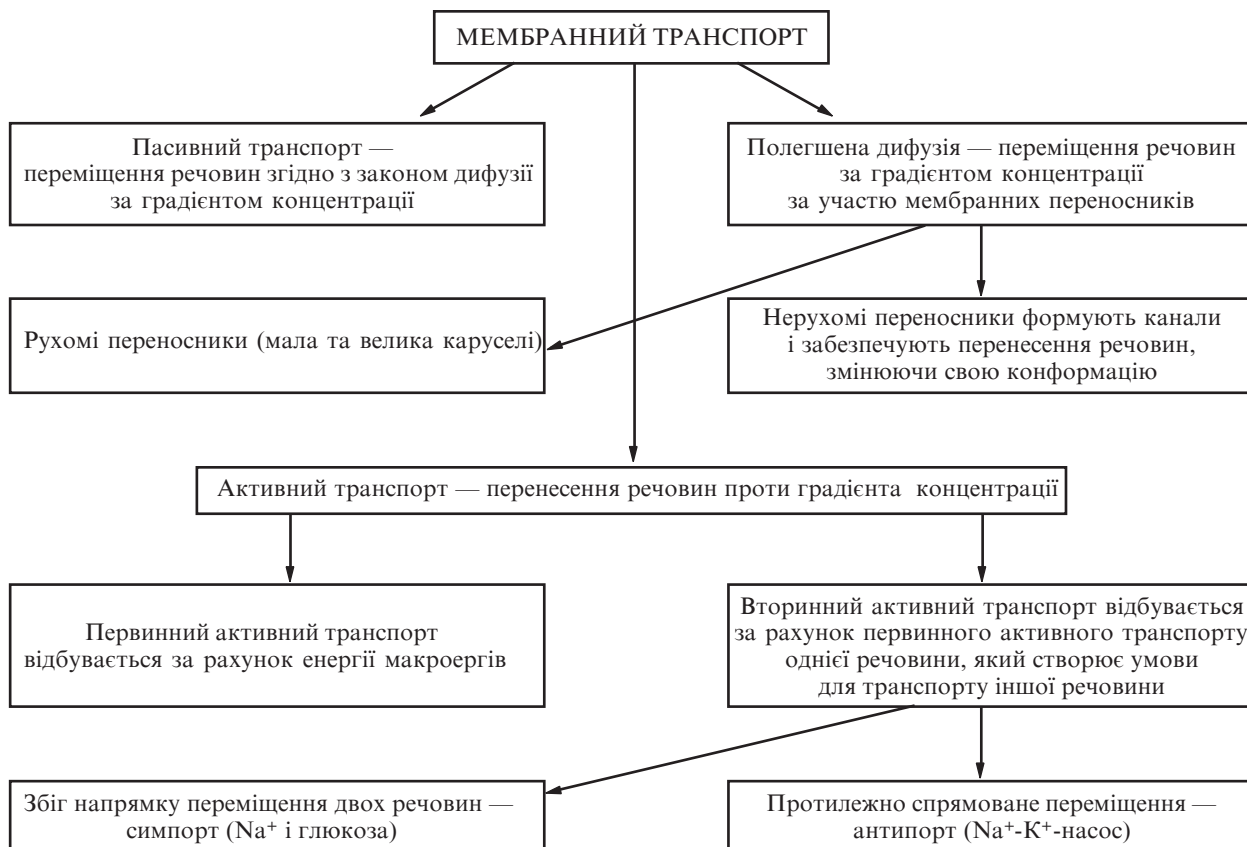


Рис. 5.4. Мембранний транспорт

речовин через мембрани називають *пасивним транспортом*.

Якщо речовина добре розчинна в жирах, то вона переміщається через будь-яку ділянку мембрани за звичайними законами дифузії, тобто відбувається процес *простої дифузії*. Транспорт через мембрану води й невеликих, незаряджених молекул (не розчинних у жирах) здійснюється через тимчасові порожнечі (діри) у мембрані. Вони утворюються внаслідок того, що вуглеводневі ланцюги ліпідів постійно звиваються, у мембрані утворюються тимчасові порожнини, по яких і проходять молекули. Більші молекули, що дифундують, у тому числі й такі, що несуть електричні заряди, проходять крізь мембрану по спеціальних каналах (порах), стінки яких вистелені білками. Проста (звичайна) дифузія розчиненої речовини, яка не має заряду, прямо пропорційна градієнту його концентрації; його коефіцієнту дифузії; площі мембрани; зворотно пропорційна товщині мембрани.

Сторонні речовини можуть проходити крізь мембрану шляхом пасивного транспорту всередину клітини, якщо вони ліпофільні.

Полегшена дифузія (уніпорт) відрізняється від звичайної тільки тим, що відбувається з рухливим переносником, який полегшує проходження речовини за градієнтом концентрації. Так транспортуються великі полярні молекули. Вони транспортуються *білками-переносниками*, а заряджені іони — *білками трансмембранних каналів*. Транспорт шляхом полегшеної дифузії використовується для перенесення органічних кислот, моносахаридів, жиророзчинних вітамінів, стероїдних гормонів. У випадку полегшеної дифузії транспорт речовин через мембрану також відбувається за градієнтом концентрації, тобто відбувається процес дифузії, вирівнювання концентрації речовин по різні боки мембрани. Однак при полегшеній дифузії транспорту речовин за градієнтом концентрації «допомагають» спеціальні мембранні переносники. З їхньою допомогою дифузія речовин відбувається значно швидше, тобто швидкість дифузії зростає. Транспорт речовин за допомогою переносників відрізняється від простої дифузії не тільки більшою швидкістю, але й тим, що ця швидкість залежить не тільки від градієнта концентрації, але й від потужності переносника. Крім цього, транспорт речовин за участю переносника можна сповільнити за допомогою інгібітора. При цьому інгібітор займає місце на переноснику, але сам через мембрану не проходить. Ще одна особливість полегшеної дифузії — переносники молекул й іонів мають специфічність (вибірковість), тобто переносять не всі молекули й іони, а тільки певні, наприклад, якийсь один моносахарид (глюкозу, галактозу), якусь одну амінокислоту і т. ін. За принципом дії мембранні переносники поділяються на два типи: рухливі переносники і нерухливі.

Рухливі переносники діють за типом порома. Приєднавши до себе молекули, вони переміщуються разом із ними крізь мембрану й повертаються назад або порожніми, або захоплюють молекули інших сполук.

Рухливі переносники можуть бути двох видів: а) працюючі за принципом «малої каруселі»; б) працюючі за принципом «великої каруселі».

Якщо переносник погано розчинний у воді, то він реагує з молекулами, які переносить, й іонами на поверхні мембрани, тобто працює за принципом «малої каруселі». Інші переносники добре розчинні у воді, тому виходять на «половину» з мембрани, захоплюють потрібну молекулу або іон, переміщуються разом через мембрану, виводять її на протилежну сторону й там відпускають приєднану речовину, тобто працюють за принципом «великої каруселі».

Рухливі переносники можуть робити під час переносу обертові рухи (обертовий переносник) або поступальні (рухливий переносник).

Нерухливі переносники не здійснюють човникових рухів, а вбудовуються в мембрану, утворюючи фіксований канал. Ці переносники, як правило, є білками. Такі транспортні білки забезпечують перенос, змінюючи свою конформацію, тобто стінки каналів можуть розширюватися й скорочуватися, внаслідок чого в мембрані відкриваються канали. Відомо, що транспортні білки переносять такі гідрофільні речовини, як моносахариди, амінокислоти, іони Na^+ , K^+ і Ca^{2+} .

Переносники можуть бути змішаного типу: 1) обертовий переносник разом із фіксованим — при цьому обертовий переносник транспортує молекули до каналу, а далі вони переносяться по каналу; 2) рухливий переносник разом із фіксованим — працює як і попередній, тільки не обертається.

1. Більшість іонних каналів відіграє роль селективного (вибіркового) фільтра, який вибірково пропускає іони тільки одного типу. Так, натрієві канали пропускають в основному іони натрію, а калієві канали — іони калію, але не пропускають інші види іонів.

Чим іонний канал відрізняється від пори? Мембранні пори — це щілини між молекулами ліпідів, які забезпечують просту дифузію в мембрані. Іонні канали — це отвори з воротами, які можуть знаходитись у відчиненому або зачиненому стані й регулювати швидкість надходження іонів крізь мембрану. Іони можуть надходити крізь канал, тільки якщо він відчинений.

Які три основних конформаційних стани іонного каналу? Стан спокою — канал зачинений, але готовий до відкриття у відповідь на хімічний або електричний імпульс. Стан активації — канал відчинений і забезпечує надходження іонів. Стан інактивації — канал зачинений і нездатний до активації. Стан інактивації розвивається одразу після успішної активації (відкриття) каналу у відповідь на хімічний або електричний імпульс.

Лігандзалежні іонні канали хімічно регулюються і тісно пов'язані з мембранним рецептором. Зв'язування хімічного посередника з даним рецептором спричинює конформаційні зміни в каналі, які викликають його відчинення. Лігандзалежні канали часто бувають неселективними іонними каналами, які у відкритому стані перепус-

кають більше одного типу однаково заряджених іонів. Наприклад, зв'язування ацетилхоліну з рецептором на мембрані скелетного м'яза активує лігандзалежний іонний канал, який при фізіологічних умовах мембранного потенціалу переносить іони натрію всередину клітини й іони калію — з клітини.

Потенціалзалежні іонні канали відчиняються при зміні мембранного потенціалу. Зміни електричного поля, яке оточує іонний канал, спричинюють зміщення позитивно заряджених амінокислотних залишків α -субодиниці, що утворюють стінки каналу, і переводить канал у відкритий стан. Ряд селективних іонних каналів, які забезпечують клітинну збудливість (наприклад, Na^+ -, K^+ -, Ca^{2+} -канали), належать до потенціалзалежних.

2. На відміну від іонних каналів, транспортні білки вибірково зв'язуються молекулами субстрату і за рахунок конформаційних змін переносять їх крізь мембрану. Цим транспортні білки (білки-переносники, пермеази) схожі на ферменти. Різниця полягає в тому, що вони «каталізують» направлений транспорт, а не ферментативну реакцію. Білки-транспортери виявляють специфічність (іноді групу) до субстратів, які підлягають переносу.

Активний транспорт

Активний транспорт є ферментативним процесом. Він здійснюється спеціальними транспортними системами, здатними використовувати хімічну енергію АТФ або енергію електрохімічного потенціалу для транспортування речовин. Залежно від виду використаної енергії активний транспорт може бути *первинним* і *вторинним*. Первинний активний транспорт відбувається за рахунок енергії, яка утворюється безпосередньо при гідролізі АТФ або деяких інших макроергічних фосфатів; вторинний активний транспорт — за рахунок енергії, яка утворюється за допомогою первинного активного транспорту внаслідок неоднакових концентрацій іонів по обидві сторони мембрани. При вторинному активному транспорті одна речовина (А) створює умови для проходження іншої речовини (В). Причому напрямок переміщення крізь мембрану двох речовин або співпадає, або не співпадає.

Якщо речовина транспортується в одному напрямку (наприклад, Na^+ і глюкоза), то такий спільний транспорт має назву симпорт (котранспорт). Якщо речовини перетинають мембрану в протилежних напрямках, то такий транспорт має назву антипорт (зустрічний транспорт). При цьому транспорт речовин через мембрану відбувається проти градієнта концентрації (від розчину з меншою концентрацією даної речовини — у розчин із більшою концентрацією), тобто мембрана діє подібно до насосу. Це енергозалежний процес, для його здійснення використовується, головним чином, енергія АТФ. Наприклад, звичайно концентрація білка й інших макромолекул у клітині вища, ніж у навколишньому середовищі. На відміну від води, ці макромолекули не

проходять вільно через мембрану, тому вода за законами осмосу входить у клітину, збільшуючи цим внутрішній тиск, — клітина починає набухати. Щоб протистояти надходженню води, клітини запускають біологічний насос, що викачує назовні іони натрію. У результаті цього внутрішня ділянка клітини здобуває негативний заряд щодо оточуючого її середовища. Одночасно насос накачує іони калію з оточуючого середовища у внутрішнє середовище клітини. У результаті концентрація іонів натрію стає вищою поза клітиною, а калію — всередині клітини. Так працює калій-натрієвий насос — це натрій-калій залежна АТФаза. Цей фермент звичайно розташований у мембранах і активується при підвищенні концентрації Na^+ усередині клітини або K^+ — у зовнішньому середовищі. На переміщення трьох іонів Na^+ і двох іонів K^+ витрачається енергія однієї молекули АТФ. На транспорт двох іонів Ca^{2+} через мембрану також використовується одна молекула АТФ.

У клітинах спостерігається процес, коли градієнт концентрації однієї сполуки використовується для транспорту іншої, що дістало назву *вторинно-активного транспорту*. Наприклад, під час функціонування Na^+/K^+ -АТФази і переміщення іонів Na^+ і K^+ відбувається надходження до клітин глюкози, амінокислот і виведення з клітин кінцевих продуктів обміну.

Основні процеси, за допомогою яких речовини проходять через клітинні мембрани

Первинний активний транспорт

Шляхом первинного активного транспорту переносяться іони Натрію, Кальцію і Магнію через клітинну мембрану, а протони — через мітохондріальну мембрану. Транспортними системами служать спеціальні АТФази, які гідролізують АТФ до АДФ і неорганічного фосфату й використовують енергію фосфатних зв'язків на перенесення іонів крізь мембрану. Для кожного з іонів існує своя специфічна АТФаза.

Na^+ , K^+ -АТФаза присутня у всіх клітинах організмів рослинного і тваринного походження, у бактеріях. В організмі людини найвища активність її в нервовій тканині, нирках і секреторних органах, тобто там, де найбільше виражені процеси активного транспорту речовин. Na^+ , K^+ -АТФаза локалізована переважно у клітинній мембрані.

Na^+ , K^+ -АТФаза (насос)

Складається з двох α -субодиниць, які утворюють основний транспортний білок, і двох β -субодиниць. Більші α -субодиниці містять ділянку зв'язування кардіотонічних стероїдних інгібіторів і ділянку зв'язування АТФ. Менші β -субодиниці містять вуглеводні групи, у плазматичній мембрані вони розташовані ближче до її зовнішньої сторони (як і більшість глікопротеїнів мембран) і просторово розділені двома α -субодиницями (рис. 5.5).

Натрієвий насос працює в такий спосіб. На внутрішній стороні плазматичної мембрани роз-

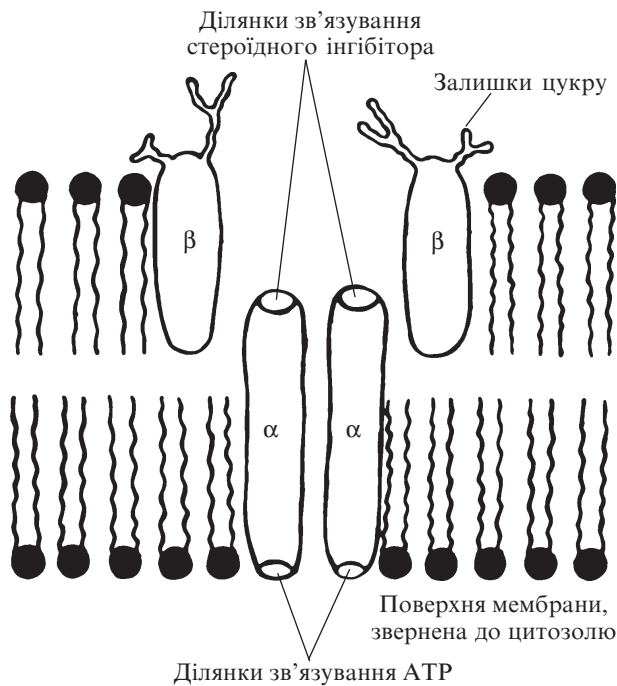


Рис. 5.5. Схематичне зображення субодичної структури і розташування в мембрані Na^+ , K^+ -насоса

ташовані центри Na^+ , K^+ -АТФази, що вибірково приєднують три іони Натрію. Зв'язування натрію ініціює фосфорилування Na^+ , K^+ -АТФази (фосфат від АТФ як донора приєднується складноєфірним зв'язком до вільної карбоксильної групи залишку аспарагінової кислоти). У результаті фосфорилування утворюється фосфорильована форма ферменту — $\text{Na}^+\text{-E}\sim\text{P}$. Після цього відбуваються конформаційні зміни Na^+ , K^+ -АТФази, у ході яких центри зв'язування ферменту разом з іонами Натрію виявляються на зовнішній стороні плазматичної мембрани, де відбувається вивільнення іонів Натрію. На конформаційні зміни і вивільнення іонів Натрію витрачається енергія макроергічного зв'язку $\text{Na}^+\text{-E}\sim\text{P}$. Е-Р зв'язує два іони Калію із зовнішнього середовища й утворює комплекс $\text{K}^+\text{-E}\sim\text{P}$. Приєднання K^+ до Е-Р стимулює $\text{K}^+\text{-E}\sim\text{P}$, що приводить до дефосфорилування і конформаційних змін $\text{K}^+\text{-E}$. Конформаційні зміни поєднані з переміщенням двох іонів Калію із зовнішньої поверхні мембрани на внутрішню, де відбувається вивільнення іонів Калію. Цим закінчується цикл роботи натрієвого насоса: зв'язування Na^+ — фосфорилування — зміна конформації — вивільнення Na^+ — зв'язування K^+ — дефосфорилування — зміна конформації — вивільнення K^+ . Під дією Na^+ , K^+ -АТФази іони Натрію постійно виходять із клітини, а іони Калію надходять із позаклітинного середовища всередину клітини, тобто спостерігається антипорт цих іонів. Серед регуляторів Na^+ , K^+ -АТФази існують інгібітори й активатори. Її природним регулятором є іони Кальцію. Позаклітинні іони Кальцію активують зв'язування зовнішнього калію специфічною ділянкою ферменту і включають роботу Na^+ , K^+ -АТФази з транспорту іонів. Надлишок внутрішньоклітинного калію блокує Na^+ , K^+ -АТФазу, і

тільки усунення високих концентрацій внутрішньоклітинного калію іншими системами дозволяє включити Na^+ , K^+ -насос. Класичними інгібіторами ферменту є серцеві глікозиди, широко використовували в медичній практиці як стимулятори серцевих скорочень. Глікозиди інгібують Na^+ , K^+ -АТФазу, зв'язуючись із ділянками ферменту, оберненими на зовнішню сторону клітинної мембрани, тобто конкурують за місце зв'язування з іонами калію. Якщо глікозидами діяти на фермент із внутрішньої сторони, то вони ніякого впливу на функцію Na^+ , K^+ -насоса не чинять. Тому дії серцевих глікозидів можна перешкодити іонами Калію, що використовується в медичній практиці, коли вводять в організм розчини солей калію при отруєнні серцевими глікозидами. Інгібіторами ферменту є також тетраетиламоній, іони Купруму, Феруму, деякі гормони (естрогени, глюкагон, адреналін). Активують Na^+ , K^+ -АТФазу природні амінокислоти, дипептиди (карнозин, ансерин). Збільшують кількість цього ферменту в нирках кортикостероїди (особливо альдостерон).

Ca^{2+} -АТФаза (кальцієвий насос)

Ca^{2+} -АТФаза (або кальцієвий насос) знаходиться у клітинній і позаклітинній мембрані ендоплазматичного ретикулу та мітохондрій. Висока активність Ca^{2+} -АТФази відмічається в м'язовій (особливо в саркоплазматичному ретикулімі), у нервовій тканині, нирках, тобто там, де процеси активного транспорту визначають функцію органів і тканин. Ca^{2+} -АТФаза відкачує іони Кальцію за рахунок енергії АТФ в обмін на іони Натрію або Магнію, тобто відбувається антипорт цих іонів. Ca^{2+} -АТФаза мембран мітохондрій обмінює іони Кальцію на іони Гідрогену, причому іони Кальцію надходять усередину мітохондрій, а протони — назовні.

Вторинний активний транспорт (антипорт)

Натрій-гідрогенний насос використовує електрохімічний градієнт іонів Натрію, створений Na^+ , K^+ -насосом, для перенесення протонів із клітини за механізмом вторинного активного транспорту. При цьому процесі зв'язування позаклітинного натрію і внутрішньоклітинних протонів із протилежними сторонами білка-переносника приводить до конформаційних змін його структури і положення в мембрані. Перенесення іонів Натрію в клітину й іонів Гідрогену з клітини, що відбувається при цьому, служить буферним механізмом, який запобігає закисненню у клітині. У мембрані еритроцитів іони HCO_3^- обмінюються на іони Хлору.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Біологічні мембрани: мембранні структури тваринної клітини та їх функції; молекулярні компоненти біомембран.
2. Ліпіди біомембран: особливості їх структурної організації, ліпідний склад субклітинних мембран, молекулярні моделі мембранних ліпідів.
3. Рідинно-мозаїчна модель будови біомембран; біофізичні властивості мембран.

Глава 6. ФЕРМЕНТИ ТА КОФЕРМЕНТИ, КОФЕРМЕНТНІ ФУНКЦІЇ ВІТАМІНІВ. РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ

6.1. ФЕРМЕНТИ. СТРУКТУРА, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ-ФЕРМЕНТІВ, КЛАСИФІКАЦІЯ ЗА ТИПОМ РЕАКЦІЇ

Здавна спостерігали, що перетворення виноградного соку на вино супроводжується виділенням пухирців газу, яке за зовнішніми ознаками нагадує кипіння, тому весь цей процес, тобто бродіння, назвали ферментацією (від лат. *fermentation* — кипіння, бродіння), а речовини, що прискорюють бродіння, — ферментами. Через те, що бродіння прискорювали дріжджі, багато ферментів було знайдено спочатку у дріжджах і ферменти дістали другу назву — ензими (від грецьк. *en zyme* — у дріжджах).

Перші наукові уявлення про ферменти були висловлені у 1814 р. К. С. Кірхгофом, який довів, що саме екстракти з паростків зерна, багаті на білки, здатні розщеплювати крохмаль до мальтози. Значення цих дослідів ученого полягало в тому, що вперше була показана роль саме білків у перетворенні вуглеводів. О. Я. Данилевський розробив методи виділення ферментів (їх екстракцію, адсорбцію, елюцію) і за їх допомогою у 1862 р. виділив із підшлункової залози ферменти амілазу і трипсин, дослідивши їх властивості. Луї Пастер у дослідах із зеленою пліснявою довів, що ферменти цієї плісняви зброджують тільки D-винну кислоту і не зброджують її L-форму. Цими дослідями була доведена специфічність дії ферментів. У подальшому значний внесок у розвиток ферментології зробили О. М. Бах, І. П. Павлов, В. І. Палладін та ін. Зараз відомо близько 3000 ферментів, триває їх подальший пошук і дослідження, оскільки хімічні процеси, які відбуваються в біологічних системах, є ферментативними.

Існують такі докази, що всі ферменти є білками:

1. Подібно до білків, ферменти мають високу молекулярну масу — від десятків тисяч до кількох мільйонів дальтон (Да). Наприклад, молекулярна маса піруватдегідрогенази дорівнює 4 000 000 Да, лактатдегідрогенази — 140 000 Да, каталази — 24 800 Да.

2. Як і білки, ферменти утворюють колоїдні розчини. Молекули ферментів не здатні до діалізу, тому за допомогою діалізу їх розчини можна звільнити від низькомолекулярних домішок.

3. Під впливом різних фізичних і хімічних факторів (висока температура, міцні кислоти, луги, солі важких металів та ін.) відбувається денатурація ферментів. Фермент при цьому втрачає здатність каталізувати хімічну реакцію.

4. Ферменти, як і білки, можна висолювати нейтральними солями (сульфатом амонію, хлоридом натрію). Саме завдяки висолюванню виділено багато ферментів у формі кристалів.

5. При гідролізі ферменти, як і білки, розпадаються на амінокислоти.

6. Доказом білкової природи ферментів є їх лабораторний синтез із амінокислот.

Ферменти — це специфічні білки, що виконують в організмі роль біологічних каталізаторів. Як усі білки, ферменти мають первинну, вторинну, третинну, а багато які з них — четвертинну структуру. Ферменти з четвертинною структурою складаються з протомерів (субодиниць).

Номенклатура ферментів

Наявність великої кількості ферментів (сьогодні їх відомо близько 3000) викликала необхідність розробити єдину класифікацію й номенклатуру ферментів. У 1961 р. у Москві на V Міжнародному біохімічному конгресі була затверджена єдина міжнародна (систематична) класифікація й номенклатура ферментів. В основі її покладено принцип поділу ферментів за типом хімічних реакцій, які вони каталізують. Тип реакції, що каталізують ферменти, у сполученні з назвою субстрату (субстратів) — основа для систематичного найменування ферментів.

Усі відомі реакції, що перебігають в організмі, можуть бути зведені до шести основних типів:

1. Окисно-відновні реакції.
2. Реакції переносу окремих груп атомів від одних субстратів на інші.
3. Реакції розщеплення внутрішньомолекулярних зв'язків органічних речовин за участю молекули води.
4. Оборотні реакції відщеплення різних груп атомів від субстратів негідролітичним шляхом з утворенням подвійного зв'язку або приєднання груп атомів до місця подвійного зв'язку.
5. Реакції ізомеризації.
6. Реакції синтезу органічних речовин з інших вихідних молекул із використанням розпаду АТФ або іншого нуклеозидтрифосфату.

Відповідно до шести типів хімічних реакцій всі ферменти поділені на шість класів:

1. Оксидоредуктази.
2. Трансферази.
3. Гідролази.
4. Ліази.
5. Ізомерази.
6. Лігази (синтетази).

Класи ферментів, у свою чергу, поділяються на підкласи, підкласи — на підпідкласи. Поділ ферментів на підкласи в межах одного класу зроблено з урахуванням основних видів субстратів, які беруть участь у даному типі хімічних перетворень. Наприклад, окремі підкласи оксидоредуктаз формують ферменти, що окиснюють субстрати, які містять спиртові групи ($-\text{CH}_2-\text{OH}$) до альдегідних і кетонних груп (перший підклас), і ферменти, що окиснюють альдегіди і кетони до кислот (другий підклас оксидоредуктаз). Поділ

трансфераз на підкласи зроблено з урахуванням тієї групи, що підлягає переносу, гідролаз — з урахуванням типу зв'язку, що гідролізується, і т. ін.

Поділ підкласів ферментів на підпідкласи відбувається з урахуванням природи хімічних сполук донорів або акцепторів, які беруть участь у реакції. Наприклад, у гідролаз підпідклас уточнює тип зв'язку, що гідролізується, а у ліаз — тип групи, що відщеплюється. Нарешті, всі ферменти, об'єднані в один підпідклас, отримують порядковий номер.

Кожний фермент має код, або шифр, що містить чотири цифри, розділені крапками. Ці шифри утворюються за таким принципом. Перша цифра вказує на номер одного з шести класів ферментів, друга означає підклас, третя — підпідклас і четверта — порядковий номер ферменту у підпідкласі. На початку шифру ставиться дві літери — КФ (класифікація ферментів). Наприклад, повний шифр ферменту лактатдегідрогенази — КФ 1.1.1.27. Цей фермент належить до класу оксидоредуктаз, до першого підкласу — оксидоредуктаз, які окиснюють оксигрупи до кетонних груп, до першого підпідкласу, у якому акцептором водню є НАД⁺, порядковий номер цього ферменту в підпідкласі — 27.

Крім шифру ферменти мають певну назву за систематичною і робочою (тривіальною) номенклатурою. За систематичною номенклатурою назва ферментів складається з двох частин. Перша частина вказує на назву субстрату, на який діє фермент, друга — на природу хімічної реакції й має закінчення -аза. Наприклад, лактат:НАД⁺-оксидоредуктаза. Цей фермент каталізує перенос протонів і електронів від лактату на НАД. У повсякденній практиці використовують так звану робочу (тривіальну) номенклатуру

ферментів, у якій назви ферментів скорочені. Наприклад, цей же фермент має тривіальну назву лактатдегідрогеназа.

Класифікація ферментів наведена на рис. 6.1.

Номенклатура — цифрове відображення місця кожного ферменту в класифікації.

Код ферменту складається з чотирьох цифр:

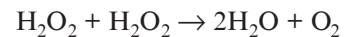
- 1-й знак — клас ферменту (від 1 до 6);
- 2-й знак — функціональна група;
- 3-й знак — кофермент;
- 4-й знак — субстрат.

1. **Оксидоредуктази.** Оксидоредуктази каталізують окисно-відновні реакції. Відповідно до систематичної номенклатури назви їх складаються за формою «донор:акцептор-оксидоредуктаза». Відповідно до робочої номенклатури розрізняють такі основні оксидоредуктази:

1) Анаеробні дегідрогенази — каталізують перенос атомів Гідрогену або електронів на будь-який проміжний субстрат, але не на кисень і не на перекис водню (наприклад, лактатдегідрогеназа — лактат:НАД⁺-оксидоредуктаза).

2) Аеробні дегідрогенази (або оксидази) — каталізують перенос атомів Гідрогену або електронів безпосередньо на кисень (наприклад, цитохромоксидаза каталізує перенос електронів від цитохрому а₃ на кисень).

3) Каталаза і пероксидаза. Каталаза каталізує перенос двох атомів Гідрогену з однієї молекули перексиду гідрогену на іншу:



Пероксидаза каталізує перенос двох атомів Гідрогену з різних субстратів, включаючи відновлені піридинові й флавінові ферменти, на перексид гідрогену:

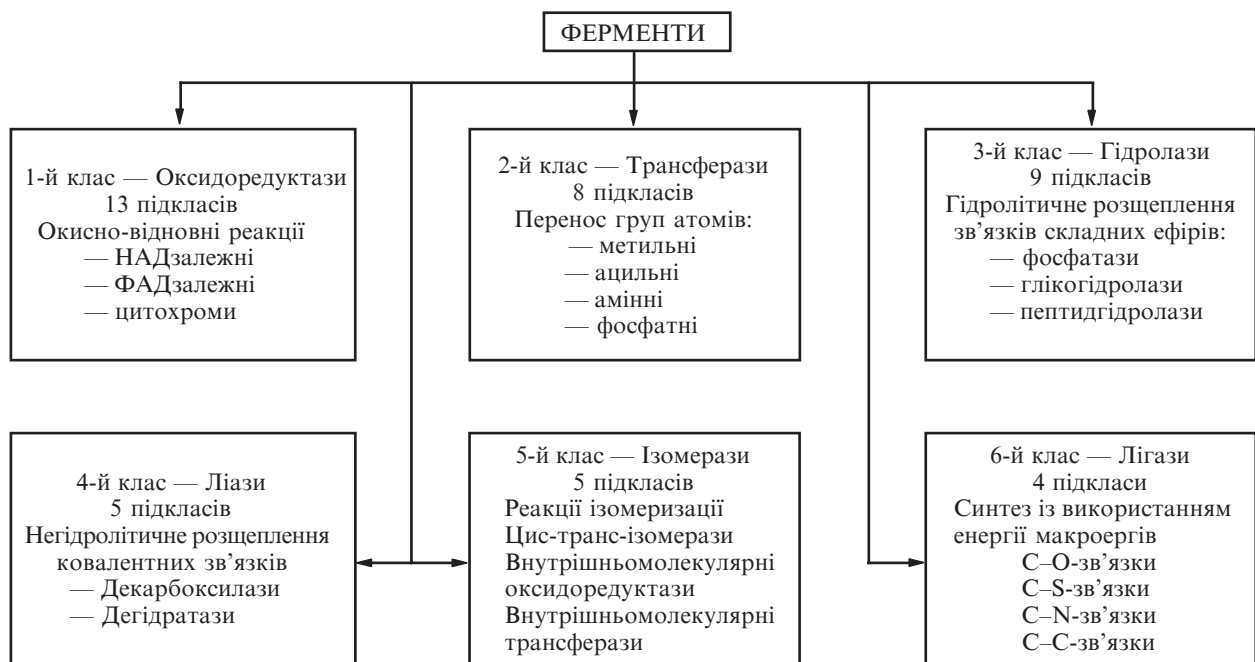


Рис. 6.1. Класифікація ферментів

2. **Трансферази.** До класу трансфераз належать ферменти, що каталізують перенос різних груп атомів від одних субстратів на інші.

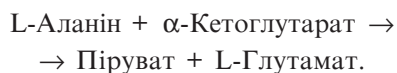
Найменування їх складається за формою: «донор + акцептор — група, що транспортується — трансфераза». Розрізняють трансферази, що каталізують перенос:

а) одновуглецевих залишків (наприклад, метилтрансферази каталізують перенос метильних груп ($-\text{CH}_3$), формілтрансферази — перенос формільних груп);

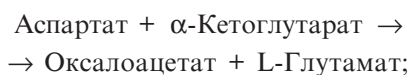
б) залишків фосфорної кислоти — фосфотрансферази (наприклад, гексокіназа: АТФ + гексоза \rightarrow гексозо-6-фосфат + АДФ);

в) аміногруп — амінотрансферази. З них найбільш досліджені дві: аланінамінотрансфераза (АЛТ) і аспаргатамінотрансфераза (АСТ).

АЛТ каталізує реакцію оборотного переносу аміногрупи між α -аланіном і α -кетоглутаровою кислотою з утворенням пірувату і α -глутамінової кислоти:

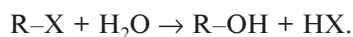


АСТ каталізує реакцію оборотного переносу аміногрупи між аспарагіною кислотою й α -кетоглутаровою кислотою з утворенням оксалоацетату і L-глутамінової кислот:



г) трансферази, що каталізують перенос залишків різних кислот (ацилів), — ацилтрансферази (наприклад, перенос ацилів із коензиму А на гліцеролфосфору кислоту в процесі біосинтезу тригліцеридів). Розрізняють також глікозилтрансферази, що каталізують перенос залишків вуглеводів, й інші трансферази.

3. **Гідролази.** До класу гідролаз належать ферменти, що каталізують розщеплення внутрішньомолекулярних зв'язків органічних речовин за участю молекули води:



Найменування їх складається за формулою: «субстратгідролаза» (наприклад, ацетил-КоА-гідролаза — фермент, що розщеплює за участю молекули води ацетил-КоА на коензим А й оцтову кислоту). До гідролаз належать ферменти, що гідролізують складні ефірні, глікозидні, пептидні зв'язки та ін. Ферменти, що каталізують гідроліз складних ефірів карбонових кислот, мають робочу назву естерази (від лат. *ester* — ефір). Наприклад, фермент ліпаза каталізує гідроліз зв'язків гліцеридів, розщеплюючи їх на гліцерол і карбонові кислоти; ацетилхолінестераза каталізує гідроліз ацетилхоліну на холін і оцтову кислоту. Ферменти, що каталізують гідроліз фосфомоноестерів, за робочою номенклатурою називаються фосфатазами (наприклад, глюкозо-6-фосфатаза каталізує гідроліз глюкозо-6-фосфату на глюкозу і фосфорну кислоту). Ферменти, що каталізують гідроліз глікозидних зв'язків, розщеплюють вуглеводи (амілаза, мальтаза, лакта-

за, сахароза та ін.). Ферменти, що каталізують гідроліз пептидних зв'язків, називаються пептидгідролази (пепсин, трипсин, хімотрипсин).

4. **Ліази.** До класу ліаз належать ферменти, що каталізують відщеплення від субстратів негідролітичним шляхом різних груп з утворенням подвійного зв'язку або приєднання різних груп до місця подвійного зв'язку. Систематична назва цих ферментів утворюється аналогічно гідролазам, тобто «субстрат-відщеплена група-ліаза» (наприклад, малатгідроліаза каталізує оборотне відщеплення молекули води від яблучної кислоти з утворенням fumarової кислоти). Залежно від характеру зв'язків, які руйнують ліази, вони поділяються на Карбон-Карбон-ліази (С-С-ліази), Карбон-Оксиген-ліази (С-О-ліази), Карбон-Нітроген-ліази (С-N-ліази) та ін. До Карбон-Карбон-ліаз належать декарбоксілази (піруват-декарбоксілаза). Карбон-Оксиген-ліази за робочою номенклатурою називаються дегідратазами (гідратазами). Це, наприклад, карбоангідраза, що розщеплює вугільну кислоту на CO_2 і H_2O . Прикладом ферменту, що діє на Карбон-Нітроген-зв'язок, може бути фермент аргінінсуццинатліаза, що каталізує розщеплення аргінінбурштинової кислоти на аргінін і fumarову кислоту.

5. **Ізомерази.** До класу ізомераз належать ферменти, що каталізують різні типи реакції ізомеризації з утворенням різних ізомерів, тобто речовин однакового хімічного складу і молекулярної маси, але різних за будовою молекули і властивостями. Ізомерази, що діють на субстрати з одним асиметричним атомом Карбону, називаються рацемазами. Якщо ізомерази діють на субстрати з кількома асиметричними атомами Карбону, то вони називаються епімеразами. Наприклад, УДФ-глюкозо-епімераза перетворює УДФ-глюкозу на УДФ-галактозу. До ізомераз належать також цис-транс-ізомерази. Якщо ізомеризація включає внутрішньомолекулярний перенос груп, фермент дістає назву мутаза. Наприклад, фосфоглюкомутаза каталізує взаємоперетворення глюкозо-1-фосфату на глюкозо-6-фосфат.

6. **Лігази (синтетази).** До класу лігаз належать ферменти, що каталізують синтез органічних речовин із двох вихідних молекул з використанням енергії АТФ або інших нуклеозидтрифосфатів. Систематична назва лігаз складається за формою «X-Y-лігаза», де через X-Y позначаються вихідні речовини (наприклад, глутаматаміаклігаза). За участю цього ферменту з глутамінової кислоти й аміаку в присутності АТФ синтезується глутамін — одна з транспортних форм аміаку.

Залежно від характеру зв'язків, що утворюються, лігази поділяються на такі, що утворюють С-С-зв'язки, С-О-зв'язки, С-N-зв'язки та ін. До лігаз, що утворюють С-С-зв'язки, належить, наприклад, ацетил-КоА-карбоксілаза, що каталізує біосинтез малоніл-КоА з ацетил-КоА і CO_2 ; піруваткарбоксілаза, що каталізує біосинтез шавлевооцтової кислоти з пірвіноградної кислоти і CO_2 . До лігаз, що утворюють С-О-зв'язки, належить, наприклад, фермент аміноацилсинтетаза, що каталізує утворення аміноацил-тРНК

у процесі біосинтезу білків. До лігаз, що утворюють C-N-зв'язки, належать пептидсинтетази, що каталізують утворення пептидних зв'язків.

Специфічність дії ферментів

Специфічність дії ферментів — це спрямованість дії ферменту на певний субстрат або групу близьких за структурою й властивостями субстратів. Специфічність зумовлена конформаційною й електростатичною комплементарністю між молекулами субстрату та ферменту й унікальною структурою активного центру ферменту, чим забезпечується висока спорідненість і вибірковість перебігу однієї реакції серед багатьох інших. Розрізняють такі види специфічності:

1. *Абсолютна специфічність* — фермент каталізує перетворення тільки одного субстрату (наприклад, аргіназа розщеплює аргінін на орнітин і сечовину; уреаза каталізує розпад тільки сечовини, а на тіосечовину не впливає).



Сечовина



Тіосечовина

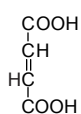
2. *Групова специфічність* — фермент каталізує перетворення групи субстратів, що мають один тип будови і спільний тип зв'язку в будові субстратів, а також будову ділянки молекули субстратів, яка цей зв'язок оточує. Так, α -амілаза розщеплює крохмаль і глікоген. Обидва субстрати мають один тип зв'язку — α -1-4-глікозидний зв'язок, утворений залишками глюкози.

3. *Відносна специфічність дії ферменту* — це здатність діяти на субстрати, що мають один певний тип хімічного зв'язку. Травні ферменти — пепсин, трипсин — специфічні щодо пептидних зв'язків, утворених певними амінокислотами в різних білках.

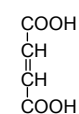
Ліпаза гідролізує складноєфірні зв'язки в триацилгліцерилах, побудованих із залишків гліцеролу й різних вищих кислот. Цитохром P-450 бере участь у гідроксилуванні різних сполук (близько 7000 найменувань). Це найменш специфічна ферментна система, що бере участь у перетворенні природних речовин, ліків, отрут.

4. *Стереохімічна специфічність* — фермент каталізує перетворення тільки одного з можливих стереоізомерів субстрату (D- або L-форму, цис- або транс-ізомерів).

Відомі оксидази D- і L-амінокислот. Оксидаза D-амінокислот високоактивна при фізіологічних значеннях рН середовища, порівняно з оксидазою L-амінокислот (оптимум рН=10). Фумараза каталізує перетворення тільки фумарату (транс-ізомер) і не діє на малеїнат (цис-ізомер):



Фумарат



Малеїнат

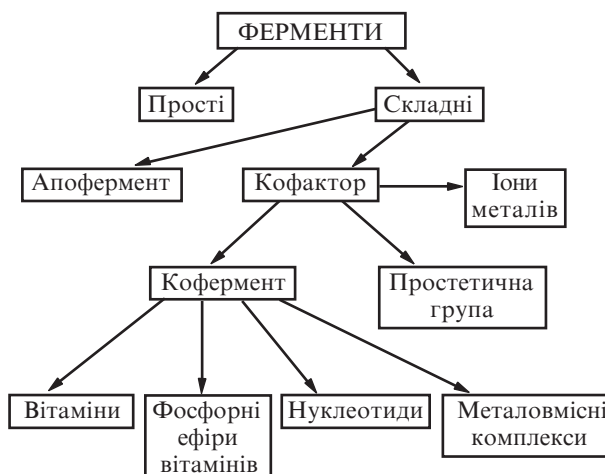
Таким чином, завдяки специфічності дії ферментів забезпечується перебіг із високою швидкістю певних реакцій з величезного різноманіття можливих перетворень, чим регулюється інтенсивність обміну речовин.

6.2. КОФАКТОРИ ТА КОФЕРМЕНТИ. КОФЕРМЕНТНІ ФУНКЦІЇ ВІТАМІНІВ

За хімічним складом ферменти поділяються на дві групи: прості й складні ферменти. Прості ферменти-протеїни представлені поліпептидними ланцюгами й при гідролізі розпадаються на амінокислоти. До таких ферментів належать: пепсин, хімотрипсин, α -амілаза, ліпаза.

Більшість природних ферментів — це складні ферменти, які складаються з білкової частини (апофермент) і небілкової (кофактора). Складний фермент, що складається з апоферменту й кофактора, називається холоферментом:

Холофермент = Апофермент + Кофактор (кофермент, простетична група)



Зв'язок між білковою й небілковою частиною в складних ферментах може бути різної міцності. У тих випадках, коли небілкова частина ферменту міцно зв'язана з апоферментом ковалентним зв'язком, вона називається *простетичною групою* (наприклад, у молекулі ацетил-КоА-карбоксилази біотин ковалентно зв'язаний з апоферментом за допомогою амідного зв'язку).

Якщо небілкова частина ферменту слабо зв'язана з ферментним білком (наприклад, водневими або іншими зв'язками) і з'єднується з ним тільки під час каталітичної реакції, то вона називається *коферментом*. Типові представники коферментів: НАД⁺ і НАДФ⁺.

Однак різницю між простетичною групою й коферментом не можна абсолютизувати, оскільки в одних випадках, наприклад, в оксидазі D-амінокислот ФМН може бути легко відділений від білкової частини шляхом діалізу; той же ФМН міцно зв'язаний ковалентно з ферментами

тканинного дихання, виконуючи функції простетичної групи. Яка роль апоферменту й коферменту (простетичної групи) у каталізі? Один кофермент може з'єднуватися з різними апоферментами з утворенням різних ферментів, які каталізують різні біохімічні реакції. Наприклад, ПАЛФ є коферментом амінотрансфераз і декарбоксилаз амінокислот, НАД⁺ і НАДФ⁺ входять до складу більш як 150 різних ферментів. Саме апофермент визначає специфічність дії складного ферменту. Однак без коферменту складний фермент функціонувати не може, тому що кофермент, як правило, безпосередньо взаємодіє з субстратом. Отже, до коферментів належать органічні речовини порівняно складної будови, що беруть безпосередню участь у ферментативних реакціях.

Важливу роль у ферментативних реакціях виконують так звані *кофактори*. Це, як правило, речовини менш складної будови, зокрема, іони металів й інші неорганічні сполуки. Кофактори найчастіше не контактують із субстратом і не беруть участь у реакції, а переводять фермент в активну форму, сприяючи каталітичній реакції. Наприклад, іони Mg²⁺ активують фермент аденозинтрифосфатазу, іони Zn²⁺ — деякі пептидази. Однак цей поділ умовний, тому що іони можуть входити до складу ферментів і брати участь у каталітичній реакції як частина молекули ферменту.

Іони металів як кофактори ферментів

Металоферменти — дуже поширена група ферментів (чверть від усіх ферментів) (табл. 6.1). Іони металів як кофактори входять до складу ферментів, що належать до різних класів. Металоферменти, що каталізують реакції окиснення-відновлення, досить численні. Іон металу може перебувати в активному центрі або входити до складу органічної молекули (наприклад гемму),

або може бути зв'язаний залишками амінокислот апоферменту. Оскільки під дією оксидоредуктаз відбувається перенос електронів і змінюється ступінь окиснення субстратів, то в ролі кофакторів виступають іони металів зі змінним ступенем окиснення: Ферум, Купрум, Молібден, Кобальт. Металоферменти, що каталізують реакції гідролізу субстратів, містять метали з постійним ступенем окиснення: Цинк, Кальцій, Магній.

Роль металів у каталітичній дії ферменту

Метал, будучи електрофільною групою активного центру, здатний взаємодіяти з негативно зарядженими групами субстрату. Такий метало-субстратний комплекс легше атакується ферментом. Наприклад, іони Mg²⁺ або Mn²⁺ утворюють комплекс із АТФ або АДФ у реакціях, що каталізуються кінзама й АТФазою. У разі відсутності металів ферменти малоактивні або не активні.

Метал зі змінною валентністю сам може брати участь у транспорті електронів (іони Fe³⁺ → Fe²⁺ у цитохромах в, с₁, с, а, а₃).

Метал сприяє формуванню каталітично активної конформації третинної й четвертинної структури апоферменту. Стабілізація можлива шляхом утворення сольових містків між іоном металу й карбоксильними групами амінокислот. Наприклад, позбавлена Цинку алкогольдегідрогеназа дисоціює на субодиноці й втрачає активність. Іони металів служать своєрідним містком між апоферментом і коферментом. Нормальна функція великого сімейства металоферментів залежить від нормального надходження в організм металів, що здебільшого належать до групи мікроелементів, звідси й висока біологічна роль цих металів: недостатнє надходження їх з їжею може спричинити серйозні порушення обміну речовин в організмі.

Таблиця 6.1

Деякі металозалежні ферменти

Фермент	Іон металу	Механізм участі у каталізі
Гексокіназа	Mg ²⁺	Зв'язування субстрату
Піруваткіназа	Mg ²⁺ , K ⁺	Зв'язування субстрату
Аргіназа	4 Mn ²⁺	Зв'язування субстрату й каталіз
Піруват-карбоксилаза	4 Mn ²⁺	Каталіз
Транскетолаза	Ca ²⁺	Стабілізація четвертинної структури
Супероксид-дисмутаза	2 Zn ²⁺ , 2 Cu ²⁺	Каталіз
γ-Амілаза	Ca ²⁺ та аніон Cl	Стабілізація третинної структури

Коферменти, їх хімічна будова й функції

Коферментами можуть бути різноманітні за хімічною структурою органічні речовини. Вони поділяються на такі групи:

1. Коферменти — вітаміни.
2. Коферменти — фосфорні ефіри вітамінів.
3. Коферменти — нуклеотиди.
4. Коферменти — металовмісні комплекси.

1) До *коферментів-вітамінів* належать, наприклад, такі вітаміни, як ліпоева кислота, фоліева кислота, біотин та ін. Ліпоева кислота є одним із коферментів піруватдегідрогеназного комплексу, альфа-кетоглутаратдегідрогеназного комплексу, що каталізують окисне декарбоксилювання відповідно пірувату й альфа-кетоглутарату до ацетил-КоА і сукциніл-КоА. Біотин входить до складу ферментів, що каталізують реакції карбоксилювання. Наприклад, при біосинтезі вищих жирних кислот біотин необхідний для перетворення ацетил-КоА на малоніл-КоА (ацетил-КоА-карбоксилаза). Біотин є коферментом

піруваткарбоксілази, що каталізує перетворення пірувату на оксалоацетат.

2) *Коферменти — фосфорні ефіри вітамінів.* До них належать тіамініпрофосфат (ТПФ), піридоксальфосфат (ПАЛФ), піридоксамінфосфат (ПАМФ). Тіамініпрофосфат входить до складу таких ферментів, як піруват та α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекси, транскетолаза. Коферменти ПАЛФ і ПАМФ є фосфорними ефірами вітаміну В₆, вони входять до складу амінотрансфераз, що каталізують оборотне перетворення амінокислот на кетокислоти. Піридоксальфосфат є коферментом декарбоксілаз, що каталізують утворення біогенних амінів з амінокислот.

3) *Коферменти-нуклеотиди* — ця група коферментів поділяється на дві підгрупи: коферменти-мононуклеотиди і коферменти-динуклеотиди.

а) До коферментів-мононуклеотидів належать АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ і ФМН. Як кофермент АТФ входить до складу таких ферментів, як гексокіназа і гліцеролкіназа. Перший каталізує перенос фосфату від АТФ на гексози з утворенням фосфорних ефірів гексоз. Гліцеролкіназа каталізує перенос фосфату з АТФ на гліцерол з утворенням активної форми гліцерол-3-фосфату. Так само АТФ є коферментом ферментів аміноацилсинтез, що каталізують перенос АМФ від АТФ на амінокислоту з утворенням аміноациладенілатів — активної форми амінокислоти, необхідної в процесі біосинтезу білка. Також АТФ є коферментом ферментів, які каталізують перенос аденозину з АТФ на метіонін з утворенням активної форми метіоніну — S-аденозилметіоніну; ГТФ бере участь у біосинтезі білків, ЦТФ — у біосинтезі фосфоліпідів, УТФ — у біосинтезі глікогену; ФМН є коферментом оксидази альфа-амінокислот і НАДН-дегідрогенази, складається з рибофлавіну і залишку фосфорної кислоти.

б) Коферменти-динуклеотиди. До них належать НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД і коензим А. Одним із мононуклеотидів усіх цих коферментів є аденозинмонофосфат. Другою частиною цих коферментів є специфічний нуклеотид, у якому азотиста основа представлена відповідним вітаміном.

Кофермент НАД⁺ — нікотинамідаденідинуклеотид — складається з двох мононуклеотидів: перший — аденілова кислота, другий — амід нікотинової кислоти, рибоза та фосфат. Обидва мононуклеотиди з'єднані між собою залишками фосфорної кислоти. Нікотинамідаденідинуклеотидфосфат (НАДФ⁺) також є динуклеотидом, але містить у своєму складі не два, а три залишки фосфорної кислоти.

Коферменти НАД⁺ і НАДФ⁺ здатні оборотно приймати електрони і протони, тому вони входять до складу дегідрогеназ. Окиснені форми коферментів у реакціях позначають НАД⁺, НАДФ⁺, а відновлені — НАДН+Н⁺ і НАДФН+Н⁺. Усі ферменти, що містять як кофермент НАД⁺ чи НАДФ⁺, звуться нікотинамідними (піридиноними) ферментами, їх відомо більше 150. Так, НАД⁺ входить до складу таких ферментів, як піруватдегідрогеназа, α -кетоглутаратдегідрогеназа, лактатдегідрогеназа, β -гідроксіацил-

КоА-дегідрогеназа, гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа та ін.; НАДФ⁺ як кофермент входить до складу глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, ізоцитратдегідрогенази та ін.

Флавінаденідинуклеотид (ФАД) складається з аденілової кислоти та ФМН (флавінмононуклеотиду), які з'єднані між собою пірофосфатним зв'язком. Ферменти, до складу яких входить ФАД чи ФМН, називаються флавіновими ферментами (флавопротеїнами). Особливістю коферментів ФМН і ФАД є здатність до реакцій окиснення-відновлення. Найважливішими ферментами, що містять кофермент ФАД, є піруват та α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекси, ацил-КоА-дегідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа.

Коензим А, чи кофермент А (КоА), складається з аденілової кислоти і пантотеїну, які з'єднані між собою пірофосфатним зв'язком, пантотеїн — з вітаміну пантотенової кислоти, меркаптоетиламіну та залишку фосфорної кислоти. Коензим А є коферментом у піруват і α -кетоглутаратдегідрогеназному комплексах, бере участь в утворенні активних форм жирних кислот — ацил-КоА.

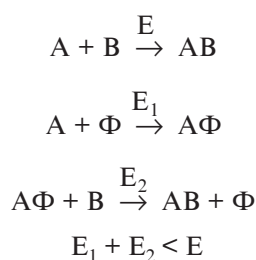
4) *Коферменти — металовмісні комплекси.* До них належать ферумпорфіринові комплекси, інші металовмісні коферменти. Головною складовою частиною ферумпорфіринових комплексів є 4 пірольних кільця, зв'язані із Ферумом. Ферумпорфіринові комплекси входять до складу таких ферментів, як цитохроми, каталаза, пероксидаза. Цитохроми — ферменти тканинного дихання, що каталізують передачу електронів на кисень. Каталаза перетворює пероксид гідрогену на воду та кисень. Пероксидаза також каталізує перетворення перекису гідрогену за участю атомів Гідрогену. До металовмісних ферментів належать ксантиноксидаза (молібденфлавопротеїн, що каталізує окиснення ксантину до сечової кислоти), церулоплазмін і цитохромоксидаза (купрумвмісні протеїни) каталізують реакції окиснення, карбоангідраза — цинковмісний фермент та ін.

6.3. МЕХАНІЗМ ДІЇ ТА ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ. КІНЕТИКА

Швидкість хімічних реакцій залежить: а) від концентрації реагуючих речовин; б) від ступеня хімічної спорідненості реагуючих речовин; в) від кількості активних молекул реагуючих речовин. Якщо у лабораторних умовах можна змінювати концентрацію сполук, підбирати сполуки, які вступають до хімічної реакції, збільшувати кількість активних молекул (наприклад нагріванням), то в біологічних системах, зокрема в клітинах, всі перелічені умови має виконати фермент, що бере участь у реакції. Молекули субстрату, що знаходяться в середовищі у певній концентрації, адсорбуються на поверхні ферменту, особливо біля його активного центру, при цьому концентрація молекул субстрату на фер-

менті багаторазово збільшується. У формуванні ферментсубстратного комплексу беруть участь водневі зв'язки, електростатичні та гідрофобні взаємодії, ковалентні та координаційні зв'язки. Індукована відповідність субстрату та ферменту створюється зміною конформації білкової молекули, геометричною й електронно-топографічною перебудовою молекули субстрату.

Ферменти прискорюють реакції за рахунок зниження енергії активації, яка необхідна для переходу молекул речовин у активний стан. Якщо для перебігу хімічної реакції між сполуками А і В потрібно витратити певну кількість енергії Е, то утворення ферментсубстратного комплексу потребує енергії E_1 , а сполучення А і В за участю ферменту потребує енергії E_2 , що сумарно значно менше, ніж Е.



Так, каталаза знижує енергію активації з 77,8 до 22,5 кДж/моль, тобто більш ніж утричі.

Основною умовою ферментативної реакції є те, що для здійснення свого впливу фермент повинен з'єднатися з субстратом. Після утворення ферментсубстратного комплексу субстрат перетворюється на продукт реакції та вивільняється, а фермент повертається у вихідний стан. Швидкість реакції вимірюється кількістю продукту, що утворюється під впливом ферменту (або кількістю субстрату, що прореагував) за одиницю часу. Швидкість ферментативних реакцій залежить від впливу зовнішніх умов (температура, рН середовища, вплив природних і чужорідних сполук тощо).

Основи кінетики ферментативних реакцій були закладені в роботах Міхаеліса і Ментен (1913). Швидкість ферментативної реакції є мірою каталітичної активності ферменту (позначається просто — активність ферменту).

Шляхи визначення ферментативної активності: а) за кількістю субстрату, перетвореного за одиницю часу (пепсин, трипсин); б) за кількістю продукту реакції, утвореного за одиницю часу (ліпаза); в) за часом, необхідним для перетворення певної кількості субстрату (амілаза).

Залежність швидкості каталізу від концентрації субстрату й ферменту

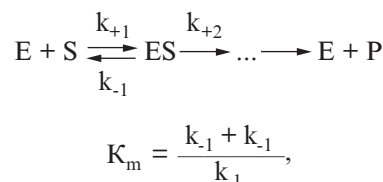
Швидкість реакції не пропорційна концентрації субстрату. При збільшенні концентрації субстрату швидкість спочатку збільшується, а потім наближається до деякої постійної величини, а крива зміни швидкості — до певного граничного значення, що відповідає максимальній швидкості.

Етапи реакцій:

а) взаємодія ферменту (Е) і субстрату (S), утворення проміжного ферментсубстратного комплексу (ES). Слід зазначити, що кожна хімічна реакція має свою константу швидкості (k_{+1}). Але не всі 100% молекул ферментсубстратного комплексу, що утворилися, візьмуть участь у подальших перетвореннях. Певна частина із них дисоціює з константою швидкості, характерною для кожної реакції (k_{-1}). Кількість утворених молекул ферментсубстратного комплексу залежатиме від співвідношення $(k_{+1})/(k_{-1})$;

б) перетворення ферментсубстратного комплексу і перебіг хімічної реакції відбуватиметься також із певною швидкістю, характерною для кожної реакції (k_{+2});

в) дисоціація комплексу і відділення продуктів реакції від ферменту. Таким чином, кожна реакція має певне співвідношення між константами швидкостей «прямої» реакції утворення ферментсубстратного комплексу, «зворотної» реакції його дисоціації та реакції розпаду на фермент і продукт реакції (рівняння Міхаеліса — Ментен):



де K_m — константа Міхаеліса (концентрація субстрату, при якій швидкість реакції дорівнює половині від максимальної).

Графічне зображення рівняння Міхаеліса — Ментен показує залежність швидкості реакції від концентрації субстрату (рис. 6.2):



Рис. 6.2. Залежність швидкості реакції від концентрації субстрату

Чим активніший фермент, тим нижче значення його K_m . По тому, як змінюється швидкість реакції при різних концентраціях субстрату, можна судити про порядок реакції, який необхідно знати для роботи з ферментами й для правильного визначення їхньої активності в клінічних ла-

бораторіях. Порядок реакції може варіювати від нульового й вище. При нульовому порядку швидкість реакції — величина постійна, не залежить від концентрації субстрату. При цьому швидкість реакції максимальна (V_{\max}).

При першому порядку реакції її швидкість прямо пропорційна концентрації одного з субстратів. Для того, щоб правильно визначити активність ферменту, потрібно домогтися нульового порядку реакції, тобто визначити швидкість ферментативної реакції при насичуючих концентраціях субстрату. У цьому випадку всі зміни швидкості реакції залежатимуть тільки від кількості ферменту.

Застосовуючи метод подвійних зворотних величин, Г. Лайнуївер і Д. Берк перетворили гіперболічну криву рівняння Міхаеліса — Ментен на графік лінійної залежності (рис. 6.3):

$$y = ax + b,$$

де $y = 1/V$; $x = 1/[S]$, а тангенс кута нахилу дорівнює K_m/V_{\max} .

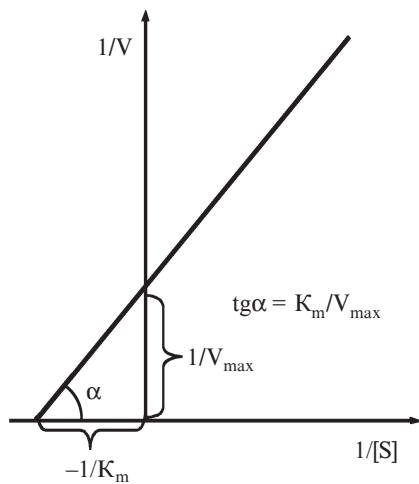


Рис. 6.3. Графік рівняння Лайнуївера — Берка

Щоб оцінити умови роботи будь-якого ферменту в клітинах організму, необхідно знати, як реально змінюються в них концентрації субстратів.

У фізіологічних умовах ферменти майже ніколи не працюють на повну силу, тому що концентрації субстратів для них далекі від насичуючих. Можливо, що тільки єдиний субстрат, необхідний для дії гідролаз, — вода — присутня в клітинах у насичуючих концентраціях, за винятком випадків, коли структурна локалізація ферменту обмежує доступ до активного центру.

Залежність швидкості реакції від кількості ферменту має лінійний характер, що відрізняє фермент від небіологічних каталізаторів. Із цього треба зробити висновок, що чим більше молекул даного ферменту в клітині організму порівняно з іншими, тим вища в ній швидкість реакції, що каталізує цей фермент. Якщо ж якого-небудь ферменту недостатньо (порушений синтез), то швидкість реакції, що він каталізує, обмежує хід пов'язаних із нею біохімічних процесів.

Збільшення кількості молекул ферменту, що досягається шляхом природної стимуляції їхнього утворення або за допомогою препаратів, дозволяє або відновлювати порушену швидкість реакцій, або пристосувати необхідні біохімічні реакції до нових умов життєдіяльності.

Залежність швидкості ферментативної реакції від рН середовища

Ферментативні реакції дуже чутливі до рН середовища. Це пов'язане з трьома факторами:

1) при екстремальних значеннях рН необоротно змінюється структура ферменту, оскільки в цих умовах може відбуватися денатурація білка, а в деяких випадках — і зміна характеру зв'язку між апоферментом і коферментом;

2) зміна рН у більшості випадків порушує характер іонізації субстрату;

3) значення рН впливає на іонізацію кислих і основних груп амінокислотних залишків активного центру, які беруть участь у зв'язуванні субстрату (у контактній ділянці) або в його перетворенні (у каталітичній ділянці).

Тому специфічний вплив рН може спричинити: зміну спорідненості субстрату до ферменту; зміну каталітичної активності ферменту; обидва порушення разом. Існує залежність швидкості ферментативної реакції від рН середовища, для кожного ферменту існує свій оптимум рН, при якому швидкість реакції, що він каталізує, максимальна. Відхилення рН у ту чи іншу сторону веде до зниження швидкості ферментативної реакції. Більша частина ферментів клітин має оптимум рН, близький до нейтрального, тобто співпадаючий з фізіологічними значеннями рН. Діапазон коливань рН у фізіологічних умовах незначний, але зміни рН на обмеженій ділянці клітини можуть бути. Вони впливають на діяльність ферментів. Наприклад, при активній м'язовій роботі накопичується молочна кислота, яка зрушує рН середовища у м'язових клітинах у кислому сторону, що змінює швидкість ферментативних реакцій. Знання оптимумів рН окремих ферментів важливе для практичної медицини. Наприклад, пепсин для активного гідролізу білків у шлунку потребує сильнокислового середовища, тому для відновлення порушеної активності ендogenous пепсину необхідно застосовувати кислі речовини. Препарат пепсину вживають із соляною кислотою, що створює потрібний рН.

Залежність швидкості ферментативної реакції від температури

Оптимальні значення температури для більшості ферментів перебувають у межах $20\text{--}40\text{ }^\circ\text{C}$. Термолабільність ферментів пов'язана з їхньою білковою будовою. Деякі ферменти денатурують уже при температурі близько $40\text{ }^\circ\text{C}$, але основна частина їх інактивується при температурі вище $40\text{--}50\text{ }^\circ\text{C}$. У окремих ферментів при температурах, близьких до $0\text{ }^\circ\text{C}$, настає денатурація. Однак де-

які ферменти не підпорядковуються цим закономірностям. Наприклад, фермент каталаза найактивніший при температурах, що наближаються до 0 °С. Існують і термостабільні ферменти — так, аденілаткіназа витримує короткочасно температуру 100 °С без інактивації. Мікроорганізми, що живуть у гарячих джерелах, містять білки, у тому числі й ферменти, що відрізняються високою термостабільністю.

Штучне охолодження організму (гібернація) використовується в клініці для проведення хірургічних операцій. Охолодження тіла сповільнює швидкість ферментативних реакцій, що дозволяє знизити витрату речовин і довше зберегти життєздатність клітин організму.

Підвищення температури тіла (гарячковий стан — наприклад при інфекціях) прискорює біохімічні реакції, що каталізують ферменти. Збільшення температури тіла на кожний градус підвищує швидкість реакції приблизно на 20 %. При високих температурах близько 39–40 °С марне використання ендогенних субстратів у клітинах хворого організму обов'язково потрібно поповнювати їхнім надходженням з їжею або ліками. Крім того, при температурі близько 40 °С частина досить термолабільних ферментів може денатуруватися, що порушує природний хід біохімічних процесів.

Одиниці активності ферментів

Для вираження концентрації ферменту й кількісної оцінки його активності рекомендована стандартна міжнародна одиниця (Е або U). Одиниця активності ферменту — та кількість його, яка в оптимальних умовах каталізує перетворення 1 мікромоля субстрату або утворення 1 мікромоля продукту за 1 хв (мкмоль/хв). Існує також одиниця каталітичної активності «катал», що являє собою кількість ферменту, здатну перетворити 1 моль субстрату за 1 с у стандартних умовах (температура, рН, насичуюча концентрація субстрату).

Рекомендовано вимірювати активність ферменту при температурі 25 °С при оптимумі рН і концентрації субстрату, що перевищує концентрацію насичення. У цих випадках швидкість реакції відповідає нульовому порядку реакції відносно субстрату й залежатиме тільки від концентрації ферменту. У практичній роботі з ферментами користуються поняттями питомої й мольної активності.

6.4. РЕГУЛЯЦІЯ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ. ІНГІБІТОРИ. АКТИВАТОРИ

Регуляція активності ферментів може здійснюватися шляхом взаємодії з ними різних біологічних компонентів і чужорідних сполук (ліків і отрут), які прийнято називати модифікаторами або регуляторами ферментів. Під дією модифікаторів на фермент реакція може прискорюватися (у цьому

випадку їх називають активаторами) або вповільнюватися (у цьому випадку їх називають інгібіторами).

Активація ферментів

Активація ферментів визначається за прискоренням біохімічних реакцій, що настає після дії модифікатора. Одна група активаторів — це речовини, що впливають на ділянку активного центру ферменту. До них належать кофактори ферментів і субстрати. Кофактори (іони металів і коферменти) є не тільки обов'язковими структурними елементами складних ферментів, але й, по суті, їхніми активаторами. Для Na^+ , K^+ -АТФази, що здійснює транспорт одновалентних катіонів через клітинну мембрану, необхідні як активатори іони Магнію, Натрію й Калію.

Активація за допомогою іонів металів здійснюється за різними механізмами. У деяких ферментах вони входять до складу каталітичної ділянки, іони металів полегшують зв'язування субстрату з активним центром ферменту. Іноді метал з'єднується не з ферментом, а з субстратом, утворюючи металосубстратний комплекс. Іони металів, коферменти, їхні попередники й активні аналоги, субстрати можна використовувати на практиці як препарати, що активують ферменти.

Активація деяких ферментів може здійснюватися шляхом модифікації, що не зачіпає активний центр їхніх молекул. Можливі кілька варіантів такої модифікації:

1. Активація неактивного попередника — проферменту, або зимогену.
2. Активація шляхом приєднання якої-небудь специфічної модифікуючої групи до молекули ферменту, хімічна модифікація (фосфорилювання й дефосфорилювання апоферменту).
3. Регуляція за принципом зворотного зв'язку (ретроінгібування через алостеричний центр).
4. Конкуренція за субстрат або кофермент.
5. Активація шляхом дисоціації неактивного комплексу білок — активний фермент.

Інгібування ферментів

Інгібітори характеризуються, насамперед, такою загальною ознакою, як міцність зв'язування з ферментом. За цією ознакою інгібітори діляться на дві групи: оборотні й необоротні. Зарахувати інгібітори до відповідної групи дозволяє критерій відновлення активності ферменту після діалізу або сильного розведення розчину ферменту з інгібітором.

Оборотне інгібування:



Необоротне інгібування:



Частіше відбувається оборотне інгібування, що підлягає кількісному вивченню на основі рівняння Міхаеліса — Ментен. Оборотне інгібу-

вання у свою чергу поділяють на конкурентне й неконкурентне — залежно від того, чи можливо відновити активність ферментативної реакції шляхом збільшення концентрації субстрату. Конкурентним інгібуванням називається гальмування ферментативної реакції, спричинене зв'язуванням інгібітора з активним центром ферменту, інгібітор і субстрат, будучи подібними за будовою, конкурують за активний центр ферменту. З активним центром зв'язується та сполука, молекулу якої більше (рис. 6.4).

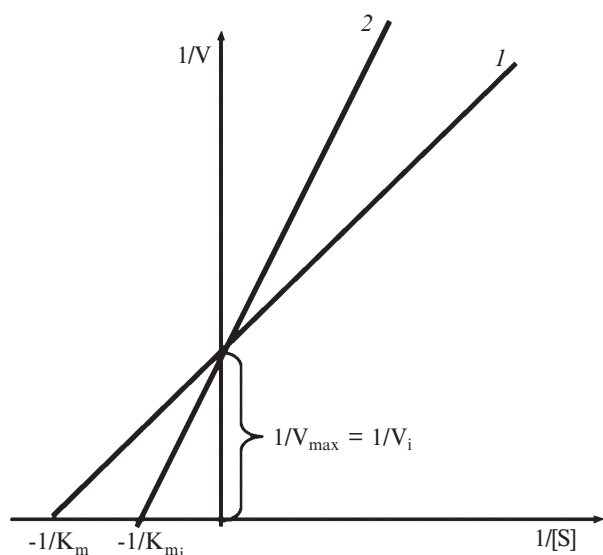


Рис. 6.4. Конкурентне інгібування ферментів:
1 — графік Лайнуївера — Берка без інгібітора;
2 — графік Лайнуївера — Берка в присутності конкурентного інгібітора

При конкурентному типі інгібування інгібітор збільшує значення K_{m_i} , не впливаючи на максимальну швидкість V_{max} . Це означає, що при досить високій концентрації субстрату $[S]$ інгібітор витісняється молекулами субстрату з комплексу EI . Класичним прикладом подібного типу інгібування є вплив різних речовин на активність сукцинатдегідрогенази — ферменту циклу Кребса. Його природним субстратом є сукцинат, а подібним до нього конкурентним інгібітором — оксалоацетат, проміжний продукт того ж циклу Кребса.

Аналогічним конкурентним інгібітором сукцинатдегідрогенази є малонова кислота, що часто використовується в біохімічних дослідженнях.



Метод конкурентного інгібування знайшов широке застосування в медичній практиці:



Для лікування деяких інфекційних захворювань, викликаних бактеріями, застосовують сульфаніламідні препарати. Виявилось, що ці препарати мають структурну подібність із параамінобензойною кислотою, яку бактеріальна клітина використовує для синтезу фолієвої кислоти, що є складовою частиною ферментів бактерій. Завдяки структурній подібності сульфаніламід блокує дію ферменту шляхом витиснення параамінобензойної кислоти з комплексу з ферментом, що синтезує фолієву кислоту.

Неконкурентним інгібуванням ферменту називається гальмування, пов'язане з впливом інгібітора на каталітичне перетворення, але не на зв'язування субстрату з ферментом. Неконкурентний інгібітор може зв'язуватися безпосередньо з каталітичними групами активного центру ферменту або з ферментом поза активним центром, що заважає взаємодії з субстратом. Дія неконкурентних інгібіторів не усувається додаванням надлишку субстрату.

У присутності інгібіторів такого типу частини ферментів інактивується, швидкість реакції (зокрема максимальна швидкість) зменшується, але константа Міхаеліса залишається без змін.

Неконкурентне інгібування може бути оборотним і необоротним. При оборотному неконкурентному інгібуванні субстрат S й інгібітор I зв'язуються з різними центрами, тому з'являється можливість утворення як комплексу EI , так і комплексу EIS ; останній може розпадатися зі звільненням продукту, але з меншою швидкістю, ніж комплекс ES (рис. 6.5).

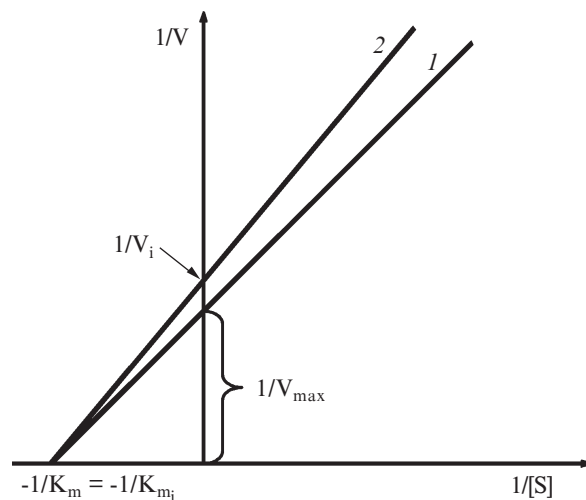


Рис. 6.5. Неконкурентне інгібування ферментів:
1 — графік Лайнуївера — Берка без інгібітора;
2 — графік Лайнуївера — Берка в присутності неконкурентного інгібітора

До неконкурентних інгібіторів належать іони важких металів (Меркурію, Плюмбуму, Кадмію, Арсену) і їхні органічні сполуки. Вони блокують, наприклад, SH -групи (цистеїну), що входять у каталітичну ділянку ферменту. Неконкурентними інгібіторами є, наприклад, ціаніди, які міцно

з'єднуються з Fe^{3+} , що входить у каталітичну ділянку цитохромоксидази. Блокада цього ферменту виключає дихальний ланцюг і клітина гине. У медицині застосовують препарати, що містять Меркурій, Арсен, Бісмут, які неконкурентно інгібують ферменти в клітинах організму або бактерій.

Активні й алостеричні центри ферментів

Експериментально виявлено, що відняття шляхом обмеженого протеолізу певної частини ферментного білка не спричинює втрати каталітичної активності. Це дозволило зробити висновок, що під час ферментативної реакції вступає у контакт із субстратом не вся молекула ферменту, а лише деяка її частина — активний центр ферменту (каталітичний центр). Він являє собою ділянку молекули ферменту, де відбувається зв'язування та перетворення субстрату на відповідний продукт або продукти ферментативної реакції. Активні центри простих ферментів звичайно складаються із залишків амінокислот, що містять карбоксильні групи, аміногрупи, сульфгідрильні групи, оксигрупи й інші хімічні групи, розташовані певним чином, як і самі амінокислоти, в активному центрі ферментів. Активні центри складних ферментів утворюються з коферменту та частини апоферменту, що прилягає до нього. Залишки амінокислот, що входять до складу активних центрів, виконують певну функцію в утворенні структури активного центру ферменту і тому поділяються на 3 основні групи:

1. Каталітичні залишки амінокислот. Ці амінокислоти або їх групи атомів безпосередньо контактують із субстратом і беруть участь у його хімічних перетвореннях (розрив хімічного зв'язку, утворення нового хімічного зв'язку).

2. Контактні залишки амінокислот. Ці амінокислоти або їх групи атомів сприяють формуванню певної структури активного центру, що забезпечує його специфічну спорідненість до субстрату і формування ферментно-субстратного комплексу.

3. Допоміжні залишки амінокислот. Ці амінокислоти або їх групи атомів забезпечують стабільність третинної або четвертинної структури ферменту і тим самим — збереження біологічної (каталітичної) активності ферменту.

Функціональні групи таких амінокислот, як цистеїн, серин і гістидин, мають особливе значення для каталізу. HS-групи цистеїну необхідні для активності багатьох ферментів, що каталізують окисно-відновні реакції. Деякі галогенопохідні (азотисті іприти) блокують сульфгідрильні групи, інактивуючи фермент. Численні реакції сульфгідрильних груп із функціональними групами різноманітних речовин забезпечують їх контакт із багатьма субстратами в процесі утворення ферментсубстратних комплексів, отже, й участь у багатьох каталітичних реакціях. До активних центрів багатьох ферментів (фумаратгідратази, рибонуклеази, ацетилхолінестерази, трипсину) входить гістидин, який містить імідазольне кільце. Цей цикл може утворювати водневі зв'яз-

ки, комплекси з металами, а також ацетильні та фосфорні похідні з різноманітними речовинами. Після руйнування цього гетероциклу шляхом фотоокиснення ферменти (ацетилхолінестераза, хімотрипсин та ін.) втрачають свою активність.

До складу активного центру деяких ферментів входять метали. Метал може відігравати роль зв'язуючої ланки між апоферментом і коферментом, може зв'язуватися з субстратом, на який діє фермент, що сприяє утворенню ферментсубстратного комплексу, отже, впливає на швидкість ферментної реакції.

Окрім активного центру, який є в кожному ферменті, у молекулах багатьох ферментів існує алостеричний центр або центри (від грецьк. *allos* — інший, *stereos* — просторовий). Алостеричні центри — місце впливу на фермент різних регуляторних факторів. Вони являють собою ділянки (одну або кілька) молекули ферменту, з якими зв'язуються певні (зазвичай низькомолекулярні) речовини, молекули яких не подібні за структурою з субстратом цього ферменту. Ці речовини названі алостеричними ефекторами (модуляторами). До них належать гормони, медіатори нервової системи, продукти ферментативних реакцій (метаболіти) та інші речовини. Приєднання ефектора до алостеричного центру веде до зміни третинної або четвертинної структури молекули ферменту і відповідно — конфігурації активного центру, викликаючи зниження або підвищення активності ферменту. Ферменти, що мають алостеричні центри, дістали назву алостеричних. До них належать ферменти, що каталізують або початкові реакції, які розпочинають великі метаболічні процеси, або реакції «вузлові», розташовані на перетині кількох шляхів. Наприклад, до алостеричних ферментів належать гексокіназа, піруватдегідрогеназа, α -кетоглутаратдегідрогеназа та ін.

Підвищення концентрації молочної кислоти, яка є кінцевим продуктом гліколізу, пригнічує активність гексокінази, що каталізує реакцію «запалу» в ланцюгу ферментативних перетворень гліколізу і тим самим загальмовує всю анаеробну фазу. Регулювальний вплив кінцевого метаболіту здійснюється за принципом зворотного зв'язку. Глюкозо-6-фосфат підвищує активність ферменту глікоген-УДФ-глікозилтрансферази, що бере участь у біосинтезі глікогену. Нагромадження лимонної кислоти (першого продукту циклу трикарбонових кислот) активує ацетил-КоА-карбоксилазу, що каталізує перетворення ацетил-КоА на малоніл-КоА — початкову реакцію біосинтезу вищих жирних кислот.

Регуляція ферментативних процесів

Існує чотири основних механізми регуляції каталітичної активності ферментів:

1. Алостерична регуляція активності ферментів.

2. Регуляція активності (активування та інгібування) ферменту за допомогою особливих регуляторних білків.

3. Регуляція активності ферментів за допомогою ковалентної модифікації.

4. Активація ферменту за допомогою часткового протеолізу.

Алостерична регуляція активності ферментів

Алостерична регуляція характерна тільки для особливої групи ферментів із четвертинною структурою, що мають регуляторні (алостеричні) центри для зв'язування алостеричних ефекторів. Приєднання алостеричних ефекторів до алостеричного центру молекули ферменту викликає зміну його конформації, що приводить до зміни структури активного центру, а через це — до пригнічення або активації функцій ферменту. Активний і регуляторний (алостеричний) центри локалізуються на різних субодиницях ферменту — каталітичній та регуляторній відповідно. Існують два фізичних стани алостеричного ферменту, які розрізняються своєю конформацією й каталітичною активністю: каталітичний стан — R (від англ. *relax* — розслаблений) і інгібований стан — T (від англ. *tensed* — напружений). Оборотний перехід між R- і T-станами залежить від взаємодії ферменту з алостеричними ефекторами.

Якщо регуляція дії ферменту здійснюється ефектором (гетеротропні алостеричні інгібітори й активатори), що за хімічною природою відрізняється від субстрату, особливо кінцеві продукти багатоступінчатих процесів, то у цьому випадку продукт (або продукти) метаболічного шляху (звичайно анаболічного) за механізмом негативного зворотного зв'язку інгібує перший фермент послідовності реакцій — відбувається ретроінгібування. Цей тип інгібування є одним із провідних для регуляції активності ферментів і клітинного метаболізму в цілому. Якщо фермент побудований з ідентичних протомерів, то алостерична регуляція може здійснюватися самим субстратом, приєднання субстрату до одного протомера змінює конформацію всього білка-ферменту, активність інших протомерів може змінюватися (гомotropна алостерична регуляція), прикладом якої є фосфорилування глюкози гексокіназою. Перше хімічне перетворення глюкози в клітинах — фосфорилування в результаті взаємодії з АТФ. Реакцію каталізує фермент гексокіназа (у скелетних м'язах). Найважливішою властивістю гексокінази є її інгібування глюкозо-6-фосфатом, тобто останній служить одночасно продуктом реакції й алостеричним інгібітором. У печінці міститься фермент глюкокіназа, який також каталізує фосфорилування D-глюкози.



Гексокіназа має високу спорідненість до глюкози ($K_m < 0,1$ ммоль/л), отже, максимум швидкості реакції досягається при низькій концентрації глюкози.

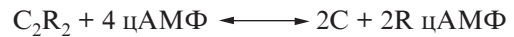
Глюкокіназа відрізняється від гексокінази високим значенням K_m для глюкози (близько 10 ммоль/л) і не інгібується глюкозо-6-фосфатом. Якщо врахувати, що глюкокіназа майже повністю зосереджена у печінці й не інгібується високими концентраціями глюкози й глюкозо-6-фосфатом і саме до печінки портальною веною транспортується кров від тонкої кишки, де всмоктується велика кількість глюкози, то можна дійти висновку, що біологічне значення глюкокінази полягає у затримці глюкози печінкою, а у загальному кровообігу вміст глюкози не підвищується.

Дія регуляторних білків

Кальмодулін після зв'язування чотирьох іонів Ca^{2+} стає здатним до активації великої кількості ферментів. Важливою біологічною системою контролю за ферментативними реакціями є циклічні нуклеотиди, які регулюють активність протеїназ.

Активація протеїназ за допомогою цАМФ

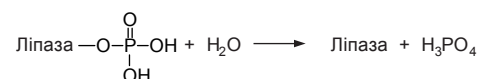
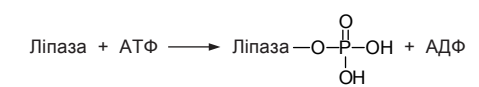
Протеїназа — тетрамер, що складається з двох каталітичних (С) і двох регуляторних (R) субодиниць. Взаємодія чотирьох молекул цАМФ із R-субодиницями (кожна має 2 центри зв'язування з цАМФ) приводить до дисоціації комплексу.



Активовані протеїнази можуть фосфорилувати білки-ферменти. Оскільки цей процес оборотний, то підвищення концентрації цАМФ у клітині веде до активації протеїназ, а зниження — до інгібування. Широко розповсюджені білкові інгібітори протеолітичних ферментів, функція яких — запобігання несвоєчасному руйнуванню білків у тканинах і рідинах. У плазмі крові білкові інгібітори протеїназ беруть участь у регуляції згортання крові й фібринолізу.

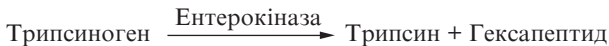
Ковалентна модифікація ферментів

Активність багатьох ферментів регулюється фосфорилуванням. Активність ферментів у результаті фосфорилування в одних випадках зменшується, в інших — збільшується. Наприклад, у клітинах жирової тканини міститься ліпаза, що існує у двох формах — фосфопротеїну й простого білка. Ці форми можуть взаємно перетворюватися:



Активация частковим протеолізом

Багато ферментів утворюються з неактивних білків (проферментів або зимогенів) у результаті відщеплення частини пептидного ланцюга:



Відбувається перебудова просторової структури й формується активний центр, тобто неактивний попередник перетворюється на фермент трипсин. Механізм активації шляхом часткового протеолізу найбільш характерний для протеолітичних ферментів (пептидогідролаз). У ході еволюції виробився механізм, який полягає в тому, що протеолітичні ферменти утворюються й зберігаються в неактивній формі проферментів і активуються в потрібний момент. Це пов'язано з тим, що білки, які є субстратами пептидогідролаз, являють собою основу структурно-функціонального апарату клітини, нерегульована дія пептидогідролаз могла б бути небезпечною для клітини.

У деяких випадках функціонують цілі каскади послідовних реакцій часткового протеолізу, коли активований попередній фермент у свою чергу активує наступний і т. ін. (наприклад, згортання крові відбувається в результаті каскаду реакцій активації серії ферментів, останній з яких перетворює розчинний білок плазми крові фібриноген на нерозчинний білок фібрин).

Ізоферменти

Є ферменти, молекули яких складаються з двох і більше субодиниць, що мають однакову (або різну) первинну, вторинну й третинну структуру. Окремі субодиниці іноді називають протомерами, а об'єднану молекулу — мультимером. У мультимері зв'язки між протомерами здебільшого не ковалентні, тому такі ферменти досить легко дисоціюють на протомери. Якщо генетично різні субодиниці можуть існувати більш ніж в одній формі, то, відповідно, й фермент, утворений із двох або кількох типів субодиниць, що сполучаються в різних кількісних пропорціях, може існувати у вигляді кількох форм. Ці різновиди ферменту дістали назву ізоферментів (ізозимів, ізоензимів). Так, якщо фермент лактатдегідрогеназа складається з чотирьох субодиниць двох різних типів, наприклад Н і М, активний фермент може являти собою одну з наступних комбінацій: Н₄, Н₃М, Н₂М₂, НМ₃, М₄, тобто має п'ять ізоферментів лактатдегідрогенази.

○ Н-субодиниця (heart — серце)

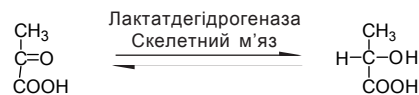
● М-субодиниця (muscle — м'яз)



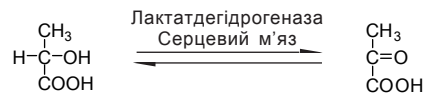
Оскільки Н-протомери мають більший негативний заряд при рН=7,0–7,9, ніж М-протомери, то LDH₁ мігруватиме при електрофорезі до позитивного електрода (анода) з більшою швидкістю, ніж LDH₅. Інші ізоферменти займатимуть проміжні позиції. За електрофореграмою ізоферментів LDH можна судити як про топографію патологічного процесу, так і про ступінь ураження органа або тканини. Існування ізоферментних форм ферменту в різних тканинах визначається:

1. Розбіжностями в особливостях метаболізму в різних органах (LDH: у серцевому м'язі — 35–38 АТФ; у скелетному м'язі — 2 АТФ). Ізоферменти значно розрізняються за V_{max} і K_m.

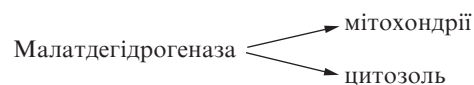
LDH₅ активується піруватом у скелетному м'язі



LDH₁ інгібується піруватом у серцевому м'язі



2. Розбіжностями у локалізації та метаболічній ролі даного ферменту в клітинах того самого типу.



3. Диференціація й розвиток тканин дорослого організму з ембріональних форм цих тканин.



4. Тонке регулювання швидкостей метаболічних реакцій за рахунок різної чутливості ізоферментів до алостеричних регуляторів.

Мультиферментні системи

Багато ферментних білків складаються з кількох субодиниць (протомерів), об'єднаних нековалентними зв'язками, — мультиферментні системи (комплекси).

Найпоширенішими є мультиферментні системи, що складаються з двох, чотирьох або шести протомерів. Існують ферменти, які складаються з різних за будовою й біохімічними функціями субодиниць (так, фермент аспартаткарбомойлтрансфераза складається з шести каталітичних і шести регуляторних субодиниць — C₆R₆).

Поліферментні (мультиферментні) системи становлять групу ферментів, до складу яких входять різні ферменти, що каталізують послідовні етапи перетворення будь-якого субстрату.

Існують розчинні поліферментні системи (ферментні ансамблі), де кожна реакція каталізується певними не асоційованими ферментами. Сполучною ланкою тут служать метаболіти (приклад такої організації — ферменти гліколізу).

Поліферментні системи — комплекси, в яких окремі ферменти з'єднані між собою нековалентними зв'язками й розташовані в певному порядку (типові приклади: піруватдегідрогеназний комплекс; α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекс; синтаза вищих жирних кислот).

Внутрішньоклітинна локалізація ферментів

За допомогою методу диференційного центрифугування виявлена внутрішньоклітинна локалізація ферментів.

У ядрі клітини зосереджені ферменти, що каталізують обмін нуклеїнових кислот (ДНК-полімераза, РНК-полімераза, хеліказа, праймаза, ДНК-лігаза).

У мітохондріях містяться ферменти ЦТК, катаболізму амінокислот, β -окиснення жирних кислот, окисного декарбокислювання пірувату, тканинного дихання.

У лізосомах локалізовані ферменти, що каталізують гідролітичне розщеплення різних органічних речовин: протеїнази (катепсини), естерази, нуклеази, кислі фосфатази, β -глюкуронідаза.

У гіалоплазмі (цитоплазмі) знаходяться ферменти пентозофосфатного шляху, анаеробного гліколізу, синтезу жирних кислот.

6.5. МЕДИЧНА ЕНЗИМОЛОГІЯ

Медична ензимологія розвивається за трьома головними напрямками: *ензимопатологія*; *ензимодіагностика*; *ензимотерапія*.

Мета *ензимопатології* — дослідження ферментативної активності в нормі й при патології. Багато спадкових вад обміну є результатом дефекту певного ферменту. Галактоземія — спадкове захворювання, що розвивається в результаті спадкового дефекту синтезу галактозо-1-фосфатуридилтрансферази — ферменту, що каталізує перетворення галактози на глюкозу, яка легко піддається перетворенням. При галактоземії в крові спостерігається висока концентрація галактози, що веде до катаракти й розумової відсталості у дітей.

Ензимодіагностика розвивається по шляху використання ферментів для відкриття й кількісного визначення нормальних або аномальних хімічних речовин у сироватці крові, сечі, шлунковому соку (наприклад, відкриття за допомогою ферментів у сечі глюкози, білка або інших речовин). Деякі ферменти з'являються в сироватці крові при розпаді клітин (некротичні ферменти). Вони використовуються для діагностики органічних і функціональних уражень органів і тканин. При діабеті, інфекційних, запальних захворюваннях і злоякісних пухлинах підшлункової

залози різко зростає рівень ліпази, α -амілази, трипсину, хімотрипсину. При інфаркті міокарда в сироватці крові підвищується рівень амінотрансфераз, креатинкінази й лактатдегідрогенази.

Третій напрямок медичної ензимології — *ензимотерапія*, тобто використання дії ферментів і модуляторів (активаторів та інгібіторів) як лікарських засобів. Важливе місце у фармакотерапії посідає лікування протеолітичними ферментами. Передумовою терапевтичного застосування протеаз є та обставина, що вони не ушкоджують живу тканину. Імовірно, що після відмирання клітин білки піддаються характерним структурним змінам, які роблять їх уразливими для протеолітичних ферментів. Отримано ряд препаратів протеолітичної дії (трипсин, хімотрипсин, хімопсин та ін.), спеціальні фібринолітичні препарати (фібринолізин, стрептокіназа); препарати, що деполімеризують рибонуклеїнову й дезоксирибонуклеїнову кислоти (рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза); препарати, що зменшують в'язкість гіалуринової кислоти (лідаза, ронідаза) і деякі інші ферментні препарати. Їх почали широко застосовувати при лікуванні захворювань, що супроводжуються гнійно-некротичними процесами, при тромбозах і тромбоемболіях, порушеннях процесів травлення.

Замісна ензимотерапія — це лікування ферментними препаратами у разі їхньої недостатності в організмі. Такі ферменти, як пепсин, трипсин, хімотрипсин, амілаза, ліпаза використовуються у вільному стані й у складі лікарських форм, які знайшли широке застосування при лікуванні шлунково-кишкових захворювань.

Пепсин — найстаріший ферментний препарат, використовується у комбінації з соляною кислотою при ахілії. Широке застосування знаходить трипсин — його використовують у медицині, на відміну від пепсину, не стільки з метою замісної терапії, скільки для розщеплення й швидкого видалення з організму патологічно змінених тканин і білків. При некрозах і нагноєннях різного походження трипсин розщеплює білки мертвої, тобто патологічно зміненої, тканини, сприяє швидкому очищенню ран. Лікування трипсином має значення також при емпіємах і гемотораксі. При емпіємах після промивання порожнини плеври вливають розчин трипсину в комбінації з антибіотиками. При гемотораксі вводять розчин трипсину, що лізує фібрин. Застосування препарату хімотрипсину в медичній практиці базується на специфічній особливості розщеплювати некротизовані тканини й фіброзні утворення, розріджувати в'язкі секрети. Препарат хімопсин — це суміш хімотрипсину й трипсину, він менш очищений, тому застосовується тільки для місцевого застосування (гнійні ранові поверхні) й для інгаляцій. У медичній практиці використовують препарати, які містять основні компоненти підшлункової залози й жовчі — наприклад, фестал (містить ліпазу, амілазу, протеази, компоненти жовчі), панзинорм (містить екстракт слизової оболонки шлунка, екстракт жовчі, панкреатин,

амінокислоти), панкреатин, дигестал, мезим-форте.

Ферментні препарати почали застосовувати при лікуванні онкологічних захворювань. Аспарагіназа має антилейкемічну активність, ефективна при лікуванні гострих і хронічних форм лейкозів і лімфогранулематозів. Аспарагіназа порушує метаболізм амінокислоти аспарагіну, необхідної лейкозним клітинам для їхнього розвитку, оскільки пухлинні клітини не здатні синтезувати аміди амінокислот. Дефіцит аспарагіну, у першу чергу, впливає на клітинні мембрани. Лікувальний ефект аспарагінази пояснюється необоротним розпадом аспарагіну.

Лікарські препарати з антиферментною активністю

Розширюється коло лікарських засобів, дія яких пов'язана з інактивацією ферментів — це інгібітори протеолітичних ферментів, широко застосовуваних при лікуванні гострих панкреатитів. Інгібітор трипсину дуже міцно зв'язується з активним центром трипсину, причина утворення такого комплексу в тому, що панкреатичний інгібітор — дуже ефективний аналог субстрату. Як антигеморагічний засіб застосовується амінокапронова кислота, що є інгібітором фібринолізину. До інгібіторів ферментів належить велика група антихолінергічних препаратів (прозерин, фізостигмін), інгібітори моноаміноксидази (ніаламід), використовуваних як психотропні засоби, інгібітори карбоангідази — як діуретичні засоби (діакарб). Ефективність алопуринолу при гіперурикемії пов'язана з інгібуванням ферменту ксантиноксидази. Застосування тетураму для лікування алкоголізму пов'язане з пригніченням ферменту ацетальдегідоксидази. Природні інгібітори протеїнази (α_1 -антитрипсин, α_1 -антихімотрипсин, α_2 -макроглобулін) використовують у терапії гострих панкреатитів, артритів, алергічних захворювань, при яких відзначається активація протеолізу й фібринолізу. α_1 -Антитрипсин (або α_1 -антипротеїназа) — білок плазми крові, що захищає тканини від розщеплення еластазою, яка секретується нейтрофілами. Антиеластаза — більш точна назва цього ферменту, тому що він блокує еластазу, зв'язуючись майже необоротно з її активним центром. Генетичні захворювання призводять до порушення структури цього ферменту (заміщення лізину на глутамат у 8-му положенні). Наслідком цього є надлишкове руйнування стінок альвеол легень (руйнування еластичних фібрил й інших білків сполучної тканини), а клінічним проявом — емфізема легень (або деструктивна хвороба легень). Сигаретний дим помітно збільшує ймовірність розвитку емфіземи, оскільки речовини сигаретного диму окиснюють метіонін — інгібітор еластази. Використання ферментів як лікарських засобів завжди здавалося привабливим. Однак їхні властивості: нестабільність, небажані антигенні властивості, пов'язані з білковою природою ферменту (небезпека розвитку алергічної реакції); труднощі до-

ставки до уражених органів і тканин — істотно обмежували можливість їхнього використання. Розробляються методи спрямованого транспорту ферментів, укладених у мікроконтейнери, до зовнішньої поверхні яких можуть бути прикріплені адресні білкові молекули (наприклад, імуноглобуліни — антитіла проти специфічних компонентів органа або тканини-мішені, пухлини).

Імобілізовані ферменти

Нові перспективи успішного застосування ферментних препаратів відкриває розробка нових лікарських форм — так званих іммобілізованих ферментів. Іммобілізовані, або нерозчинні, ферменти — це штучно отриманий комплекс ферментів із нерозчинним у воді носієм. Іммобілізація (від лат. *immobilis* — нерухливий) здійснюється шляхом фізичної адсорбції на нерозчинному матеріалі; включенням ферменту в комірки гелю; ковалентним зв'язуванням ферменту з нерозчинним матеріалом або молекул ферменту між собою з утворенням нерозчинних поліферментних комплексів. При одержанні іммобілізованих ферментів уживають усіх запобіжних заходів для збереження активності ферменту.

Іммобілізовані ферменти звичайно менш активні, ніж висхідні, оскільки зв'язування з носієм ослабляє їхній контакт із субстратом. Протеолітичні ферменти (трипсин, хімотрипсин), іммобілізовані на марлевих серветках, тампонах, застосовують у хірургічній практиці для очищення гнійних ран, змертвілих тканин, що ґрунтується на ферментативному гідролізі білків загиблих клітин у гнійних ранах. Іммобілізовані ферменти стають одними з найпоширеніших ліків біологічного походження. Так, стрептодеказа — це препарат стрептокінази, що належить до «іммобілізованих» ферментів, має пролонговану фібринолітичну дію.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Ферменти: визначення; властивості ферментів як біологічних каталізаторів.
2. Класифікація і номенклатура ферментів, характеристика окремих класів ферментів.
3. Будова та механізми дії ферментів. Активний та алостеричний (регуляторний) центри.
4. Кофактори і коферменти. Будова та властивості коферментів, вітаміни як попередники у біосинтезі коферментів.
5. Коферменти: типи реакцій, які каталізують окремі класи коферментів.
6. Ізоферменти, особливості будови та функціонування, значення в діагностиці захворювань.
7. Механізми дії та кінетика ферментативних реакцій: залежність швидкості реакції від концентрації субстрату, рН, температури.
8. Активатори й інгібітори ферментів: приклади і механізми дії.

9. Типи інгібування ферментів: зворотне (конкурентне, неконкурентне) та незворотне інгібування.

10. Регуляція ферментативних процесів. Шляхи і механізми регуляції: алостеричні ферменти; ковалентна модифікація ферментів.

11. Циклічні нуклеотиди (цАМФ, цГМФ) як регулятори ферментативних реакцій і біологічних функцій клітини.

12. Ензимопатії — уроджені (спадкові) вади метаболізму вуглеводів, амінокислот, порфіринів, пуринів.

13. Ензимодіагностика патологічних процесів і захворювань.

14. Ензимотерапія — застосування ферментів, їх активаторів та інгібіторів у медицині.

15. Принципи та методи виявлення ферментів у біооб'єктах. Одиниці виміру активності й кількості ферментів.

Глава 7. ОСНОВНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ОБМІНУ РЕЧОВИН. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

7.1. КАТАБОЛІЗМ, АНАБОЛІЗМ. СПІЛЬНІ ШЛЯХИ ПЕРЕТВОРЕНЬ БІЛКІВ, ВУГЛЕВОДІВ, ЛІПІДІВ

Енергія в клітинах вивільнюється в процесі катаболізму вуглеводів, жирів і білків. Розрізняють три стадії катаболічних перетворень цих сполук. *На першій стадії* катаболізму білки гідролізуються на амінокислоти, полісахариди гідролізуються переважно до глюкози, а також до інших гексоз і пентоз, жири розпадаються на гліцерол, жирні кислоти й інші компоненти. На цій стадії не відбувається вивільнення біологічно корисної енергії. Катаболізм білків, жирів і вуглеводів перебігає за участю специфічних для кожної групи ферментів, в основному, представників класу гідролаз (гідролаз складних ефірів, пептидних, глікозидних зв'язків), тобто відбуваються специфічні реакції катаболізму високомолекулярних сполук до відповідних мономерів.

Всі продукти, що утворилися на першій стадії катаболізму, *на другій стадії* перетворюються на ще простіші сполуки, кількість яких порівняно невелика. Гексози, пентози й гліцерол розщеплюються до пірвіноградної кислоти (пірватату), що піддається окисному декарбоксілюванню й перетворюється на ацетил-КоА. Аналогічним перетворенням піддаються амінокислоти. Жирні кислоти також розпадаються до ацетил-КоА.

У процесі катаболізму білків, жирів і вуглеводів відбувається відщеплення атомів Гідрогену, які через систему ферментів переносяться на кисень з утворенням води. Саме в ході цього переносу відбувається вивільнення енергії збуджених електронів. Отже, чим більше органічна речовина містить атомів Гідрогену, які можуть відщеплятися ферментативним шляхом і переноситися через систему каталізаторів на кисень, тим більша енергетична цінність цих речовин.

Відщеплення атомів Гідрогену від відповідних сполук починається на другій стадії в процесі катаболізму. Його каталізують ферменти гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа, лактатдегідрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, дегідроген-

нази вищих жирних кислот і амінокислот. На цій стадії, крім ацетил-КоА, утворюються відновлені коферменти НАД, ФАД, НАДФ, ФМН. Отже, і друга стадія катаболізму перебігає за участю ферментів, специфічних для вуглеводів, білків і жирів. Тому ця стадія катаболізму також називається *стадією специфічних реакцій*. До таких процесів належать гліколіз, окиснення жирних кислот, гліцеролу, дезамінування амінокислот. Продукти, утворені на цій стадії, втрачають свою специфічність (приналежність) до певного класу сполук (наприклад, пірватат може утворюватися з глюкози, аланіну, гліцеролу; ацетил-КоА — з пірватату і жирних кислот).

Третя стадія катаболізму охоплює цикл Кребса, тканинне дихання й окисне фосфорилювання — це універсальний шлях окиснення білків, жирів і вуглеводів. Незалежно від того, з яких речовин утворився ацетил-КоА, відновлені форми коферментів (НАДН, НАДФН, ФАДН₂, ФМНН₂), молекулярні механізми подальшого перетворення цих сполук до СО₂ і Н₂О з виділенням енергії вже однакові. Тому третя стадія катаболізму називається ще *загальним шляхом катаболізму* (стадією неспецифічних реакцій катаболізму).

Катаболізм білків, вуглеводів і ліпідів ілюструє рис. 7.1.

7.2. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

У результаті катаболізму вуглеводів, жирів і білків утворюється ацетил-КоА. Встановлено, що при катаболізмі цих сполук майже 100 % атомів Карбону жирних кислот, близько 60 % атомів Карбону вуглеводів і близько 50 % атомів Карбону амінокислот включається до ацетил-КоА. Утворений ацетил-КоА може окиснюватися в циклі лимонної кислоти. Цей цикл був відкритий англійським біохіміком Гансом Кребсом. За це відкриття він був нагороджений Нобелівською премією (1953), а цикл лимонної кислоти дістав

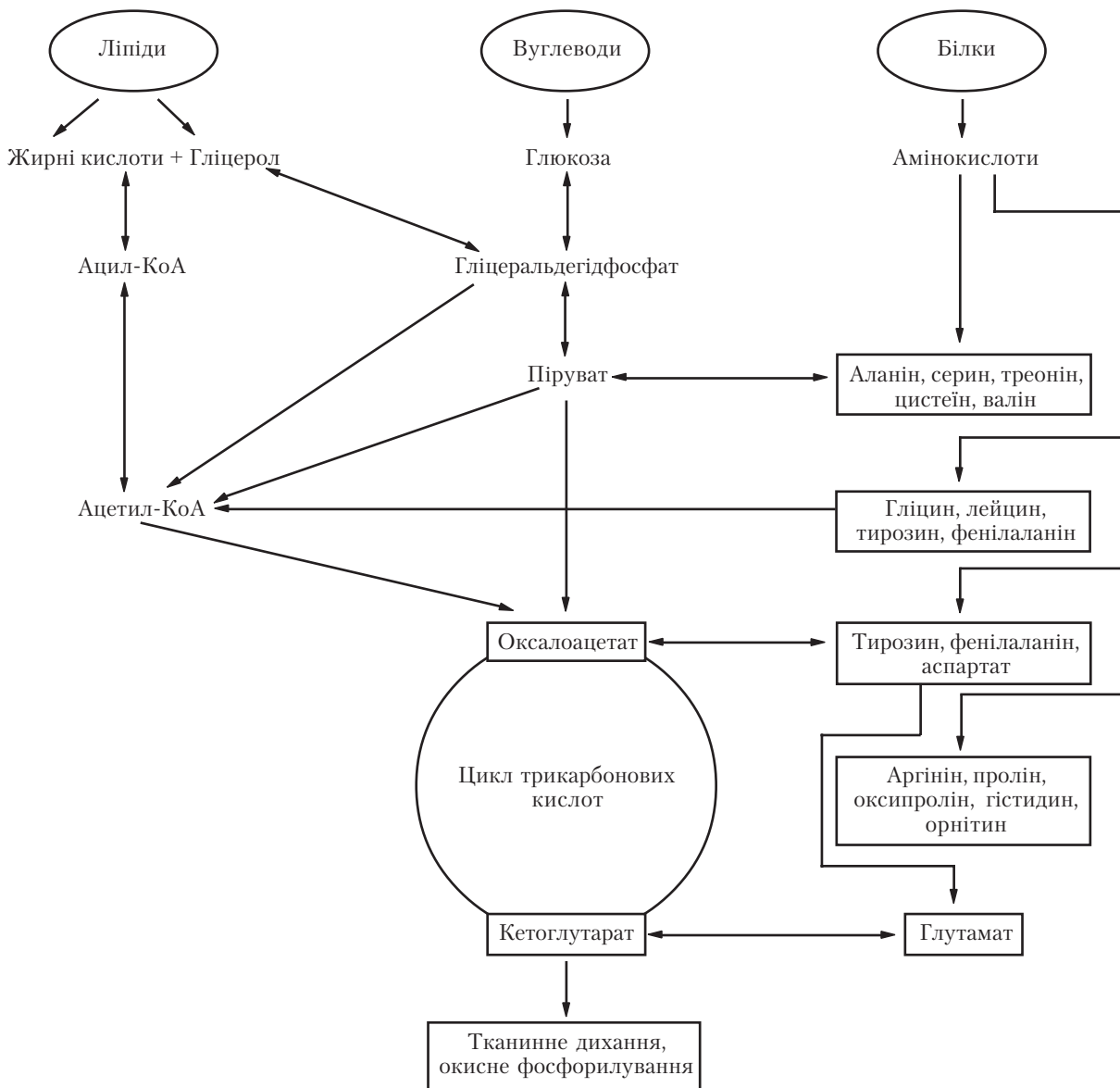


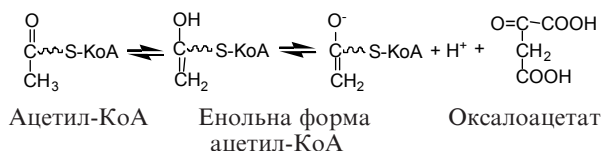
Рис. 7.1. Катаболізм білків, вуглеводів і ліпідів

назву циклу Кребса. Цикл лимонної кислоти називають також циклом трикарбонових кислот. Ця назва з'явилась у зв'язку з тим, що впродовж багатьох років після того, як Кребс постулював існування циклу, не було повної впевненості в тому, яка саме з трикарбонових кислот (лимонна або ізолімонна) є першим продуктом взаємодії ацетил-КоА з оксалоацетатом (щавлевооцтовою кислотою). Сьогодні точно відомо, що першою з трикарбонових кислот утворюється саме лимонна кислота (цитрат).

Цикл складається з 8 послідовних реакцій і перебігає в мітохондріях (рис. 7.2). Ацетил-КоА й оксалоацетат утворюються з пірувату в результаті його окисного декарбоксілювання під дією піруватдегідрогеназного комплексу і карбоксилювання під дією піруваткарбоксилази. Таким чином, з одного попередника — пірувату — утворюються два вихідних продукти циклу Кребса. Слід зазначити, що ацетил-КоА може утворюватися також у результаті окиснення ви-

щих жирних кислот, а оксалоацетат — внаслідок дезамінування аспартату (аспарагінової кислоти).

1-ша реакція — конденсація ацетил-КоА з оксалоацетатом з утворенням лимонної кислоти (цитрату) — цитратсинтазна реакція, яка відбувається в три стадії. На першій стадії ацетил-КоА перетворюється на енольну форму:



На другій стадії ацетил-КоА конденсується із оксалоацетату з утворенням активної форми лимонної кислоти — цитрил-КоА. Він утворюється в активному центрі ферменту цитратсинтази і швидко гідролізується на цитрат і HS-CoA (третьою стадією першої реакції).

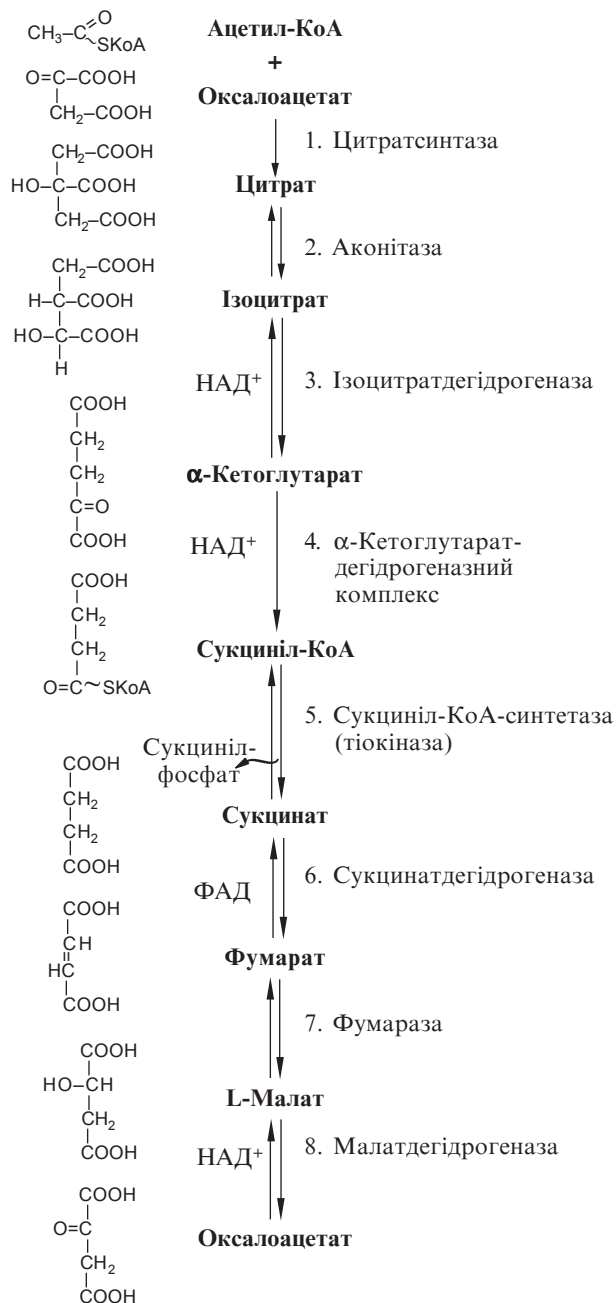
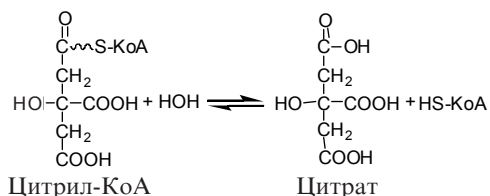
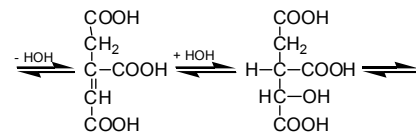


Рис. 7.2. Схема циклу трикарбонових кислот

Каталізує всі три стадії першої реакції (утворення енольної форми ацетил-КоА, конденсацію і гідроліз) фермент цитратсинтаза.



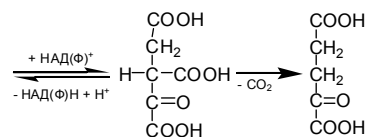
2-га реакція — перетворення цитрату на ізоцитрат через цис-аконітат (аконітатгідратазна реакція). У цій реакції цитрат піддається дегідратації й перетворюється на цис-аконітову кислоту. Ця сполука пов'язана з ферментом аконітазою і в нормі не відділяється від активного центру цього ферменту.



Цис-аконітова кислота Ізоцитрат

Далі цис-аконітат приєднує молекулу води й перетворюється на ізоцитрат. Суть реакції полягає в «рокіровці». Динамічна рівновага цієї реакції встановлюється при співвідношенні: цитрату 90 %, ізоцитрату — 8 % і цис-аконітату — 2 %. Біологічний сенс такого співвідношення метаболітів полягає в тому, що цитрат має здатність виходити з мітохондрій у цитоплазму, регулюючи у такий спосіб потік метаболітів по циклу Кребса.

3-тя реакція — перетворення ізоцитрату на α -кетоглутарат через оксалосукцинат (ізоцитратдегідрогеназна реакція). Протягом цієї реакції ізоцитрат окиснюється шляхом відщеплення двох атомів Гідрогену й перетворюється на оксалосукцинат. Остання декарбоксилюється до α -кетоглутарату.



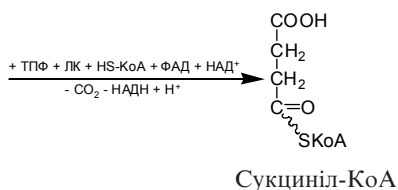
Оксалосукцинат α -Кетоглутарат

Цю реакцію, тобто перетворення ізоцитрату на оксалосукцинат і декарбоксилювання останнього до α -кетоглутарату, каталізує ізоцитратдегідрогеназа. Існує два типи ізоцитратдегідрогенази: один використовує як акцептор протонів і електронів НАД^+ , а другий — НАДФ^+ . У мітохондріях існують ізоцитратдегідрогенази обох типів: НАД^+ -залежна й НАДФ^+ -залежна; НАД^+ -залежна зустрічається тільки в мітохондріях, а НАДФ^+ -залежна — як у мітохондріях, так і в цитоплазмі. У циклі Кребса, можливо, беруть участь обидва мітохондріальних ферменти, але переважає НАД^+ -залежна ізоцитратдегідрогеназа. Регуляторна роль ізоцитратдегідрогеназної реакції полягає в тому, що вона забезпечує спрямованість метаболізму по катаболічному або анаболічному шляху залежно від форми коферментів, що утворюються. Участь НАДФ^+ -залежної ізоцитратдегідрогенази, імовірно, дозволяє циклу працювати «на холостому ходу», даючи можливість використовувати НАДФН для біосинтетичних процесів. Гальмування активності ізоцитратдегідрогенази спричинює нагромадження цитрату й вихід його з мітохондрій у цитоплазму, де він може перетворюватися на оксалоацетат і ацетил-КоА, що йде на біосинтетичні процеси, а також на утворення розчинного цитрату Ca^{2+} , необхідного для системи згортання крові й забезпечення функцій нервової тканини.

НАДФ^+ -залежна ізоцитратдегідрогеназа каталізує карбоксилювання α -кетоглутарату. Джерелом Карбону в цій реакції звичайно служить

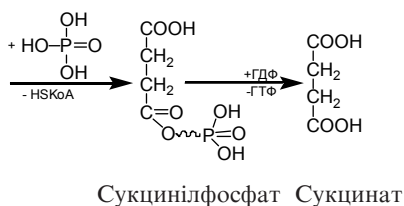
глутамат; трансамінування його приводить до утворення α -кетоглутарату. Атоми Гідрогену, зв'язані з НАД⁺ (НАДН+Н⁺), далі переносяться по ланцюгу дихальних ферментів на кисень з утворенням Н₂О, тобто процес іде по шляху катаболізму. Атоми Гідрогену, зв'язані з НАДФ⁺ (НАДФН+Н⁺), як правило, використовуються по шляху біосинтезу різних сполук (вищих жирних кислот, холестеролу, стероїдних гормонів тощо), тобто процес іде по шляху анаболізму.

4-та реакція — окисне декарбоксілювання α -кетоглутарату кислоти до сукциніл-КоА. У цій реакції α -кетоглутарат піддається такому ж складному окисному декарбоксілюванню, як і піруват, але утворюється не ацетил-КоА, а сукциніл-КоА. Сумарно дану реакцію можна записати так:



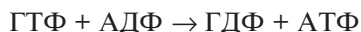
Сукциніл-КоА, що утворився, має макроергічний карбоксил-тіоловий (тіоефірний) зв'язок, у якому резервується енергія окисного декарбоксілювання. Каталізує цю реакцію α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекс. За структурою і функцією цей комплекс дуже нагадує піруватдегідрогеназний комплекс, він включає також зв'язані з ферментами такі коферменти, як НАД⁺, ФАД, ТПФ, НСКоА й ліпову кислоту.

5-та реакція — перетворення сукциніл-КоА на сукцинат через сукцинілфосфат (сукциніл-КоА-синтезна реакція). Протягом цієї реакції спочатку сукциніл-КоА реагує з неорганічним фосфатом і перетворюється на сукцинілфосфат.



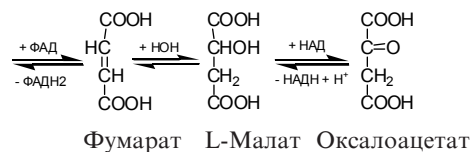
При цьому вивільняється НСКоА. Сукцинілфосфат також має макроергічний, але не карбоксилтіоловий, а карбоксилфосфатний зв'язок.

Далі сукцинілфосфат реагує із ГДФ і перетворюється на сукцинат, а ГДФ, приєднавши фосфат, перетворюється на ГТФ. Реакцію перетворення сукциніл-КоА на сукцинат каталізує фермент сукциніл-КоА-синтеза. Утворений у сукциніл-КоА-синтезній реакції ГТФ може потім передавати свою кінцеву фосфатну групу на АДФ з утворенням АТФ; ця оборотна реакція каталізується нуклеозиддифосфаткіназою:



Отже, енергія окисного декарбоксілювання α -кетоглутарату остаточно може резервуватися в АТФ (субстратне фосфорилювання).

6-та реакція — дегідрування сукцинату з утворенням fumarату.



Окиснення сукцинату каталізує сукцинатдегідрогеназа, у молекулі якої з білком ковалентно зв'язаний кофермент ФАД, що служить акцептором Гідрогену в даній реакції. Сукцинатдегідрогеназа — єдиний фермент циклу, зв'язаний із внутрішньою мембраною мітохондрій, решта реакцій відбуваються в матриксі.

7-ма реакція — гідратація fumarату з утворенням малату. Під час цієї оборотної реакції fumarова кислота приєднує молекулу води й перетворюється на малат. Каталізує реакцію fumarатгідратаза (fumarаза). Цей фермент має стереоспецифічну дію: він гідратує тільки трансформу подвійного зв'язку fumarової кислоти й не діє на цис-форму — малеїнову кислоту.



Малеїнова кислота Фумарова кислота

У зворотній реакції (L-малат → fumarат) fumarаза виявляє специфічність відносно оптичного ізомеру L-малату, тобто каталізує дегідратацію L-малату, але не діє на D-малат.

8-ма реакція — дегідрування малату з утворенням оксалоацетату — малатдегідрогеназна реакція. У ході цієї реакції L-малат втрачає два атоми Гідрогену (окиснюється) і перетворюється на оксалоацетат. Молекула оксалоацетату, що утворилася, може знову вступати в реакцію з іншою молекулою ацетил-КоА, і процес розпочинається спочатку. Каталізує реакцію малатдегідрогеназа, коферментом якої є НАД⁺. НАД⁺-залежна малатдегідрогеназа перебуває в матриксі мітохондрій.

Відщеплення Гідрогену відбувається в чотирьох реакціях циклу Кребса — ізоцитратдегідрогеназній, α -кетоглутаратдегідрогеназній, сукцинатдегідрогеназній і малатдегідрогеназній. Усього відщеплюються вісім атомів Гідрогену. За один оборот циклу відбуваються дві реакції приєднання води. Одна молекула води приєднується при гідролізі цитрил-КоА (у цитратсинтезній реакції), а друга — при перетворенні fumarату на малат. У цих двох реакціях беруть участь чотири атоми Гідрогену двох молекул води. Таким чином, за рахунок окиснення оцтової кислоти вивільняються чотири атоми Гідрогену, тобто всі атоми, які входять до складу її молекули. Отже, у результаті реакцій одного обороту циклу Кребса оцтова кислота окиснюється з виділенням чотирьох атомів Гідрогену й двох молекул СО₂.

Енергетичний баланс циклу трикарбонових кислот

Цикл Кребса забезпечує організм енергією. Від чотирьох проміжних продуктів циклу Кребса відділяються чотири пари атомів Гідрогену. Із них три пари атомів Гідрогену переносяться на НАД⁺, що є коферментом ізоцитратдегідрогенази, α-кетоглутаратдегідрогенази й малатдегідрогенази. Далі ці атоми Гідрогену від НАДН+Н⁺ передаються на ланцюг дихальних ферментів і в остаточному підсумку відновлюють дві молекули О₂ з утворенням трьох молекул Н₂О.

При окисненні однієї молекули НАДН+Н⁺ за участю дихальних ферментів утворюються три молекули АТФ, а всього — 9 молекул АТФ. Одна пара атомів Гідрогену потрапляє на дихальний ланцюг через ФАД (кофермент сукцинатдегідрогенази), у результаті утворюються 2 молекули АТФ. Одна молекула АТФ синтезується із ГТФ, що утворюється в сукциніл-КоА-синтезній реакції (субстратне фосфорилування).

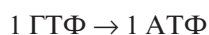
1. Ізоцитратдегідрогеназа



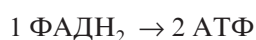
2. α-Кетоглутаратдегідрогеназа



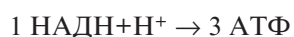
3. Сукцинілфосфат



4. Сукцинатдегідрогеназа



5. Малатдегідрогеназа



Отже, при окисненні однієї молекули ацетил-КоА в циклі Кребса утворюються 12 молекул АТФ.

Амфіболічні й анаплеротичні реакції

Проміжні продукти циклу Кребса можуть брати участь у реакціях біосинтезу багатьох органічних сполук.

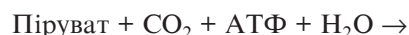
1. Біосинтез білка. Оскільки цикл може функціонувати як катаболічний шлях, а також і як джерело сполук для анаболічних шляхів, то його часто називають амфіболічним шляхом (від грецьк. *amphi* — обидва). α-Кетоглутарат і оксалоацетат можуть видалятися з циклу й використовуватися як попередники амінокислот глутамінової й аспарагінової, глутаміну й аспарагіну, решта — для біосинтезу білків, азотистих основ, нуклеотидів, нуклеїнових кислот й інших сполук.

2. Біосинтез глюкози. Оксалоацетат є вихідним продуктом глюконеогенезу. Оксалоацетат і α-кетоглутарат утворюються в результаті дезамінування аспарагінової й глутамінової кислот, а фумарова кислота — у циклі синтезу сечовини.

3. Біосинтез ВЖК, холестеролу. Цитрат може виходити з мітохондрій у цитозоль, де розщеплюється з утворенням оксалоацетату та цитозольного ацетил-КоА, який надходить у систему синтезу вищих жирних кислот, холестеролу.

4. Біосинтез гемму. Сукциніл-КоА може використовуватися для біосинтезу порфіринів, що входять до складу гемму гемоглобіну, й в інші сполуки. Відтік проміжних продуктів циклу Кребса поповнюється завдяки дії іншого набору ферментів.

Спеціальні реакції, що забезпечують поповнення пулу проміжних продуктів циклу Кребса, дістали назву *анаплеротичних (поповнюючих) реакцій*. Найважливіша реакція такого роду в тваринних тканинах — це карбоксилювання пірувату за рахунок СО₂ з утворенням оксалоацетату:



Каталізує цю реакцію фермент піруваткарбоксилаза. Ця реакція — головна анаплеротична реакція в печінці й нирках. У міокарді та м'язах анаплеротичною є фосфоенолпіруваткарбоксикіназна реакція:



У цій реакції відбувається розщеплення макроергічної сполуки фосфоенолпірувату, що утворився в процесі гліколізу. Енергія, що вивільняється, використовується для карбоксилювання з утворенням оксалоацетату, а її залишок запасається у формі ГТФ.

Атоми Гідрогену відновленої форми НАДФ (НАДФН+Н⁺), що утворюються в ізоцитратдегідрогеназній реакції, можуть використовуватися для біосинтезу вищих жирних кислот, стероїдних гормонів, холестеролу, нуклеотидів й інших речовин.

Регуляція циклу трикарбонових кислот

Активність ключових ферментів циклу Кребса й процесу в цілому контролюється енергетичним статусом клітини. Негативним модулятором виступає високий рівень АТФ, тоді цитрат не метаболізується в ЦТК, а виходить із мітохондрій у цитоплазму, де розпадається на оксалоацетат і ацетил-КоА, що бере участь у біосинтезі вищих жирних кислот і холестеролу. Ацетил-КоА, що не окиснюється в мітохондріях у результаті гальмування ЦТК, може переходити в цитоплазму за допомогою карнітинового човникового механізму й брати участь у біосинтетичних процесах. Однак гальмування реакцій ЦТК може відбуватися в результаті порушення функції окисно-відновних ферментів при різних патологічних процесах (наприклад цукровий діабет), тоді ацетил-КоА, незважаючи на дефіцит макроергів у клітині, синтезує холестерол, тому при цукровому діабеті прогресує атеросклероз.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Обмін речовин (метаболізм) — загальні закономірності перебігу катаболічних і анаболічних процесів.

2. Спільні стадії внутрішньоклітинного катаболізму біомолекул: білків, вуглеводів, ліпідів.

3. Цикл трикарбонових кислот. Локалізація, послідовність ферментативних реакцій, значення в обміні речовин.

4. Енергетичний баланс циклу трикарбонових кислот. Фізіологічне значення реакцій ЦТК.

Глава 8. МОЛЕКУЛЯРНІ ОСНОВИ БІОЕНЕРГЕТИКИ

8.1. БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ: БІОЛОГІЧНЕ ОКИСНЕННЯ, ОКИСНЕ ФОСФОРИЛУВАННЯ, СИНТЕЗ АТФ

Відомо, що процеси утворення клітин, скорочення м'язів, пересування, передачі нервового імпульсу, осмосу, всмоктування поживних речовин, синтез органічних сполук тощо потребують витрати енергії. Клітини отримують необхідну енергію в процесі окиснення органічних сполук. Ще в середині XVIII ст. Ломоносов і Лавуазьє висловлювали припущення, що між процесами горіння органічних сполук і процесами їхнього окиснення в організмі багато спільного. Надалі виявилось, що між горінням і окисненням органічних сполук в організмі існують істотні розбіжності:

1. Процеси горіння органічних сполук перебігають при температурі 100 °С і вище, а для окиснення їх у клітині оптимальна температура — 35–39 °С. Біологічне окиснення — це, по суті, горіння без вогню, або низькотемпературне горіння.

2. Процеси горіння перебігають у повітряному середовищі, у присутності достатньої кількості кисню, а окиснення — як правило, у водному середовищі. На відміну від горіння, біологічне окиснення може відбуватися не тільки в аеробних, але й в анаеробних умовах, тобто без участі кисню.

3. Горіння органічних сполук супроводжується виділенням великої кількості енергії у вигляді тепла і світла. При окисненні органічних сполук енергія перетворюється не тільки на тепло, але й на інші види біологічної енергії — м'язове скорочення, нервову провідність, акумулюється в АТФ і т. ін.

4. Біологічне окиснення органічних сполук може відбуватися кількома шляхами:

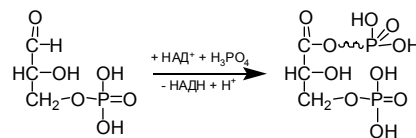
а) відщепленням від субстратів атомів Гідрогену, тобто шляхом дегідрування субстратів;

б) відщепленням від субстратів електронів;

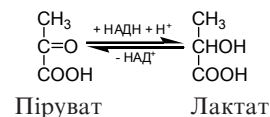
в) приєднанням до органічних сполук Оксигену, якщо при цьому відбувається перенос електронів із речовини, що окиснюється, на молекулу кисню (наприклад, мікосомальне окиснення).

Приєднання кисню до гемоглобіну не можна вважати окисненням, оскільки Ферум гемоглобіну не змінює при цьому валентності.

Більшість реакцій біологічного окиснення перебігає шляхом дегідрування, тобто відщеплення атомів Гідрогену. Якщо акцептором Гідрогену є кисень, то процес називається аеробним окисненням. Якщо ж акцептором Гідрогену є якась інша речовина, то процес окиснення називається анаеробним окисненням. Наприклад, при окисненні ацетил-КоА у ЦТК атоми Гідрогену відщеплюються від субстратів ЦТК і переносяться по ланцюгу дихальних ферментів на кисень з утворенням H_2O . Прикладом анаеробного окиснення може бути окиснення гліцеральдегід-3-фосфату в 1,3-бісфосфогліцерат. При цьому атоми Гідрогену від гліцеральдегід-3-фосфату приєднуються до НАД⁺ (кофермент гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа), перетворюючи його на НАДН+H⁺, потім 2H⁺ у анаеробних умовах переносяться на піруват, який перетворюється на лактат.



Гліцеральдегід-3-фосфат 1,3-Бісфосфогліцерат



Піруват Лактат

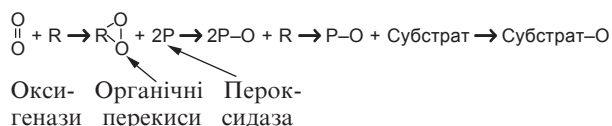
Окиснення гліцеральдегід-3-фосфату й відновлення НАД⁺ до НАДН+H⁺, окиснення НАДН+H⁺ і відновлення пірувату до лактату становлять гліколітичну оксидоредукцію.

Важливим етапом аеробного окиснення є тканинне дихання — багатоступінчастий ферментативний процес переносу протонів і електронів по ланцюгу дихальних ферментів до кисню.

Біохімічні механізми тканинного дихання

Як відомо, для аеробного окиснення необхідний кисень. Однак атмосферний молекулярний кисень при звичайних умовах має інертні властивості і є поганим окисником органічних сполук. Виникли труднощі в поясненні участі інерт-

ного кисню в біологічному окисненні. У 1897 р. О. М. Бах сформулював теорію, що пояснює механізм активації кисню (перекисна теорія О. М. Баха). Він вважав, що для активації кисню необхідно розірвати одну з валентностей у його молекулі. Це здійснюється ненасиченими, легко окиснюваними органічними сполуками, які він назвав оксигеназами. У результаті сполучення оксигеназ із киснем утворюються органічні перекиси, вони з'єднуються з ферментом пероксидазою, яка утворює комплекс з атомарним Оксигеном.

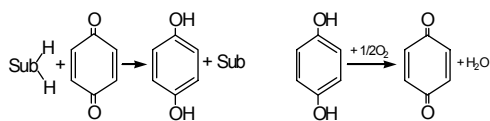


Недоліки теорії полягали в тому, що ці досліди проводилися на рослинах. Піддавалися окисненню феноли, яких багато в рослинах, але у тканинах тварин це не головний субстрат окиснення.

У 1907–1912 рр. була розроблена й експериментально підтверджена теорія В. І. Палладіна, що пояснювала механізм тканинного дихання. Ця теорія дістала назву теорія дегідрування субстратів. В. І. Палладін припустив, що окиснення субстратів здебільшого відбувається шляхом дегідрування, тобто відщепленням Гідрогену, а кисень є тільки акцептором Гідрогену.

У клітинах рослин В. І. Палладін виявив особливі пігменти хромогени, які можуть перебувати у двох формах: а) відновлена (наприклад гідрохінон) — безбарвна; б) окиснена (наприклад хінон) — кольорова.

Процес окиснення, за теорією Палладіна, розпочинається з дегідрування субстрату, який передає атоми Гідрогену на хромогени (наприклад на хінон), хінон відновлюється і перетворюється на інший хромоген — гідрохінон, а субстрат окиснюється.



Хінон Гідрохінон Гідрохінон Хінон

Гідрохінон — нестійка сполука, за участю оксидази його Гідроген з'єднується з киснем з утворенням H_2O . Гідрохінон при цьому перетворюється на хінон і т. ін. Палладін також довів, що процес окиснення шляхом відщеплення атомів Гідрогену може відбуватися і без кисню, тобто в анаеробних умовах, якщо є інший (не кисень) акцептор Гідрогену. Як акцептор Гідрогену вчений використовував метиленову синь.

Сучасна теорія механізму тканинного дихання

Сучасна теорія механізму тканинного дихання сформувалася на основі досліджень Баха, Палладіна, Віланда, Варбурга, Скулачова, Се-

веріна, Ленінджера та ін. Процес складається з кількох етапів.

I етап — дія нікотинамідних ферментів

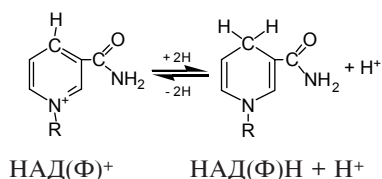
Перший етап тканинного дихання — дія нікотинамідних ферментів. Процес біологічного окиснення починається з дегідрування субстратів (наприклад, ізоцитрат, малат, β -гідроксіацил-КоА, глутамат та ін.).

Процес дегідрування каталізується ферментами дегідрогеназами. Якщо вони забирають атоми Гідрогену від субстратів і передають їх якомусь проміжному акцептору (наприклад, на ФФ — флавінові ферменти), тоді вони називаються анаеробними дегідрогеназами. Коферментом цих дегідрогеназ є НАД^+ або НАДФ^+ , що мають у своїй структурі амід нікотинової кислоти. Тому всі ферменти, які містять як кофермент НАД^+ або НАДФ^+ , називаються нікотинамідними ферментами (це понад 150 ферментів).

Отже, схематично перший етап тканинного дихання за участю дегідрогеназ можна представити так:



У результаті цієї реакції окиснюється субстрат і відновлюється НАД(Ф)^+ . Протони та електрони, що надходять від субстратів, приєднуються до аміду нікотинової кислоти НАД(Ф)^+ .



Було встановлено, що один протон і один електрон стають у пара-положення відносно Нітрогену піридинового кільця. Другий електрон нейтралізує протилежний за знаком заряд Нітрогену в нікотинамідному кільці, а один протон залишається в розчині. Вважають, що він підкислює середовище.

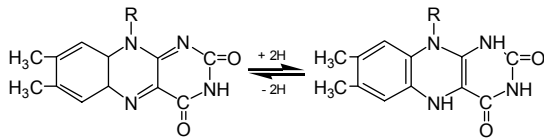
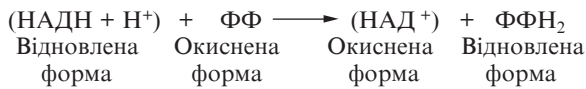
II етап — дія флавінових ферментів

Флавінові ферменти можуть приймати Гідроген від нікотинамідних ферментів, тобто від відновлених форм НАД^+ або безпосередньо від субстратів (наприклад, сукцинату, ацил-КоА, ксантину та ін.). Здебільшого флавінові ферменти одержують Гідроген від нікотинамідних ферментів, тобто відновлених НАД^+ . Сукцинатдегідрогеназа, ацил-КоА-дегідрогеназа, оксидаза L-амінокислот тощо приймають атоми Гідрогену безпосередньо від відповідних субстратів, тому належать до дегідрогеназ першого порядку.

Флавінові ферменти можуть передавати свої електрони на цитохроми (тоді вони називаються анаеробними дегідрогеназами) або, минаючи цитохроми, безпосередньо на кисень (аеробні дегідрогенази).

Флавінові ферменти належать до групи складних ферментів, коферментом у яких є ФАД або ФМН. До складу цих ферментів входить рибофлавін (В₂), через що вони дістали назву флавінових ферментів (флавопротеїнів), яких відомо близько 30.

Схематично другий етап тканинного дихання можна зобразити так:



Окиснена форма ФФ
(жовта)

Відновлена форма ФФ
(безбарвна)

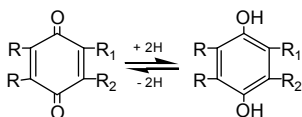
У результаті цієї реакції утворюється відновлена форма ФФ-ФФН₂. Безпосереднім акцептором Гідрогену від відновлених форм НАД у флавінових ферментів є метильований ізоалоксазин, тобто складова частина вітаміну В₂.

III етап — дія убіхінону (коензиму Q)

Схематично цей етап можна зобразити так:



У результаті взаємодії відновленої форми флавінових ферментів з окисненим убіхіноном (коензим Q → КоQ) утворюється відновлена форма убіхінону й окиснена форма флавінових ферментів. Атоми Гідрогену приєднуються до убіхінону по місцю розриву подвійних зв'язків до Оксигену:



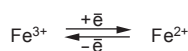
Окиснена форма
убіхінону

Відновлена форма
убіхінону

IV етап — дія системи цитохромів

Цитохроми також належать до групи складних ферментів, небілковою частиною яких є ферумпорфіринові комплекси.

Ферум в цитохромах має властивість змінювати ступінь окиснення, що пов'язано з приєднанням електронів до Феруму або віддачею їх:



Fe³⁺ містить окиснена форма цитохрому, а Fe²⁺ — відновлена.

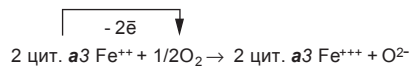
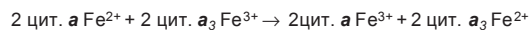
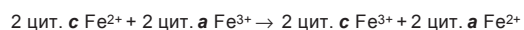
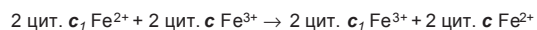
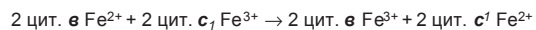
Усього відомо близько 20 цитохромів. Їх переважно позначають літерами латинського алфа-

віту **b, c₁, c, a, a₃**. Оскільки відбувається транспорт 2 атомів Гідрогену (два протони і два електрони), то у передачі 2 електронів беруть участь по 2 цитохроми.

Отже, убіхінон, окиснюючись, передає свої електрони на 2 цитохроми **b**, а протони тимчасово залишаються в розчині.

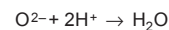


Залізо цитохрому **b**, приєднавши електрон, перетворюється з окисненої форми на відновлену. Цитохром **b** передає електрони послідовно на цитохроми **c₁, c, a і a₃**.



Цитохромоксидаза називається ще дихальним ферментом Варбурга (або цитохромом **a₃**). При блокуванні цього ферменту (наприклад, цианідами, що зв'язують Fe³⁺) електрони з цитохромів не будуть переноситися на кисень.

Утворення води відбувається в матриці мітохондрій з високоактивного кисню:



Всю систему тканинного дихання можна представити у вигляді загальної схеми ферментних комплексів:

I — НАДН-КоQH₂-редуктаза (інгібіторами є ротенон, барбітурати);

II — сукцинат-КоQH₂-редуктаза (інгібітором є карбоксин);

III — КоQH₂-цитохром c-редуктаза (інгібітором є антимицин А);

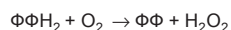
IV — цитохром a-цитохромоксидаза (інгібіторами є оксид карбону, цианіди).

Поряд із наведеним найбільш поширеним шляхом окиснення субстратів є також довші й коротші шляхи. Приклад довшого шляху — окиснення пірувату і α-кетоглутарату. При окисненню декарбоксилюванні цих кислот атоми Гідрогену передаються спочатку на ліпоєву кислоту, а потім — на нікотинамідні ферменти, надалі окиснення нікотинамідних ферментів здійснюється по основному шляху.

Коротшим шляхом окиснюється кислота, атоми Гідрогену якої передаються не на нікотинамідні ферменти, а відразу на флавінові, а потім на убіхінон і цитохроми. Цей шлях окиснення має важливе значення при адаптації організму до несприятливих умов, зокрема до холоду. При короткому шляху окиснення сукцинат окиснюється швидше, тому й швидше вивільняється енергія, необхідна організму. Крім цього, при такому

шляху окиснення не утворюється надлишок АТФ, який міг би гальмувати окиснення й ослабляти теплотворення в умовах холоду.

Приклад ще більш короткого шляху окиснення субстратів — окиснення ксантину, гіпоксантину, амінокислот за участю оксидази α -амінокислот й інших субстратів. Атоми Гідрогену від цих субстратів передаються на флавінові ферменти (ФФ), а з них — на молекулярний кисень, минаючи цитохроми:



Оскільки кисень у цьому випадку не активується електронами, то кінцевим продуктом окиснення буде не H_2O , а H_2O_2 .

Послідовність розташування й дії тих або інших ферментів у процесі тканинного дихання визначається:

- 1) швидкістю окиснення й відновлення окремих компонентів ланцюга дихальних ферментів;
- 2) величиною редокс-потенціалу кожного компонента ланцюга дихальних ферментів.

Перенос Гідрогену й електронів завжди йде від каталізатора з меншою величиною редокс-потенціалу до каталізатора з більшою величиною редокс-потенціалу, тобто від більш негативного до більш позитивного. Наприклад, редокс-потенціал багатьох субстратів становить $-0,6$ В; НАДН/НАД $^+$ — $-0,32$ В, ФФ — $0,06-0,1$ В; цитохрому a_3 — $+0,5$ В. Процеси тканинного дихання, як видно з наведених даних, перебігають східчасто (поступово), що має досить важливе біологічне значення. Атоми Гідрогену, що відщеплюються від субстратів, мають надлишкову енергію, яку можуть віддати. Цей процес може відбуватись одночасно, швидко — це спостерігається при горінні органічної сполуки. У результаті поступового окиснення органічних сполук, тобто поступового переносу протонів і електронів по ланцюгу дихальних ферментів, енергія виділяється і використовується поступово.

8.2. ХЕМІОСМОТИЧНА ТЕОРІЯ ОКИСНОГО ФОСФОРИЛУВАННЯ. ІНГІБІТОРИ І РОЗ'ЄДНУВАЧІ ОКИСНОГО ФОСФОРИЛУВАННЯ

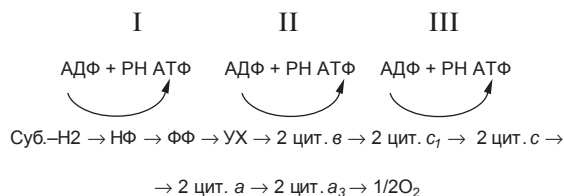
Процеси тканинного дихання й окисного фосфорилування перебігають у мітохондріях (в одній клітині печінки їх налічується більше 1000). Мітохондрія обмежена двома мембранами — зовнішньою й внутрішньою. Зовнішня мембрана гладка, складається приблизно на 50 % із білків і на 50 % — із ліпідів. Через неї проходять усі речовини, що мають молекулярну масу до 10 000 Да. Зовнішня мембрана виконує захисну функцію щодо внутрішньої.

Внутрішня мембрана мітохондрій складається приблизно на 75 % із білків і на 25 % — із ліпідів; 30–40 % усіх білків внутрішньої мембрани — це білки ферментів дихального ланцюга. Вона утворює численні випини (кристи). На по-

верхні крист, зверненій до матриксу, наявні утворення, названі елементарними тільцями (або грибоподібними виростами). У мембрані крист вмонтовані комплекси ферментів, що каталізують перенос протонів і електронів й окисне фосфорилування. Вона непроникна для великих молекул і всіх іонів, пропускає CO_2 і NH_3 . Внутрішній простір мітохондрій заповнений так званим матриксом — драглеподібною напіврідкою масою, що складається на 50 % із білка. У матриксі знаходяться ферменти циклу трикарбонових кислот (ЦТК) — крім сукцинатдегідрогенази (СДГ), окиснення ВЖК й ін.

Окисне фосфорилування

Окисне фосфорилування — це процес синтезу АТФ із АДФ і неорганічного фосфату при переміщенні протонів і електронів по ланцюгу дихальних ферментів до кисню. Відомо, що при окисненні 1 мол. НАДН+Н $^+$ у ланцюзі дихальних ферментів виділяється 220,1 кДж/моль енергії. Із цієї кількості частина енергії акумулюється в 3 мол. АТФ (це $3 \cdot 30,5=91,5$ кДж, тобто 41 %). На підставі експериментальних даних виділено 3 пункти в ланцюзі дихальних ферментів, де може синтезуватись АТФ при переміщенні протонів і електронів. Ці пункти називаються пунктами спряження окиснення й фосфорилування. Перша молекула АТФ синтезується при переносі електронів і протонів від відновлених нікотинамідних ферментів на флавінові ферменти.



Друга молекула АТФ синтезується при переносі електронів від відновленого цитохрому b на цитохром c_1 . Третя молекула АТФ синтезується при переносі електронів від відновленого цитохрому c на цитохромоксидазу. Оцінити кількісно ступінь спряження окиснення й фосфорилування можна за допомогою коефіцієнта Р:О, який показує, скільки молекул фосфорної кислоти використовується для синтезу АТФ на кожний зв'язаний з Гідрогеном атом Оксигену. Для більшості субстратів співвідношення Р:О=3, тобто на кожний атом іонізованого Оксигену витрачається 3 молекули фосфорної кислоти для синтезу 3 мол. АТФ; для сукцинату Р:О=2. Отже, сумарне рівняння для переносу електронів від НАДН+Н $^+$ до кисню й сполучене з ним окисне фосфорилування має вигляд: Р:О \approx 2,7.

Який же механізм окисного фосфорилування, тобто синтезу АТФ із АДФ і неорганічного фосфату за рахунок енергії електронів, що рухаються по ланцюгу дихальних ферментів? Існує кілька теорій, що пояснюють механізм окисного фосфорилування.

Хеміосмотична теорія П. Мітчела

Процеси дихання і фосфорилування перебігають у внутрішній мембрані мітохондрій. Спряженість дихання і окисного фосфорилування зумовлена системою трансмембранного переміщення електронів і протонів (іонів Гідрогену). Саме нерозривний взаємозв'язок переміщення електронів по ланцюгу дихальних ферментів і протонів через мембрану мітохондрій на кисень являє собою центральну ланку дихання і сполученого з ним фосфорилування. У цьому процесі провідну роль відіграє енергія збуджених електронів, завдяки якій відбувається переміщення (перекачування) іонів Гідрогену з матриксу на зовнішню поверхню внутрішньої мембрани мітохондрій.

Як показано на рис. 8.1, на внутрішній поверхні мембрани мітохондрій атоми Гідрогену відщеплюються від НАДН+Н⁺ і переносяться за допомогою ФМН і SH-груп на зовнішню поверхню мембрани мітохондрій, де відбувається поділ атома Гідрогену: протон виділяється в зовнішній розчин, а електрони за допомогою FeS-білка заліза переносяться на КоQ, тобто убіхінон, до внутрішньої поверхні мембрани. Каталізує цей процес фермент НАДН-дегідрогеназа, що містить як протетичну групу ФМН, а також має у своїй структурі SH-групу й FeS-білок.

При приєднанні електронів до КоQ він отримує негативний заряд і захоплює протон із матриксу мітохондрій, перетворюючись на відновлену форму КоQH₂. Остання дифундує крізь мембрану до зовнішньої поверхні, де розташований цитохром *b*; КоQH₂ окиснюється біля зовнішньої сторони мембрани, віддаючи електрони цитохрому *b*, а протони — на зовнішню поверхню внутрішньої мембрани мітохондрій.

Причому при переносі електронів від цитохрому *c*₁ на *c* з матриксу мітохондрій протони знову переміщуються на зовнішню поверхню мембрани мітохондрій за допомогою КоQ. Отже, при окисненні НАДН+Н⁺ пара електронів перетинає внутрішню мембрану мітохондрій тричі, щоразу

переносяться два іони Гідрогену з матриксу на зовнішню поверхню мембрани мітохондрій.

Переміщення електронів по ланцюгу дихальних ферментів і протонів із внутрішньої поверхні мембрани мітохондрій на зовнішню приводить до нагромадження протонів на зовнішній поверхні мембрани й зменшення їхньої концентрації у матриксі. Мітохондріальна мембрана непроникна для іонів Н⁺ і ОН⁻. Це обумовлює виникнення позитивного заряду на зовнішній поверхні мембрани й негативного — на її внутрішній поверхні. Так виникає електрохімічний потенціал, що складається з двох компонентів: різниці в концентрації іонів Гідрогену (тобто хімічного потенціалу) й різниці електричного заряду (тобто електричного потенціалу).

Енергія електрохімічного потенціалу і використовується для біосинтезу АТФ. При цьому протони проходять через протонний канал (*F_o* — фактор о) мембрани мітохондрій до білкового комплексу *F₁* (фактор 1), що приводить до зменшення величини електрохімічного потенціалу й трансформації його енергії для утворення АТФ із АДФ і Ф_H (Н₃Р₄).

F₁ — грибоподібний випин на кристах мітохондрій. Білковий комплекс *F_o* і *F₁* називається протонною системою АТФ-синтетази, або протонною АТФазою, або Н⁺АТФазою.

Н⁺АТФаза складається з двох головних компонентів: *F_o* і *F₁* (від англ. *factor*). *F₁* нагадує формою круглу дверну ручку, звернену у бік матриксу мітохондрій, або шапку гриба (тому ці утворення називають ще грибоподібними виростами). «Шапка» за допомогою ніжки прикріплюється до компонента *F_o*, що вбудований у внутрішню мембрану й пронизує її наскрізь (ця частина молекули АТФ-синтетази зв'язує олігоміцин — потужний інгібітор цього ферменту). *F_oF₁*-АТФаза в ізолюваному вигляді каталізує розщеплення АТФ на АДФ і Н₃Р₄. Однак у мітохондріях головна її біологічна функція полягає не в розщепленні, а в синтезі АТФ із АДФ і

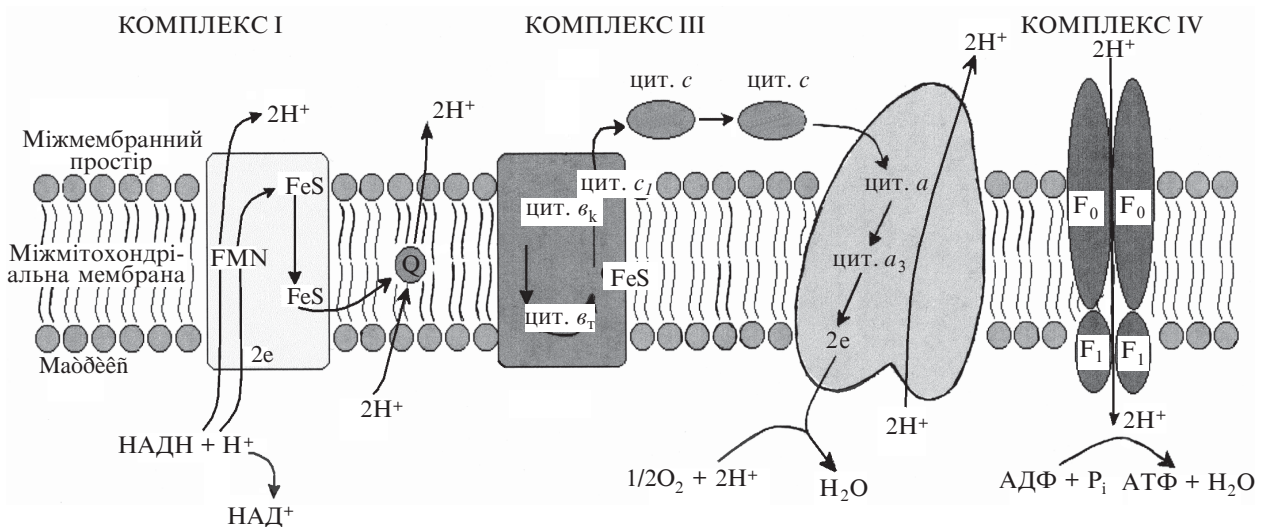
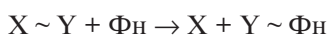
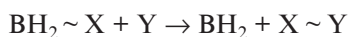
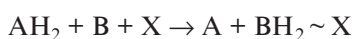


Рис. 8.1. Діаграма мітохондріального ланцюга дихання (перенос електронів і протонні насоси)

H_3PO_4 . При низькому електрохімічному потенціалі цей фермент розщеплює АТФ, енергія використовується для переносу H^+ на зовнішню поверхню внутрішньої мембрани мітохондрій. При високому електрохімічному потенціалі його енергія використовується цим ферментом для синтезу АТФ, тобто F_1 і F_0 виконують роль АТФ-синтети. Отже, тканинним диханням проведена осмотична робота — створення електрохімічного потенціалу, енергія якого виконує хімічну роботу — синтез АТФ, тому теорія дістала назву хеміосмотичної.

Хімічна теорія

Відповідно до цієї теорії спряженість окиснення і фосфорилювання забезпечується за рахунок проміжних сполук окиснення і фосфорилювання. Ці речовини позначаються X і B, хімічна природа їх неясна. Схематично цей процес можна зобразити так: відновлений переносник електронів і протонів AH_2 взаємодіє з наступним переносником електронів і протонів B за наявності проміжної сполуки X. У результаті цієї взаємодії відновлюється B до BH_2 і утворюється макроергічний зв'язок між BH_2 і X ($\text{BH}_2 \sim \text{X}$):



Далі продукт $\text{BH}_2 \sim \text{X}$ з'єднується з іншою проміжною сполукою Y, при цьому утворюється $\text{X} \sim \text{Y}$ — проміжна макроергічна сполука. На наступному етапі утворюється сполука $\text{Y} \sim \Phi_{\text{H}}$, а потім і АТФ.

Механохімічна (конформаційна) теорія Босра

Відповідно до цієї теорії взаємозв'язок окиснення й фосфорилювання здійснюється за рахунок конформаційних змін ферментів дихального ланцюга. Енергія окиснення спочатку витрачається на створення напруженої конформації ферменту (наприклад «скорочення» ферменту). Конформаційні зміни ферментів передаються молекулі F_0-F_1 -АТФазі, активують її. Релаксація активованої F_0-F_1 -АТФази — повернення до звичайної конформації вивільняє збережену в ній енергію, що використовується для синтезу АТФ і відділення синтезованого АТФ від молекули ферменту.

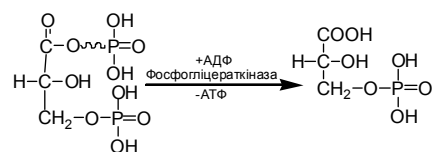
Після підрахунку енергії, отриманої після повного окиснення різних субстратів, виявилось, що в молекулах АТФ її акумульовано близько половини. Друга половина використовується на підтримку постійної температури організму. Крім окиснення, спряженого з фосфорилюванням, в організмі може відбуватися тканинне дихання і без фосфорилювання, тобто вільне, або нефосфорилювальне окиснення. При цьому H^+ поверта-

ються в матрикс через спеціальні пори, минаючи F_0-F_1 -АТФазу. Вільне окиснення необхідне для утворення тепла й підтримки температури на певному рівні, що має важливе значення при адаптації організму до низьких температур. Вільному окисненню сприяють, тобто роз'єднують дихання і фосфорилювання, тироксин, антипіретики (аспірин, фенацетин), антибіотики.

Крім синтезу АТФ і утворення тепла, енергія електрохімічного потенціалу використовується для транспорту іонів Ca^{2+} , фосфату й АДФ у матрикс мітохондрій, для транспорту АТФ із матриксу мітохондрій у цитозоль.

Поряд з окисним фосфорилюванням у клітинах перебігає другий тип фосфорилювання — *субстратне*. Воно також супроводжується синтезом макроергів, головним чином АТФ, але не в процесі тканинного дихання, а при перетворенні певних субстратів на продукти ферментативних реакцій, тобто утворюються сполуки, що мають макроергічний карбоксил-фосфатний зв'язок, який передається на АДФ з утворенням АТФ. Таким чином, АТФ утворюється за рахунок енергії субстрату, тому цей процес дістав назву субстратне фосфорилювання. Реакції субстратного фосфорилювання зосереджені переважно у гліколізі (цитозоль), і лише в циклі трикарбонових кислот серед реакцій, які безпосередньо пов'язані з тканинним диханням, існує одна реакція субстратного фосфорилювання, неначе «забута» в процесі еволюції:

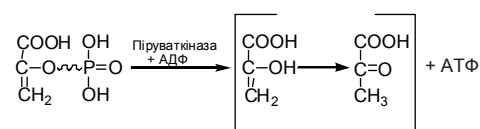
1. Окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до 3-фосфогліцеринової кислоти. При цьому утворюється 1,3-бісфосфогліцерат, що передає фосфат із макроергічним зв'язком на АДФ (гліколіз):



1,3-Бісфосфогліцерат

3-Фосфогліцерат

2. Перетворення фосфоенолпірувату (ФЕП) на піруват супроводжується синтезом АТФ (гліколіз):



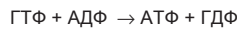
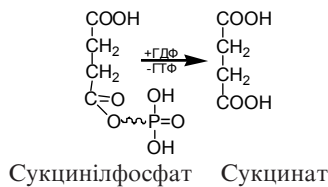
Фосфоенолпіруват

Піруват

Ці дві реакції являють собою гліколітичне субстратне фосфорилювання.

3. Субстратне фосфорилювання у ЦТК в сукциніл-КоА-синтетазній реакції.

При окисному декарбоксилюванні α -кетоглутарату він перетворюється на сукциніл-КоА, а потім — на сукцинілфосфат. Сукцинілфосфат є субстратом, що фосфорилює ГДФ до ГТФ (ГТФ є донором фосфату для утворення АТФ).



Однак основним процесом, що забезпечує синтез АТФ, є окисне фосфорилування. У деяких умовах (наприклад, при нестачі кисню й ослабленні тканинного дихання) посилюються процеси гліколізу, тоді роль субстратного фосфорилування, особливо гліколітичного, зростає. У чому полягає біологічне значення субстратного фосфорилування? Чому субстрати обов'язково віддають макроергічну фосфатну групу на нуклеотид? Більшість субстратів-макроергів існують менше секунди, фактично розпадаються в момент утворення. Нуклеотиди (АТФ та ін.) існують близько хвилини, тобто в сотні разів довше, і є більш стійкими акумуляторами енергії, ніж субстрати.

Макроергічні сполуки

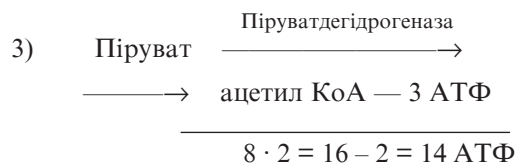
Головними макроергічними сполуками є 1,3-бісфосфогліцерат (-49,4 кДж/моль), фосфоенолпіруват (-61,9 кДж/моль), креатинфосфат (-43,1 кДж/моль), ацетил-КоА, АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ та інші, що мають у структурі макроергічні зв'язки, при гідролізі яких виділяється відповідна кількість вільної енергії. Головна біологічна роль серед усіх макроергів належить АТФ. Макроергічними зв'язками в АТФ є зв'язки між першим і другим, а також другим і третім залишками фосфорної кислоти. В організмі дорослої людини одночасно міститься близько 50 г АТФ; за добу близько 60 кг АТФ синтезується й така ж кількість піддається розпаду. Кожна молекула АТФ розщеплюється і знову регенерується 2,5 тис. разів на добу.

Синтез АТФ

Основна кількість АТФ утворюється в процесі окиснення глюкози. Так, при окисненні 1 моля глюкози до CO_2 і H_2O синтезується 38 молекул АТФ. Це відбувається на таких етапах її окиснення:

I. При окисненні 1 молекули глюкози до 2 молекул ацетил-КоА синтезується 14 молекул АТФ:

- 1) Гліцеральдегід-3-фосфат \longrightarrow 3-фосфогліцерат — 4 АТФ
- а) гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа (НАДН + H^+) — 3 АТФ
- б) 1,3-бісфосфогліцерат $\xrightarrow{\text{Фосфогліцераткіназа}}$ 3-фосфогліцерат — 1 АТФ
- 2) Фосфоенолпіруват $\xrightarrow{\text{Піруваткіназа}}$ піруват — 1 АТФ



Оскільки з однієї молекули глюкози утворюється 2 молекули фосфотріоз, то всього синтезується 16 молекул АТФ. Однак дві молекули АТФ витрачаються в процесі фосфорилування глюкози й фруктозо-6-фосфату (утворення глюкозо-6-фосфату й фруктозо-1,6-бісфосфату), тому приріст акумульованої енергії при окисненні глюкози до ацетил-КоА становить 14 молекул АТФ.

II. При окисненні однієї молекули ацетил-КоА в циклі трикарбонових кислот синтезуються 12 молекул АТФ:

1. Ізоцитрат $\xrightarrow{\text{Ізоцитратдегідрогеназа (НАДН + } \text{H}^+ \text{)}} \longrightarrow$ Оксалосукцинат — 3 АТФ
 2. α -Кетоглутарат $\xrightarrow{\text{Кетоглутаратдегідрогеназа (НАДН + } \text{H}^+ \text{)}} \longrightarrow$ сукцинат — 4 АТФ
 - а) α -Кетоглутарат \longrightarrow сукцинілфосфат — 3 АТФ
 - б) сукцинілфосфат \longrightarrow сукцинат — 1 АТФ
 3. Сукцинат $\xrightarrow{\text{Сукцинатдегідрогеназа (ФАДН}_2 \text{)}} \longrightarrow$ фумарат — 2 АТФ
 4. Малат $\xrightarrow{\text{Малатдегідрогеназа (НАДН + } \text{H}^+ \text{)}} \longrightarrow$ оксалоацетат — 3 АТФ
-
- 12 молекул АТФ**

З однієї молекули глюкози утворюється 2 молекули ацетил-КоА.

$12 \cdot 2 = 24$ молекули АТФ при окисненні 2 молекул ацетил-КоА в ЦТК. Разом $14 + 24 = 38$ молекул АТФ при повному окисненні 1 молекули глюкози до CO_2 і H_2O .

38 молекул АТФ утворюється, якщо цитозольний НАДН+ H^+ , отриманий у процесі гліколізу під дією гліцеральдегідфосфатдегідрогенази, переноситься в мітохондрії за допомогою малат-аспартатної човникової системи.

Значна кількість АТФ синтезується також при окисненні вищих жирних кислот. Це відбувається:

1) При кожному циклі β -окиснення вищої жирної кислоти, тобто при відщепленні від останньої молекули ацетил-КоА утворюється 1 моль ФАДН₂ (ацил-КоА-дегідрогеназа) і 1 моль НАДН+ H^+ (β -оксіяцил-КоА-дегідрогеназа). При окисненні ФАДН₂ у дихальному ланцюзі синтезуються 2 молекули АТФ, а при окисненні

НАДН+Н⁺ — 3 молекули АТФ, тобто в сумі утворяться 5 молекул АТФ на кожну відщеплену молекулу ацетил-КоА.

При повному окисненні жирної кислоти, що містить n атомів Карбону, відбувається (C_n/2 - 1) циклів β-окиснення (на один цикл менше, тому що при окисненні бутирил-КоА відразу утворюються 2 молекули ацетил-КоА).

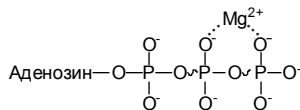
Таким чином, для стеаринової кислоти (C₁₈) буде 18/2 - 1=8 циклів окиснення, що веде до утворення 5 · 8=40 молекул АТФ. Із цієї кількості слід виключити одну молекулу АТФ, витрачену на активацію стеаринової кислоти, тобто утворення ациладенілату. Отже, усього при окисненні стеаринової кислоти до утворення 9 молекул ацетил-КоА синтезується 39 молекул АТФ.

2) При окисненні однієї молекули ацетил-КоА в ЦТК утворюється, як вже зазначалося раніше, 12 молекул АТФ. При окисненні 9 молекул ацетил-КоА утворюється 9 · 12=108 молекул АТФ.

Загалом при окисненні стеаринової кислоти до CO₂ і H₂O синтезується 39 + 108=147 молекул АТФ. Подібні розрахунки можна зробити й для інших жирних кислот.

Використання молекул АТФ

У більшій частині ферментативних реакцій, в яких АТФ відіграє роль донора фосфату, бере участь активна форма АТФ, тобто комплекс Mg²⁺+АТФ:



Використання енергії АТФ відбувається кількома шляхами:

1. Ортофосфатний шлях. У багатьох реакціях (наприклад, утворення глюкозо-6-фосфату, фруктозо-1,6-бісфосфату, гліцерол-3-фосфату, для роботи м'язів, транспорту іонів через мембрани проти градієнтів концентрації, здійснення функцій нервової системи й т. ін.) від АТФ відщеплюється тільки один залишок фосфату, тобто ортофосфат, із перетворенням АТФ на АДФ:



(при цьому виділяється 30,5 кДж/моль)

2. Пірофосфатний шлях. При цьому від АТФ відщеплюються два залишки фосфорної кислоти, тобто пірофосфат, із перетворенням АТФ на АМФ.



(виділяється 45,6 кДж/моль)

Це відбувається, наприклад, при активації амінокислот, жирних кислот, тобто при утворенні аміноациладенілатів, ациладенілатів. Пірофосфат під дією пірофосфатази гідролітичним шляхом розщеплюється на 2 ортофосфати:



(при цьому виділяється 19,3 кДж/моль)

Човникові механізми транспорту через мембрану мітохондрій

Основним механізмом тканинного дихання є транспорт ланцюжком ферментів, локалізованих у внутрішній мембрані мітохондрій, на її зовнішню поверхню протонів, у результаті чого зовні формується надлишок протонів, а з боку матриксу накопичуються електрони й, оскільки внутрішня мембрана непроникна для протонів, виникає електрохімічний потенціал, величина якого залежить від активності ферментів тканинного дихання. Надалі протони, проходячи по протонних каналах, забезпечують за участю протонної АТФази утворення АТФ із АДФ і неорганічного фосфату, тобто відбувається окисне фосфорилування. Слід згадати, що всього лише половина енергії, яка вивільняється внаслідок транспорту протонів, акумулюється в макроергічних зв'язках АТФ, а друга половина у вигляді вільного окиснення витрачається на підтримку температури тіла. Таким чином, основним об'єктом тканинного дихання є протони, а основні джерела їх у матриксі мітохондрій — це окиснення вищих жирних кислот і цикл трикарбонових кислот. Саме в цих окисних процесах утворюються відновлені коферменти НАД⁺ і ФАД, що постачають Гідроген для ферментів тканинного дихання.

Однак у клітині існують окисні процеси, які генерують відновлені коферменти, і перебігають вони не в мітохондріях, а в інших компартментах клітини, наприклад, у цитоплазмі. Типовим представником цитоплазматичного окиснення вуглеводів є гліколіз. Слід підкреслити, що його локалізація в цитоплазмі зумовлена тим, що філогенетично це найстаріший окисний процес, який виник у живих системах, коли на Землі була відсутня атмосфера кисню й, природно, у структурі клітин не було мітохондрій. Разом із тим, у цитоплазмі відсутні механізми, що залучають відновлені коферменти в наступний окисний процес. Водночас мембрана мітохондрій непроникна для відновлених еквівалентів, так само як і для абсолютної більшості метаболітів, що перебувають у цитоплазмі. Виникає проблема, пов'язана з тим, що нагромадження протонів у цитоплазмі, де відсутні механізми їхнього подальшого використання, приведе до закиснення й зниження рН середовища, що впливає на функцію численних ферментних систем (оскільки існує залежність активності ферментів від рН середовища). Отже, нагромадження протонів у цитоплазмі спричинює погіршення функції клітини, й тому їх потрібно видалити з цитоплазми, але самостійно протони не можуть проникнути через мембрану всередину мітохондрій, де вони необхідні для системи тканинного дихання. Отже, повинні існувати механізми транспорту протонів із цитоплазми до мітохондрій — такі човникові механізми існують.

Гліколіз — це каскад послідовних реакцій, спрямованих на анаеробне окиснення глюкози. Особливо важлива друга частина гліколізу, що починається з окиснення гліцеральдегід-3-фосфа-

ту. Гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа містить як кофермент окиснений НАД⁺. У ході реакції НАД⁺ відновлюється до НАДН+Н⁺. Для того, щоб молекула коферменту могла брати участь у наступних реакціях, необхідна реакція, у якій би брав участь відновлений НАД⁺. Така реакція в гліколізі існує — це лактатдегідрогеназна реакція. У ній піруват за допомогою лактатдегідрогенази й НАДН відновлюється в лактат. Відомо, що кофермент з'єднується з апоферментом тільки під час реакції, а потім цей комплекс дисоціює. Тому окиснена форма НАД⁺ з'єднується з білковою частиною гліцеральдегідфосфатдегідрогенази, бере участь в окисненні гліцеральдегід-3-фосфату, перетворюється на відновлену форму, від'єднується від апоферменту й переходить до апоферменту лактатдегідрогенази, бере участь у відновленні пірувату в лактат, при цьому окиснюється й знову переходить до складу гліцеральдегідфосфатдегідрогенази.

Таким чином, на заключному етапі гліколізу формується тандем, який складається з двох оксидоредуктаз, що використовують окиснену й відновлену форму одного коферменту. Даний процес дістав назву *гліколітичної оксидоредукції*, біологічний зміст якої полягає в підтримці етапу гліколізу, що починається з фосфотріоз. Слід підкреслити, що саме на цьому етапі вивільняється енергія вуглеводів, що, завдяки реакціям субстратного фосфорилування, резервується в макроергічних зв'язках АТФ (1,3-бісфосфогліцерина та фосфоенолпіровиноградна кислоти). Оскільки зазначені реакції перебігають в анаеробних умовах, то кінцевим продуктом є лактат, що, накопичуючись у цитоплазмі, змінює рН клітини. Висока спорідненість лактатдегідрогенази до відновленої форми коферменту зумовлена ізоферментним спектром ЛДГ, що в анаеробних умовах характеризується високим вмістом ізоферментів ЛДГ₅ і ЛДГ₄. Енергетичний ефект окиснення 1 молекули глюкози в анаеробних умовах до молочної кислоти досягає 2 молекул АТФ (4 молекули АТФ, отриманих у реакціях субстратного фосфорилування, і 2 молекули АТФ, витрачених у гексокіназній і фосфофруктокіназній реакціях).

Інша ситуація у разі аеробних умов. У присутності кисню спорідненість лактатдегідрогенази до відновленої форми коферменту зменшується, оскільки в клітинах збільшується вміст ізоферментів ЛДГ₁ і ЛДГ₂, які інгібуються низькими концентраціями пірувату, утворення лактату не відбувається і відновлений кофермент НАДН+Н⁺ у цій реакції не використовується. Але всі реакції гліколізу до етапу перетворення пірувату на лактат відбуваються і в аеробних умовах. У якій же реакції відбувається використання відновленого коферменту НАД⁺, утвореного в гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції? Виявляється, що в цитоплазмі клітин функціонує НАД⁺-залежна малатдегідрогеназа, що каталізує реакцію відновлення цитоплазматичного оксалоацетату в малат із використанням відновленого коферменту НАД⁺. Спорідненість апоферменту малатдегідрогенази до коферменту збільшується в при-

сутності кисню, що зумовлено її ізоферментним спектром. Таким чином, відновлений НАД⁺ із гліцеральдегідфосфатдегідрогеназою реакції не бере участі в утворенні лактату, а бере участь в утворенні малату в малатдегідрогеназній реакції. В аеробних умовах створюється тандем між гліцеральдегідфосфатдегідрогеназою і малатдегідрогеназою — забезпечується підтримка функціонування другого етапу гліколізу.

Характерною рисою малату є те, що він має здатність проникати з цитоплазми через мембрану мітохондрій у матрикс, де бере участь у циклі трикарбонних кислот. Але тут малат за участю мітохондріальної НАД⁺-залежної малатдегідрогенази окиснюється до оксалооцту з перетворенням окисненої форми НАД⁺ на відновлену. Таким чином, нуклеотидний пул цитоплазматичних і мітохондріальних нікотинамідних нуклеотидів не змінюється, а транспорт протонів здійснюється завдяки взаємоперетворенню оксалоацетату на малат і малату — на оксалоацетат, а також здатністю малату переходити з цитоплазми в мітохондрії.

Виникає питання: як з'являється оксалоацетат у цитоплазмі клітин? Адже він утворюється в мітохондріях або шляхом карбоксилювання пірувату, або шляхом окиснення малату в циклі трикарбонних кислот, водночас оксалоацетат не здатний виходити з мітохондрій у цитоплазму. Його поява в цитоплазмі клітин пояснюється тим, що аміак може проходити через мембрану мітохондрій у матрикс і тут бере участь у перших реакціях циклу синтезу сечовини або в реакціях трансамінування, зокрема, у перетворенні оксалоацетату на аспартат під дією мітохондріальної аспартатамінотрансферази з використанням глутамату.

Аспартат має здатність проникати через мембрану мітохондрій у цитоплазму, й тут під дією цитоплазматичної аспартатамінотрансферази, але вже у зворотному напрямку, аспартат трансамінується в оксалоацетат. Кетоглутарат, що утворюється в мітохондріях в аспартатамінотрансферазній реакції, або бере участь у циклі трикарбонних кислот, або виходить через мембрану мітохондрій у цитоплазму й бере участь у реакції, що каталізує цитоплазматична аспартатамінотрансфераза у напрямку аспартат — оксалоацетат. Формується так званий малатаспартатний човниковий механізм, спрямований на перенос протонів із цитоплазми в мітохондрії й залучення їх у систему тканинного дихання. Завдяки існуванню малатаспартатного човникового механізму в аеробних умовах різко змінюється біоенергетика окиснення глюкози. Відновлений НАДН із цитоплазми переміщується в мітохондрії й у системі тканинного дихання утворює 3 мол. АТФ. У зв'язку з тим, що лактат не утворюється, піруват проникає всередину мітохондрій, піддається окисному декарбоксилюванню за участю піруватдегідрогеназного комплексу з утворенням ще однієї молекули відновленого НАДН, що дає в системі тканинного дихання ще 3 мол. АТФ. Виникаючий при цьому ацетил-КоА піддається окисненню в циклі три-

карбонових кислот з утворенням 3 відновлених коферментів НАДН (ізоцитратдегідрогеназа, α -кетоглутаратдегідрогеназа й малатдегідрогеназа), які дають по 3 АТФ кожний, 1 відновленого коферменту ФАДН₂, що дає 2 АТФ, і 1 реакції субстратного фосфорилювання (сукцинілфосфат), що дає утворення 1 ГТФ. Таким чином, окиснення глюкози в аеробних умовах до вуглекислого газу й води із залученням малатаспартатного човникового механізму дає такий енергетичний ефект:

Гліцераальдегідфосфатдегідрогеназа — 1 НАДН + Н⁺ — 3 АТФ

1,3-Бісфосфогліцерина кислота — 1 АТФ

Фосфоенолпіровиноградна кислота — 1 АТФ

Піруватдегідрогеназа — 1 НАДН + Н⁺ — 3 АТФ

Окиснення ацетил-КоА в ЦТК — 12 АТФ.

Загалом 20 АТФ.

З огляду на те, що розрахунок вівся на фосфотріозу, то на 2 тріози це становитиме 40 АТФ. Однак 2 АТФ були витрачені в гексокіназній і фосфофруктокіназній реакціях, отже, енергетичний ефект дорівнює 38 АТФ.

Функціонування малатаспартатного і гліцерофосфатного човникових механізмів у клітині ілюструє рис. 8.2.

У клітинах деяких органів (скелетні м'язи, мозок) активно функціонує інший човниковий механізм — гліцерофосфатний. Суть його полягає в тому, що фруктозо-1,6-бісфосфат в альдолазній реакції розривається на 2 фосфотріози — гліцераальдегідфосфат і діоксіацетонфосфат, які є ізоме-

рами й взаємно перетворюються. У цитоплазмі клітин діоксіацетонфосфат редукується під дією цитоплазматичної гліцерол-3-фосфатдегідрогенази до гліцерол-3-фосфату за участю відновленого НАДН, що утворюється в гліцераальдегідфосфатдегідрогеназній реакції. Гліцерол-3-фосфат належить до тих нечисленних метаболітів, які можуть проникати через мембрану всередину мітохондрій. У мітохондріях гліцерол-3-фосфат під дією мітохондріальної гліцерол-3-фосфатдегідрогенази, що як кофермент використовує ФАД, окиснюється до діоксіацетонфосфату, що виходить із мітохондрій у цитоплазму й, використовуючи відновлений НАДН, знову відновлюється до гліцерол-3-фосфату. Таким шляхом переносяться відновлені еквіваленти, що утворюються в гліколізі, а також гліцерол-3-фосфат, що утворюється при окисненні гліцеролу. Слід підкреслити, що функціонування гліцерофосфатного човникового механізму менш ефективно порівняно з малатаспартатним, оскільки цитоплазматична малатдегідрогеназа споживає відновлений кофермент НАДН і мітохондріальна малатдегідрогеназа віддає відновлений НАДН для тканинного дихання. Гліцеролфосфатдегідрогеназа в цитоплазмі використовує відновлений НАДН, а мітохондріальна гліцеролфосфатдегідрогеназа утворює відновлений кофермент ФАД, що у системі тканинного дихання дає не 3, а всього лише 2 АТФ. Тому глюкоза, що окиснюється до вуглекислого газу й води за участю гліцерофосфатного човникового механізму, дає утворення не 38, а 36 АТФ.

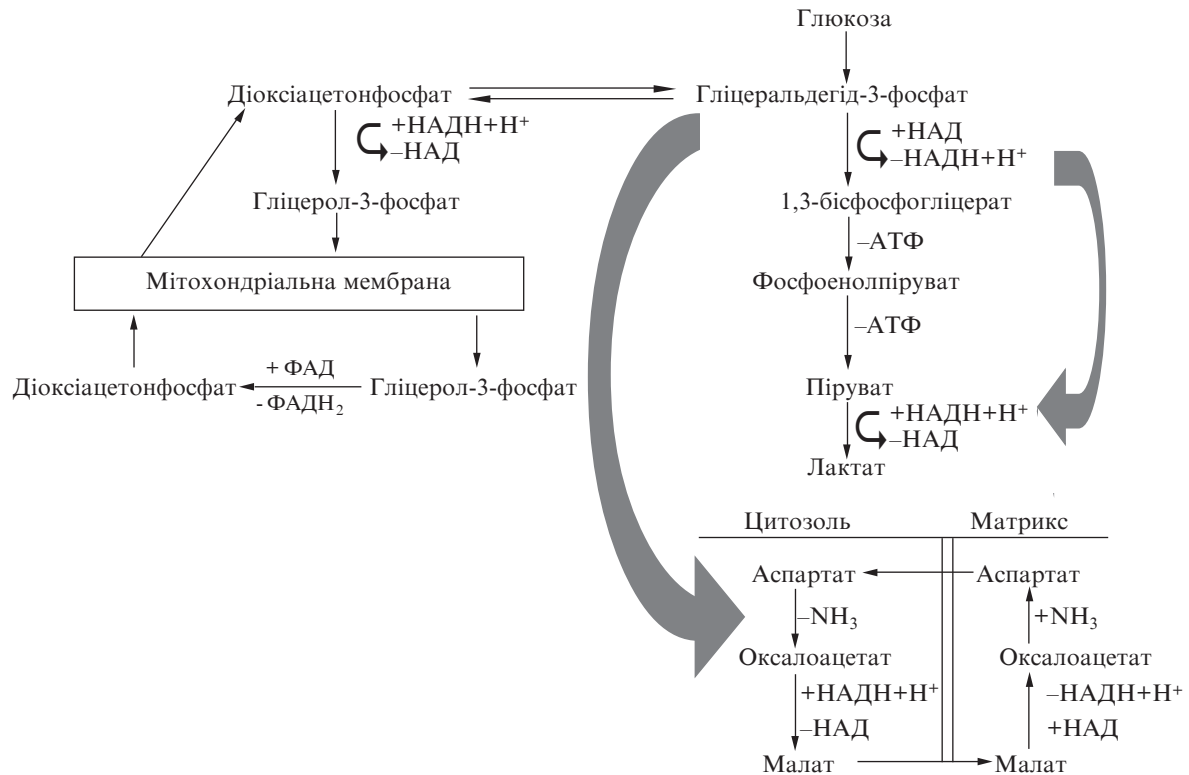
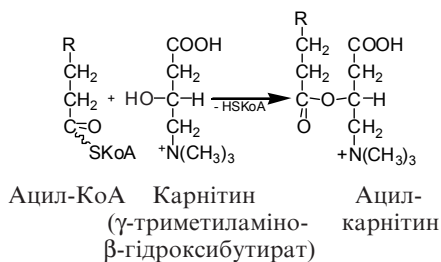


Рис. 8.2. Схема функціонування малатаспартатного і гліцерофосфатного човникових механізмів у клітині

У біоенергетиці існує ще одна проблема — це транспорт молекул АТФ із мітохондрій, де вони утворюються, у цитоплазму, де вони активно використовуються (у біосинтетичних процесах, на перших етапах залучення глюкози, жирних кислот і амінокислот у метаболізм, для виконання біологічних функцій — наприклад, м'язового скорочення й ін.). Оскільки внутрішня мембрана мітохондрій непроникна для аденілових нуклеотидів і фосфатів, то у внутрішній мембрані вбудована аденіннуклеотидтранслоказа, що одночасно переносить із цитоплазми в мітохондрії молекули АДФ в обмін на еквімолекулярні кількості АТФ із мітохондрій у цитоплазму. Цей процес відбувається завдяки конформаційним змінам білка-ферменту, причому зазначений фермент високоспецифічний і, переносячи аденозиндифосфат і аденозинтрифосфат, він не транспортує гуанозиндифосфат і гуанозинтрифосфат. Крім того, у внутрішній мембрані функціонує фосфаттранслоказа, що переносить із цитоплазми іон H_2PO_4^- і протон, які необхідні для синтезу АТФ із АДФ і неорганічного фосфату в матриці за участю протонної АТФази.

Транспорт жирних кислот із цитоплазми клітини в мітохондрії

Оскільки ацил-КоА утворюється на зовнішній поверхні мітохондрій, а окиснення жирних кислот відбувається в мітохондріях, ацил за допомогою переносника карнітину (карнітиновий човник) переноситься із цитоплазми клітини в мітохондрії. Наявність переносника пов'язана з тим, що ані сам ацил (має кислі властивості, погано розчинний), ані ацил-КоА (великий розмір молекули) не можуть пройти через внутрішню мембрану мітохондрій.



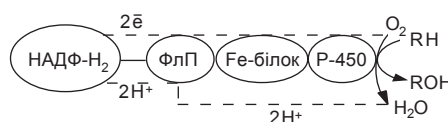
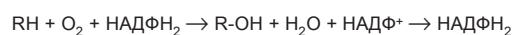
Спочатку ацил-КоА взаємодіє з карнітином. При цьому утворюється ацил-карнітин і вивільняється HSKoa . Каталізує утворення ацил-карнітину, тобто перенос ацилу від ацил-КоА на карнітин, цитоплазматична карнітин-ацилтрансфераза, локалізована на зовнішній поверхні внутрішньої мембрани мітохондрій (карнітин-ацилтрансфераза I).

Ацил-карнітин, що утворився, має менш кислі властивості й краще розчинний, ніж ацил-КоА, проходить через внутрішню мембрану мітохондрій у матрикс, де під впливом мітохондріальної карнітин-ацилтрансферази за участю HSKoa відбувається перенос ацилу від ацил-карнітину на мітохондріальний HSKoa . Мітохондріальна карнітин-ацилтрансфераза перебуває на внутрішній поверхні внутрішньої мембрани міто-

хондрій. При цьому утворюється мітохондріальний ацил-КоА. Після цього карнітин повертається в цитоплазму клітини, а ацил-КоА піддається окисненню в мітохондріях.

8.3. МІКРОСОМАЛЬНЕ ОКИСНЕННЯ

Більше 90 % кисню, що надходить у клітину, відновлюється цитохромоксидазою мітохондрій з наступним утворенням води. Однак у цитоплазмі клітин деяких тканин, особливо в печінці, перебігають окисно-відновні реакції, в яких атоми Оксигену включаються в молекулу субстрату з утворенням гідроксильної або карбоксильної групи. Каталізують ці реакції ферменти оксигенази, серед яких розрізняють *діоксигенази*, що включають два атоми Оксигену в молекулу органічного субстрату, й *монооксигенази*, що каталізують реакції, в яких у молекулу органічного субстрату включається тільки один з атомів Оксигену, а другий його атом відновлюється до води. Для функціонування монооксигеназ необхідно два субстрати, які відновлюють два атоми Оксигену, при цьому головний субстрат приєднує до себе один атом Оксигену, утворюючи гідроксисполуку, а другий субстрат (косубстрат) постачає два атоми Гідрогену для відновлення другого атома Оксигену до води. Оскільки в реакціях, що каталізують монооксигенази, відбувається утворення гідроксисполук, то сам процес називається гідроксилуванням, а ферменти *гідроксилазами*. Разом із тим, ендоплазматичний ретикулум клітин, у якому відбувається гідроксилування, при розділі субклітинних структур виділяється у вигляді мікросом, тому процес дістав ще назву мікросомального окиснення.



Найпоширенішими є складні монооксигеназні реакції, в яких бере участь цитохром P-450 (назва пов'язана з максимумом поглинання світла при довжині хвилі 450 нм). Він здатний взаємодіяти з киснем і каталізує реакції гідроксилування, в яких органічний субстрат R-H гідроксильюється до R-OH за рахунок одного з атомів Оксигену, а другий атом Оксигену відновлюється до H_2O в результаті приєднання відновних еквівалентів від $\text{НАДФН} + \text{H}^+$. Цей процес складається з кількох етапів, які можна представити у такий спосіб: нікотинамідні ферменти дегідратують субстрат і при цьому відновлюються. Потім вони передають атоми Гідрогену на флавопротеїн, після якого два протони переміщуються в середовище, а електрони через етап негемового феруму (Fe-білок) передаються на цитохром

P-450, що переносить їх на молекулу кисню. У результаті один атом Оксигену з'єднується з двома протонами, утворюючи воду, а другий атом Оксигену окиснює субстрат, утворюючи гідроксисполуку.

Гідроксилази мають потребу в присутності відновлювального агента. Найчастіше це аскорбінова кислота, що служить для підтримки металовмісного каталізатора у відновленій формі. Гідроксилази беруть участь у процесі утворення гормонів кори надниркових залоз, адреналіну й норадреналіну, серотоніну, кальцитріолів, перетворенні проколагену на колаген (перехід проліну і лізину в оксипролін і оксилізін), 7- α -гідроксихолестеролу, жовчних кислот, у гідроксильованні лікарських речовин (наприклад, антибіотиків, анальгетиків, нестероїдних протизапальних препаратів) та інших чужорідних для організму речовин, особливо якщо вони порівняно погано розчинні у воді. У результаті гідроксильовання розчинність таких чужорідних речовин у воді підвищується, що сприяє їхній детоксикації та виведенню з організму. Звідси стає зрозумілим застосування багатьох лікарських речовин разом з аскорбіновою кислотою, а також використання її при різних захворюваннях і для дезінтоксикації.

Існують певні риси схожості й розбіжностей між мікросомальним і мітохондріальним окисненням. Спільним є те, що відбувається дегідрування субстрату й перенос протонів і електронів по системі переносників, серед яких знаходяться нікотинамідні, флавінові ферменти, негемовий ферум й цитохроми. Одним із кінцевих продуктів є вода. Однак, якщо в мітохондріальному окисненні нікотинамідні коферменти представлені НАД⁺, то у мікросомальному окисненні — НАДФ⁺, цитохроми b, c, a, що функціонують у мітохондріальному окисненні, замінені на цитохром P-450 у мікросомальному. Нарешті, якщо основна біологічна суть мітохондріального окиснення — вивільнення енергії субстратів і акумуляція її в макроергах, то мікросомального — утворення біологічно активних сполук і знешкодження токсичних речовин.

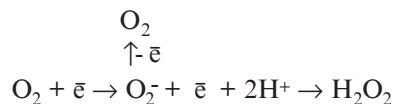
8.4. УТВОРЕННЯ ВІЛЬНИХ РАДИКАЛІВ, ПЕРЕКИСНИХ СПОЛУК. АНТИОКСИДАНТИ

У процесі обміну речовин у клітині перебігає велика кількість окисно-відновних реакцій, при яких можуть утворюватися вільні радикали, що через свої фізико-хімічні властивості становлять серйозну небезпеку для життєдіяльності клітини. У ланцюзі тканинного дихання на рівні убіхінону, коли відбувається поділ потоку протонів і електронів, частина електронів «втрачається», молекула кисню одержує не чотири електрони на зовнішню орбіту, а тільки один. Вільний радикал — це молекула або її частина, що має неспарений електрон на молекулярній або зовнішній атомній орбіті. Наявність такого електрона на-

діляє систему двома характерними властивостями: по-перше, дуже високою реакційною здатністю в хімічних перетвореннях і, у зв'язку з цим, можливістю ушкодження біологічно важливих молекул; по-друге, особливими магнітними властивостями, що робить можливою його реєстрацію за допомогою магнітно-вимірювальних приладів.

Обидва типи окисних процесів перебігають у клітині в нормальних фізіологічних умовах, що приводить до постійного утворення вільних радикалів. Ось чому для всіх гетеротрофних організмів кисень є, з одного боку, життєво необхідним елементом, без якого неможливі окисні реакції (тобто неможливе розщеплення речовин із виділенням великої кількості енергії). Але, з іншого боку, сполука здатна окиснювати речовини з утворенням токсичних для організму вільних радикалів із відповідними наслідками. Таким чином, токсична дія кисню на все живе визначається ступенем його участі у вільнорадикальному окисненні субстрату. Супероксид-аніон (O₂⁻) може одночасно виступати і як окисник (віднімати електрони від субстратів), і як відновник (віддавати електрони субстрату). В обох випадках субстрат, що взаємодіє з супероксиданіоном, перетворюється на вільний радикал.

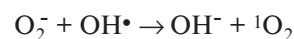
Кисень токсичний для всього живого не через його власну реакційну здатність. У процесі його відновлення до води утворюються три надзвичайно реакційноздатні проміжні сполуки, дві з яких — вільні радикали. Це супероксидний радикал O₂⁻ (супероксиданіон), гідроксильний вільний радикал — OH• і пероксид гідрогену H₂O₂. Будь-яка реакція або система реакцій з утворенням супероксиданіона кисню ініціюватиме і пероксид гідрогену через високу реактивність радикала.



При нагромадженні в тканинах пероксид гідрогену супероксиданіон може взаємодіяти з ним, даючи вільний гідроксильний радикал (реакція Габера — Вейса):



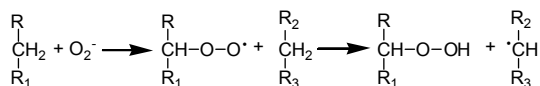
Супероксиданіон може взаємодіяти з вільним гідроксильним радикалом, утворюючи гідроксиланіон і синглетний кисень ¹O₂, у якого два електрони на зовнішній орбіті мають різноспрямований спін.



Якщо від супероксиданіона й пероксиду гідрогену в організмі існують захисні системи, то від вільного гідроксильного радикала і синглетного кисню — їх не існує.

Генерація вільних радикалів відбувається в будь-якій живій клітині в процесі перебігу важливих реакцій, без яких взагалі неможливе її існу-

вання. Як уже зазначалося, супероксидний радикал утворюється в будь-якій клітині в результаті одноелектронного відновлення кисню при роботі дихального ланцюга мітохондрій. Він утворюється в реакціях, що перебігають за участю деяких окисних ферментів. Утворення супероксидного радикала різко зростає при активному фагоцитозі лейкоцитами. Вільні радикали виникають при ферментативному розщепленні АТФ, при виникненні й проведенні збудження по нерву, при роботі натрієвого насоса плазматичних мембран клітин, при окисненні поліненасичених жирних кислот, що входять до складу всіх плазматичних мембран. Утворені при цьому гідроперекиси вищих жирних кислот, на відміну від жирних кислот, що володіють гідрофобністю і тим самим знижують проникність клітинних мембран, отримують гідрофільні властивості й «вимиваються» з поверхні мембран. Імовірно, це один із механізмів відновлення структури плазматичних мембран, що водночас приводить до підвищення їхньої проникності.



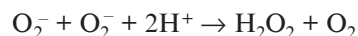
Токсична дія вільних радикалів і пероксиду гідрогену визначається тим, що вони здатні різко змінювати структуру практично всіх біологічних макромолекул — нуклеїнових кислот, білків, жирів, вуглеводів — і таким шляхом порушувати їхні функції. Тому вільнорадикальні реакції можуть спричинювати множинні uszkodження в клітині: порушувати структуру мембран, інактивувати ферменти, сприяти нагромадженню неактивних білків тощо. Встановлено, що супероксидний радикал або атакує ДНК клітини безпосередньо, або призводить до утворення вторинних вільних радикалів, які атакують ДНК. Він може спричинити деполімеризацію полісахаридів, окиснення адреналіну, активувати перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ). Гідроксильний радикал — найпотужніший з усіх відомих окисників. Він, наприклад, утворюється при радіолізі води — процесі, що визначає дію іонізуючого випромінювання на біологічні системи.

Радикали, що утворюються під дією ферментів або в неферментативних реакціях, ініціюють автокаталітичну ланцюгову реакцію з утворенням органічного пероксиду, який може розпадатися на 2 радикали, що вступають у подальші реакції. Цей процес супроводжується розривами ланцюга жирних кислот і реакціями димеризації. Маломолекулярний діальдегід, що утворюється в результаті перекисного окиснення ліпідів і розриву полієнових кислот, створює основи Шиффа з аміногрупами білка, виступає як зшиваючий агент, утворюючи при цьому нерозчинні ліпідбілкові комплекси.

У ході еволюції всі аеробні організми рослинного й тваринного світу виробили механізми захисту від токсичного впливу кисню. Вік цих механізмів оцінюється в мільярд років. Захист від токсичної дії кисню на клітину забезпечується «дво-

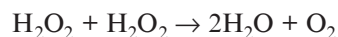
ма ешелонами оборони»: вони зводять до мінімуму утворення токсичних продуктів у ході неферментативного окиснення (тобто вільних радикалів і перекису водню) й ефективно вловлюють ті з них, утворення яких уникнути не вдалося.

«Першу лінію оборони» клітини від вільних радикалів забезпечує група ферментів, наявність яких у клітинах живих організмів встановлено відносно недавно. Вона захищає організм від супероксидного радикала й пероксиду гідрогену, тим самим запобігаючи утворенню вкрай небезпечного гідроксильного радикала. У 1969 р. була відкрита група ферментів супероксиддисмутази (СОД), які захоплюють супероксидні радикали O_2^- , що генеруються в клітині, і, з'єднуючи їх із двома протонами, перетворюють на H_2O_2 і молекулярний кисень.

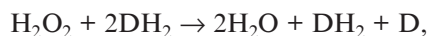


Дві інші групи ферментів — каталаза і пероксидази — призначені для вловлювання H_2O_2 . Вони каталізують двохелектронне відновлення його до води:

1) або використовуючи пероксид гідрогену як донатор електрона (у випадку каталази)



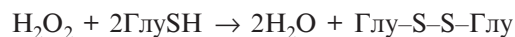
2) або залучаючи різні відновники (у випадку пероксидази)



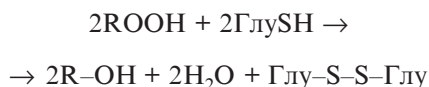
де D — відновник.

Ці групи ферментів зводять концентрацію супероксидного радикала й H_2O_2 в клітинах до абсолютно малої. Так, із кожних 10^6 супероксидних радикалів через супероксиддисмутази захист проходять 3–4.

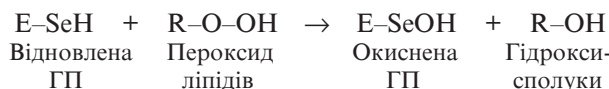
Велике значення має глутатіонова протипероксидна система. Глутатіонпероксидаза каталізує реакцію окиснення глутатіону H_2O_2 :



Або для органічних перекисів:

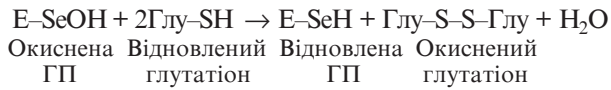


Глутатіонпероксидаза (ГП) — селенвмісний фермент, на відміну від більшості пероксидаз він не є гемпротейном і захищає клітини від H_2O_2 й органічних перекисів. До складу ГП входить Селен (Se) замість Сульфору (S) серину.

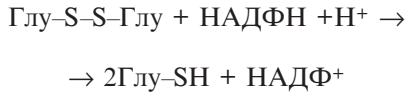


Оскільки в процесі ферментної реакції окиснюється глутатіон, то для його редукції в клітинах існує глутатіонредуктаза, яка за участю відновленого НАДФ⁺ редукує окиснений глутатіон.

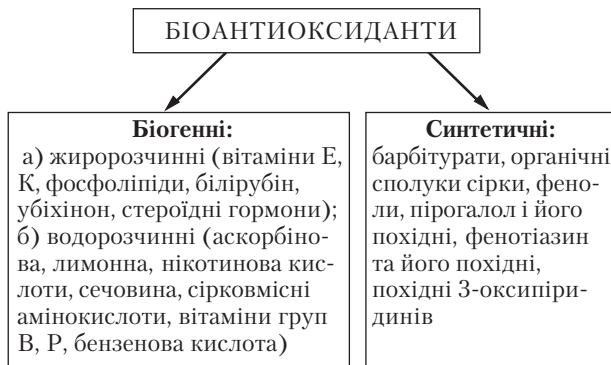
Окиснена ГП за участю відновленого глутатіону перетворюється на відновлену ГП, а відновлений глутатіон окиснюється:



Окиснений глутатіон за участю ферменту глутатіонредуктази (кофермент НАДФ⁺) перетворюється на відновлену форму:

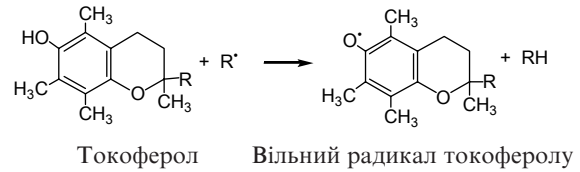


«Друга лінія оборони» — це наявні в будь-якій клітині групи речовин, іменовані антиоксидантами. Їхнє основне призначення — звести до мінімуму ушкодження, які можуть бути заподіяні вільними радикалами, що утворюються, незважаючи на дію ферментативних пасток для супероксидного радикала і H₂O₂. Антиоксиданти гальмують вільнорадикальне, неферментативне окиснення енергетичних субстратів, у першу чергу ненасичених жирних кислот, вуглеводів, вуглеводнів і деяких амінокислот, знижуючи вихід токсичних продуктів окиснення. Система біоантиоксидантів (БАО) організму або клітини складається з екзогенних антиоксидантів, що доставляються з їжею, і ендогенних, синтезованих у ній самій. Для зручності вивчення їх класифікують таким чином: антиоксиданти біогенного походження і синтетичні. Перші діляться на жиророзчинні (вітаміни груп А, Е, К, більшість фосfolіпідів, білірубін, убіхінон, деякі стероїдні гормони) і водорозчинні (аскорбінова, лимонна, нікотинова кислоти, сечовина, сірковмісні амінокислоти, вітаміни груп В, Р, бензенова кислота). До синтетичних антиоксидантів належать барбітурати, органічні сполуки сірки, феноли, пірогалол і його похідні, фенотіазин і його похідні, похідні 3-оксипіридинів.



Одним із найпотужніших природних антиоксидантів є токоферол (вітамін Е — вітамін розмноження). Маючи у своїй структурі ароматичне кільце й довгий бічний ланцюг, що складається із залишків ізопрену, токоферол вбудовується в ліпідний шар плазматичних мембран і, взаємодіючи з вільними радикалами, віддає їм електрони, не перетворюючись при цьому на вільний радикал. Тим самим він перериває вільнорадикальну ланцюгову реакцію й захищає плазматичні

мембрани від ушкодження. Оскільки найчутливішими до ушкодження є мембрани молодих клітин, до яких у першу чергу належать клітини системи кровотворення й статеві клітини, то стає зрозумілою роль токоферолу в процесі розмноження.



Характерний прояв недостатності вітаміну Е — атрофія м'язів. Це пояснюється тим, що при гіповітамінозі внаслідок посиленого перекисного окиснення ліпідів порушується проникність плазматичних і мітохондріальних мембран, через що порушуються аеробні окиснювальні процеси і трансмембранний транспорт, відбувається ушкодження лізосомальних мембран і вивільнені гідроксили руйнують клітину.

Антиоксиданти виявлені практично в усіх органах і тканинах. У зв'язку з цим останніми роками поширеним став термін «антиоксидантна активність тканин» — це здатність антиоксидантів тканин гальмувати процес неферментативного окиснення в клітині в цілому. Антиоксидантна активність більшості сполук визначається наявністю в них рухливого атома Гідрогену з ослабленим зв'язком із атомом Карбону. Біологічна суть дії біоантиоксидантів полягає у зсуві конкурентних відносин між вільнорадикальним і ферментативним окисненням на користь останнього. Цим біоантиоксиданти регулюють ступінь пригнічувального впливу вільнорадикального окиснення на більшість метаболических процесів у клітині, визначають ступінь ушкоджуючого впливу його продуктів на біологічні макромолекули. Остаточний підсумок дії біоантиоксидантів — забезпечення оптимальних умов для нормального функціонування клітин і тканин.

Рівень антиоксидантної активності тканин організму — залежна від багатьох умов, але тонко регульована величина. Сталість рівня сумарної антиоксидантної активності тканин і його індивідуальність для кожного органа, тканини є одним з основних показників гомеостазу.

Відомі численні стани, при яких посилюється вільнорадикальне ушкодження клітин. Це відбувається при іонізуючому опроміненні, стресі, недостатньому надходженні в організм деяких вітамінів, гіподинамії, надлишковому споживанні жиру. Однак з'явилися повідомлення, що надмірне зниження перекисного окиснення ліпідів стимулює пухлинний ріст, можливо, через те, що пухлинні клітини також є молодими клітинами. Тому особливого значення набуває формування або, принаймні, сталість певного балансу між вільнорадикальним окисненням і антиоксидантними системами.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Реакції біологічного окиснення; типи реакцій (дегідрогеназні, оксидазні, оксигеназні) та їх біологічне значення. Тканинне дихання.

2. Ферменти біологічного окиснення в мітохондріях: піридин-, флавінзалежні дегідрогенази, цитохроми.

3. Послідовність компонентів дихального ланцюга мітохондрій. Молекулярні комплекси внутрішніх мембран мітохондрій.

4. Окисне фосфорилування: пункти спряження транспорту електронів і фосфорилування, коефіцієнт окисного фосфорилування.

5. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування, АТФ-синтетаза мітохондрій.

6. Інгібітори транспорту електронів і роз'єднувачі окисного фосфорилування.

7. Мікросомальне окиснення: цитохром P-450; молекулярна організація ланцюга переносу електронів.

Розділ 3

МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ, ЛПІДІВ, АМІНОКИСЛОТ І ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ

Глава 9. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ І ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ

9.1. ФУНКЦІЇ ВУГЛЕВОДІВ

Вуглеводи — полігідроксальдегіди чи кетони з емпіричною формулою $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$ (рис. 9.1).

На частку вуглеводів припадає близько 2 % від сухої маси тіла людини, у рослинних організмах — близько 80 % сухої маси, тому в біосфері вуглеводів значно більше, ніж усіх інших органічних речовин, разом узятих.

1. Енергетична функція: близько 2/3 (60–70 %) енергії, необхідної людині протягом доби, вивільняється в процесі окиснення саме вуглеводів. Особливо необхідні вуглеводи як джерело енергії для головного мозку, що на 80–85 % забезпечується енергією за рахунок окиснення глюкози. В енергетичному обміні головна роль належить глюкозі й глікогену.

2. Структурна функція: пентози нуклеотидів і нуклеїнових кислот, вуглеводи гліколіпідів, глікопротеїнів і протеогліканів входять до структурно-функціональних компонентів клітини. Опорну функцію виконує структурний полісахарид целюлоза в рослинних організмах і хондроїтинсульфати — у кістковій тканині.

3. Гідроосмотична й іонрегулювальна функція: глікозаміноглікани, через високу гідрофільність і негативний заряд, здатні утримувати велику кількість води і катіонів. Наприклад, гіалуронова кислота зв'язує міжклітинну воду і катіони, регулюючи міжклітинний осмотичний тиск, перешкоджає зайвому накопиченню вільної води у міжклітинному просторі, кальцифікації судинних стінок.

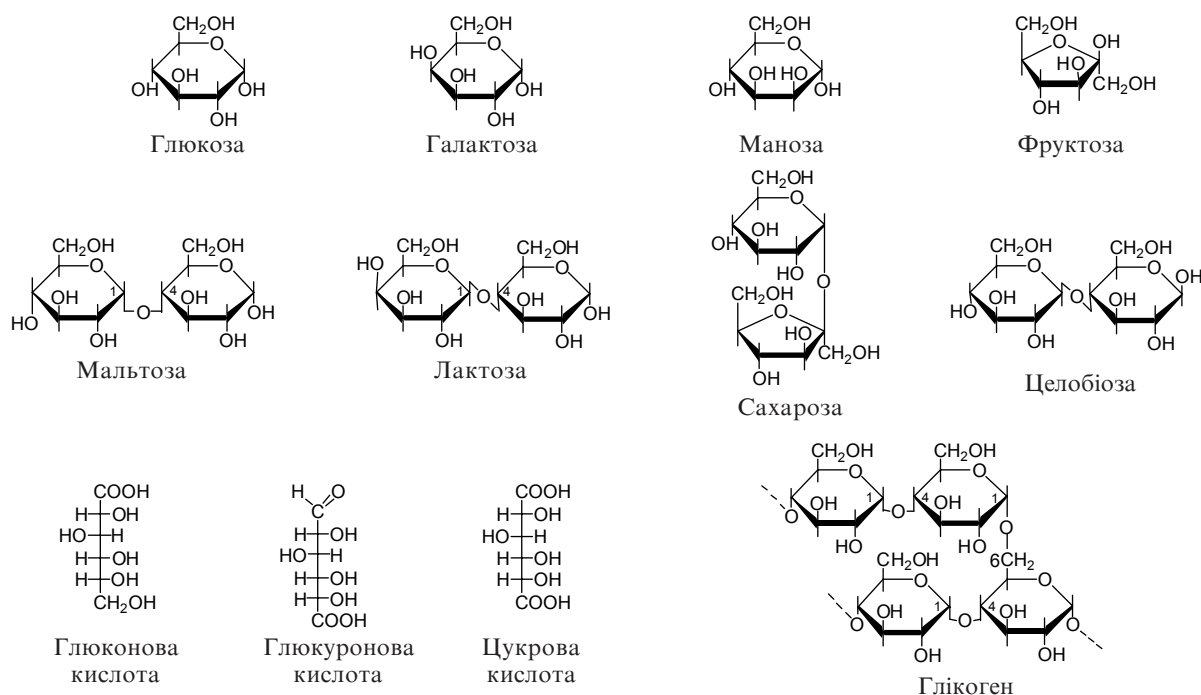


Рис. 9.1. Основні представники вуглеводів

4. Захисна функція. Цю функцію виконують такі вуглеводи:

1) Глікозаміноглікани, що з білками утворюють протеоглікани. Останні входять до складу слизів, що вкривають слизові оболонки, містяться у складі рідини суглобів і т. ін. Вкриваючи тонким шаром поверхню клітин, протеоглікани захищають їх від механічних, хімічних та інших ушкоджень.

2) Глікопротеїни крові: альбуміни, глобуліни, антитіла, фактори згортання крові та протизгортальні фактори (гепарин). Ці комплексні сполуки захищають організм від інфекції (глобуліни, антитіла), крововтрати (фактори згортання крові) і тромбоутворення.

3) Глюкуронова кислота знешкоджує в печінці токсичні продукти гниття, що утворюються з білків у кишечнику і надходять у печінку, а також білірубін та інші метаболіти.

5. Участь в утворенні біологічно активних речовин. Вуглеводи входять до складу: нуклеопро-теїнів: а) нуклеотидів-макроергів — АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ; б) нуклеотидів-коферментів — НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, ФМН, КоА та ін.; в) нуклеїнових кислот — ДНК, РНК, що забезпечують передачу спадкової інформації та біосинтез білка.

6. Перетворення вуглеводів на ліпіди, амінокислоти та інші сполуки. З вуглеводів в організмі можуть синтезуватися речовини інших класів, зокрема ліпіди й деякі амінокислоти.

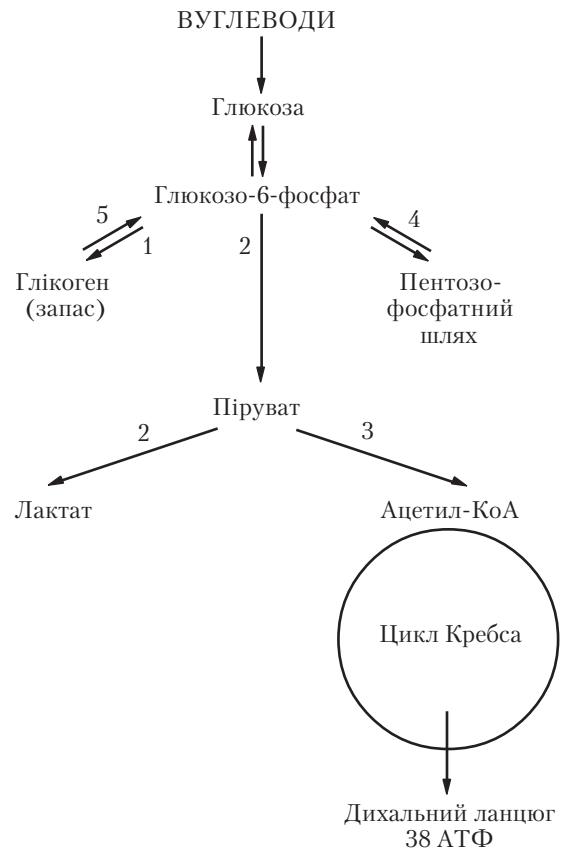


Рис. 9.2. Метаболізм глюкози в тканинах

9.2. МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ. АНАЕРОБНЕ ОКИСНЕННЯ ГЛЮКОЗИ (ГЛІКОЛІЗ) І ГЛІКОГЕНУ (ГЛІКОГЕНОЛІЗ)

Обмін вуглеводів у тканинах людини складається в основному з таких процесів:

1. **Глікогеноліз** — розщеплення глікогену в печінці до глюкози, а в м'язах — до пірувату, лактату з утворенням молекул АТФ.

2. **Гліколіз** — розщеплення глюкози до пірувату і лактату в анаеробних умовах.

3. **Окисне декарбоксилювання пірувату.** В аеробних умовах піруват перетворюється на ацетил-КоА, що може бути окиснений у циклі Кребса з утворенням АТФ. Він може бути також використаний у синтезі жирних кислот, холестеролу і кетонових тіл.

4. **Пентозофосфатний шлях** (гексозомонофосфатний шунт) — головний спосіб одержання НАДФН для біосинтетичних цілей і пентоз — для біосинтезу нуклеотидів.

5. **Глікогенез** — синтез глікогену з глюкози в печінці та м'язах.

6. **Глюконеогенез** — утворення глюкози з речовин неуглеводної природи.

Метаболізм глюкози в тканинах ілюструє рис. 9.2.

Глікогеноліз

Одним із шляхів використання моносахаридів у організмі є окиснення їх до CO_2 і H_2O . Цим шля-

хом використовується 60–70 % моносахаридів (переважно глюкоза).

У клітинах різних органів і тканин окиснюється до CO_2 і H_2O глюкоза, яка:

1) всмокталася після перетравлювання вуглеводів;

2) утворилася в результаті розпаду глікогену;

3) утворилася за рахунок глюконеогенезу;

4) утворилася в циклі Корі;

5) утворилася з галактози і фруктози.

Окиснюючись до CO_2 і H_2O , глюкоза спочатку перетворюється на піровиноградну (піруват) або молочну кислоту (лактат). Система біохімічних реакцій перетворення глюкози до пірувату або лактату називається гліколізом (від грецьк. *glykos* — солодкий, *lysis* — розчинення, розкладання, розпад).

Окисненню до CO_2 і H_2O піддається не тільки глюкоза, що перебуває в клітинах у вільному стані, але й глюкоза, що утворюється в клітинах у результаті розпаду глікогену. Система біохімічних реакцій перетворення глікогену на піруват або лактат називається *глікогенолізом* (рис. 9.3).

Цей процес можна умовно розділити на два етапи:

1) розпад глікогену до глюкозо-6-фосфату;

2) перетворення глюкозо-6-фосфату на піруват або лактат.

Перший етап глікогенолізу — розпад глікогену до глюкозо-6-фосфату — перебігає в кількох реакцій:

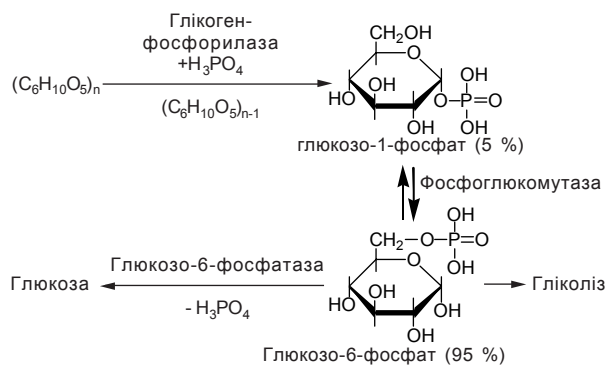


Рис. 9.3. Схема глікогенолізу

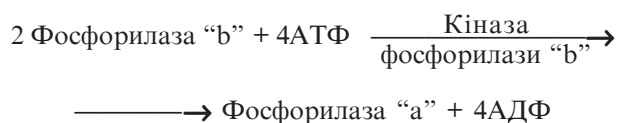
Перша реакція — фосфороліз глікогену (або глікогенфосфорилазна реакція). У цій реакції відбувається відщеплення від глікогену глюкозо-1-фосфату за участю H_3PO_4 і ферменту глікогенфосфорилази (α -глюканфосфорилаза), тобто фосфороліз глікогену. Глікогенфосфорилаза каталізує відщеплення залишків глюкози від глікогену, розщеплюючи α -1,4-глікозидні зв'язки до місця, що відстоїть на чотири глюкозні одиниці від α -1,6-зв'язку.

Глікогенфосфорилаза перебуває в клітині у двох формах — неактивній (фосфорилаза “b”) і активній (фосфорилаза “a”). Фосфорилаза “b” складається з двох субодиниць, а фосфорилаза “a” — із чотирьох.

Розрізняють два шляхи активації фосфорилази “b”:

- 1) каскадний механізм активації;
- 2) алостеричний механізм — в основному, за допомогою АМФ.

У процесі каскадного механізму перетворення відбувається об'єднання двох молекул фосфорилази “b” в одну молекулу фосфорилази “a”. Крім об'єднання молекул ферменту, відбувається фосфорилування фосфорилази “b”, тобто до амінокислоти серин кожної з чотирьох субодиниць ферменту приєднується H_3PO_4 . Донор фосфату — АТФ.



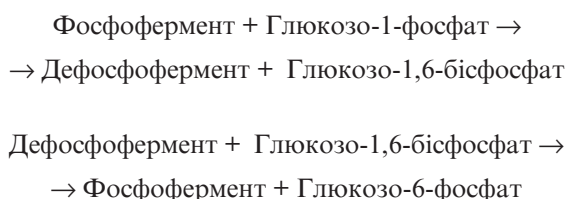
Каталізує цю реакцію фермент кіназа фосфорилази “b”. Остання перетворюється з неактивної форми на активну шляхом фосфорилування (приєднуючи H_3PO_4) під дією ферменту протеїнкінази, яка з неактивної форми перетворюється на активну під дією цАМФ, що утворюється з АТФ під дією аденілатциклази. Вона активується гормонами адреналіном (мозковий шар надниркових залоз) і глюкагоном (підшлункова залоза). При підвищенні вмісту цих гормонів запускається процес фосфоролізу глікогену. Каскадний механізм активації фосфорилази в м'язах функціонує лише у разі необхідності інтенсивної та термінової роботи.

Перетворення фосфорилази “a” на фосфорилазу “b” каталізує фермент фосфатаза фосфорилази “a”. Під час цієї реакції відбувається відщеплення від фосфорилази “a” гідролітичним шляхом чотирьох молекул H_3PO_4 .

Крім цього, у м'язах діє і другий механізм регуляції глікогенфосфорилазної активності — активація фосфорилази “b” за участю АМФ за алостеричним типом, без фосфорилування. Фосфорилаза “a” не активується АМФ, тому вона ще називається АМФ-незалежна фосфорилаза, а фосфорилаза “b” називається ще АМФ-залежна фосфорилаза.

Крім глікогенфосфорилази в розщепленні глікогену бере участь також фермент аміло-1,6-глікозидаза, який каталізує дві реакції. У першій він відщеплює від ланцюга три залишки глюкози з чотирьох, що залишилися після дії глікогенфосфорилази, і переносить їх на кінець якого-небудь іншого зовнішнього бічного ланцюга. У другій реакції відщеплюється четвертий залишок глюкози з розривом α -1,6-зв'язку, причому розрив глікозидних зв'язків під дією даного ферменту відбувається гідролітичним шляхом (за участю H_2O). Тому четвертий залишок глюкози відщеплюється у вигляді глюкози, а не глюкозо-1-фосфату (Гл-1-Ф).

Друга реакція глікогенолізу — перетворення глюкозо-1-фосфату на глюкозо-6-фосфат під дією ферменту фосфоглюкомутаси (див. рис. 9.2). Рівновага реакції встановлюється при концентрації Гл-6-Ф — 95% і Гл-1-Ф — 5%. Цей фермент стає активним після приєднання фосфорної кислоти, тобто після його фосфорилування (його прискорює глюкозо-1,6-бісфосфат (Гл-1,6-БФ) — кофактор даного ферменту). У каталітичному центрі фосфорильованої форми ферменту присутній фосфорильований залишок серину. Фосфорильна група ферменту повільно втрачається. Вона відновлюється завдяки переносу фосфорильних груп від Гл-1,6-БФ, що утворився з Гл-1-Ф і АТФ у фосфоглюкомутазній реакції. Участь глюкозо-1,6-бісфосфату у фосфоглюкомутазній реакції можна представити у вигляді такої схеми:



Утворенням Гл-6-Ф завершується перший етап глікогенолізу. Утворений Гл-6-Ф вступає в другий етап глікогенолізу — гліколіз, тобто після утворення Гл-6-Ф подальші шляхи глікогенолізу і гліколізу повністю збігаються. Однак у клітинах печінки частина Гл-6-Ф під дією глюкозо-6-фосфатази розщеплюється гідролітичним шляхом на глюкозу і H_3PO_4 . Наявність цього ферменту зумовлена тим, що Гл-6-Ф не може вийти з клітин печінки для поповнення рівня глюкози в

крові, а глюкозу, на відміну від Гл-6-Ф, клітини печінки вільно пропускають у кров. Глюкозо-6-фосфатазу мають також клітини нирок і кишечника, але її немає в м'язах і мозку. Тому глікоген печінки, нирок і кишечника використовується для поповнення рівня глюкози в крові та для забезпечення глюкозою інших органів. Через відсутність Гл-6-фосфатази в м'язах і мозку глюкоза, що утворилася після розпаду глікогену, у кров не потрапляє, а використовується тільки в цих органах.

Крім участі Гл-6-Ф у реакціях гліколізу, Гл-6-фосфатазній реакції, частина його використо-

вується в пентозофосфатному шляху обміну вуглеводів або знову перетворюється на Гл-1-Ф.

Гліколіз

Гліколіз — це система реакцій перетворення глюкози до пірувату або лактату (рис. 9.4).

Гліколіз можна умовно розділити на дві стадії: 1) Фосфорилювання глюкози і її перетворення на гліцераальдегід-3-фосфат. Це підготовча стадія гліколізу, яка складається з п'яти реакцій. На цій стадії витрачаються дві молекули АТФ.

2) Перетворення гліцераальдегід-3-фосфату на піруват і сполучене з ним утворення АТФ. Ця

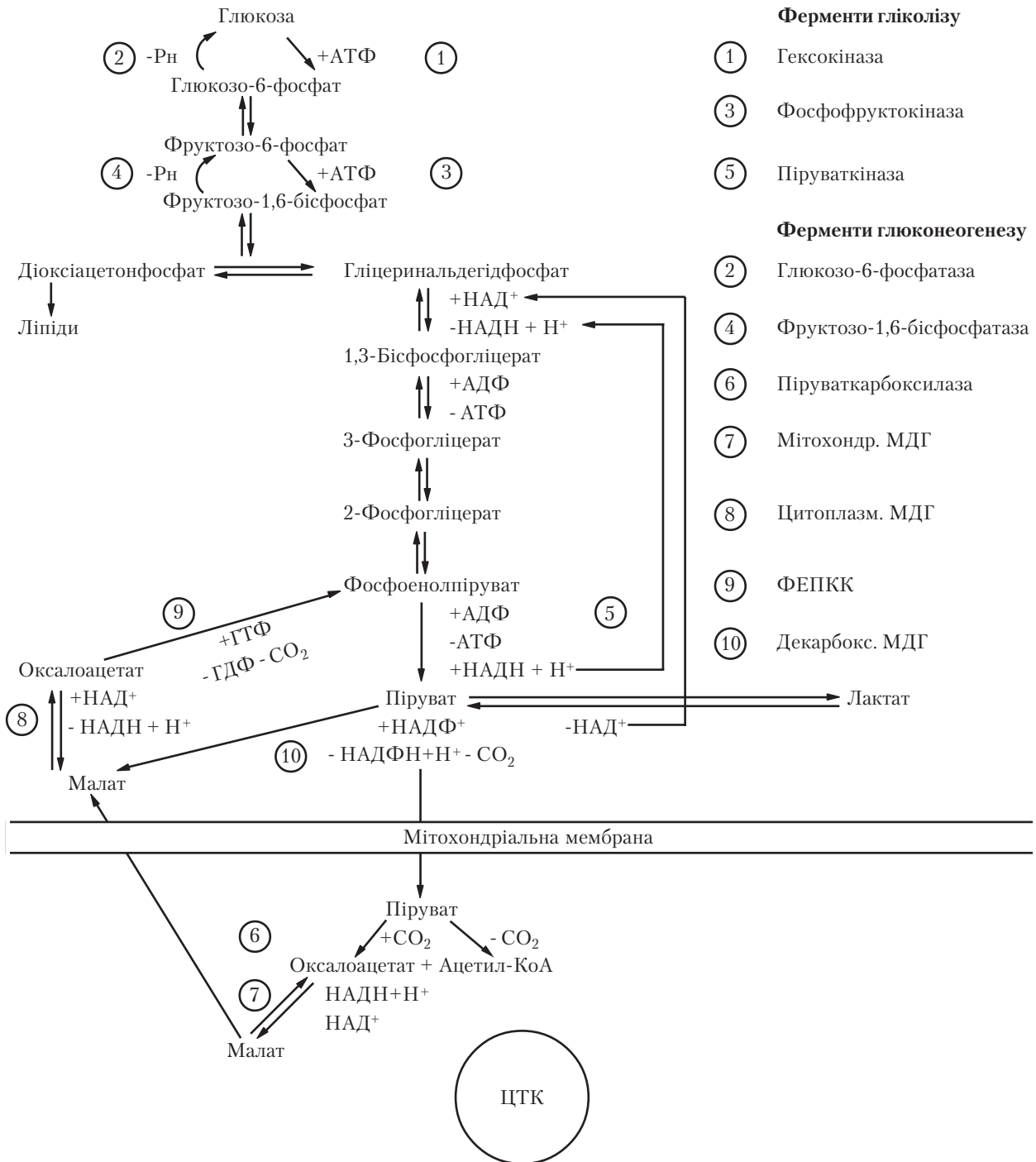
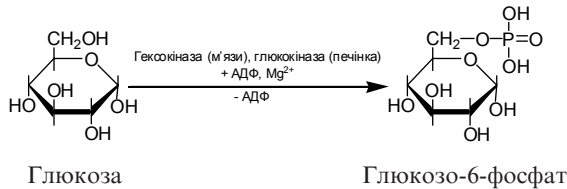


Рис. 9.4. Взаємозв'язок гліколізу і глюконеогенезу

стадія також складається з п'яти ферментативних реакцій. На цій стадії відбувається перетворення 2 молекул гліцеральдегід-3-фосфату в 2 молекули пірувату. У ході цього перетворення синтезуються 4 молекули АТФ.

Реакції першої стадії гліколізу:

1. Фосфорилювання глюкози до глюкозо-6-фосфату під дією ферменту гексокінази або глюкокінази за участю АТФ й іонів Mg^{2+} .



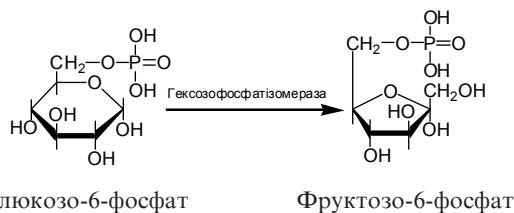
Глюкокіназа, на відміну від гексокінази:

— каталізує фосфорилювання тільки глюкози, а гексокіназа — всіх гексоз;

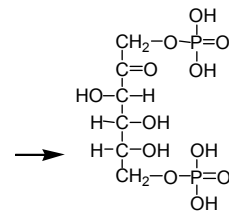
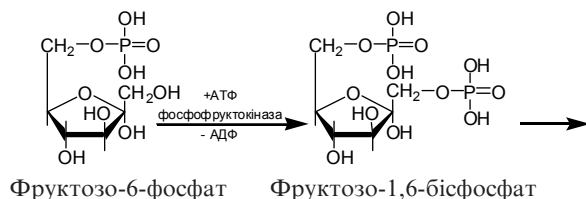
— її активність не пригнічується високими концентраціями глюкозо-6-фосфату;

— глюкокіназа каталізує фосфорилювання глюкози при високій її концентрації (наприклад у печінці), куди з тонкого кишечника по системі ворітної вени інтенсивно надходить глюкоза після прийому їжі та її перетравлювання. Глюкозо-6-фосфат, що утворився у печінці в глюкокіназній реакції, використовується в основному на біосинтез глікогену. Отже, за допомогою глюкокінази печінка затримує глюкозу у своїх клітинах у вигляді Гл-6-Ф, що не може вийти з печінкових клітин у кров і витрачається на біосинтез глікогену (під дією ферменту фосфоглюкомутази глюкозо-6-фосфат перетворюється на глюкозо-1-фосфат, а останній використовується на біосинтез глікогену).

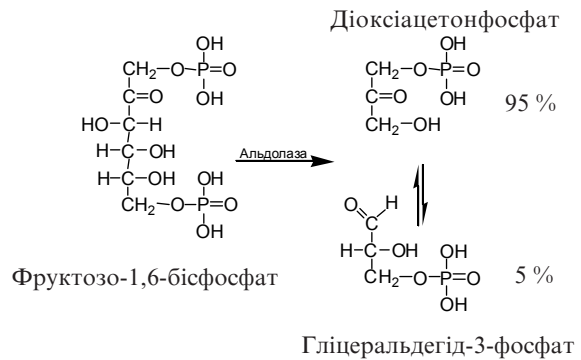
2. Ізомеризація глюкозо-6-фосфату у фруктозо-6-фосфат. Реакцію каталізує фермент гексофосфатізомераза. Рівновага реакції встановлюється при концентрації глюкозо-6-фосфату — 70 % і фруктозо-6-фосфату — 30 %.



3. Фосфорилювання Ф-6-Ф у фруктозо-1,6-бісфосфат (Ф-1,6-БФ) за участю АТФ й іонів Mg^{2+} під впливом ферменту фосфоглюкокінази. Цей фермент активується АДФ і АМФ й пригнічується АТФ. Типовим субстратом гліколізу є Ф-1,6-БФ (або ефір Л. А. Іванова). Ця реакція є необоротною, найповільнішою реакцією гліколізу.



4. Розщеплення Ф-1,6-БФ на дві фосфотріози — гліцеральдегід-3-фосфат і діоксіацетонфосфат — під дією ферменту альдолази:



5. Ізомеризація тріозофосфатів. Дві фосфотріози, що утворилися, взаємно перетворюються одна на одну за участю ферменту тріозофосфатізомерази. Динамічна рівновага даної реакції встановлюється при концентрації гліцеральдегід-3-фосфату близько 5 % і діоксіацетонфосфату — близько 95 %, тобто рівновага реакції зрушена у бік утворення діоксіацетонфосфату.

Ця сполука може перетворюватися на:

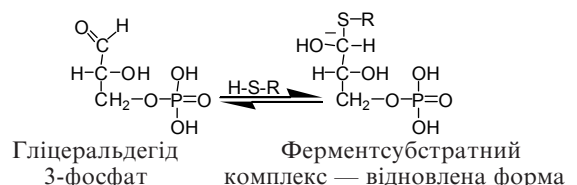
1) гліцеральдегід-3-фосфат;

2) гліцерол-3-фосфат під впливом ферменту гліцерол-3-фосфатдегідрогенази, коферментом якого є НАД⁺. Гліцерофосфат використовується для біосинтезу ліпідів у цитозолі.

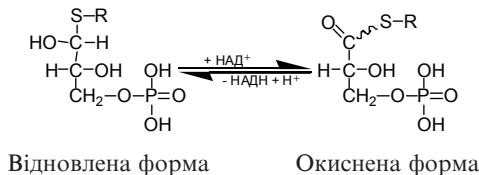
Однак, незважаючи на це, подальше перетворення глюкози в анаеробних умовах іде по шляху окиснення гліцеральдегід-3-фосфату. Відбувається це внаслідок дуже економного залучення клітиною метаболітів до окиснювальних процесів у режимі «розумної достатності».

6. Перетворення гліцеральдегід-3-фосфату на 1,3-бісфосфогліцеринову кислоту. Цей процес каталізує фермент гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа. Він належить до групи складних ферментів, коферментом його є НАД⁺. Білкова частина містить сульфгідрильну групу (SH), що належить цистеїну. Крім цього ферменту, у даній реакції бере участь фосфорна кислота. Процес перебігає в кілька етапів:

а) приєднання гліцеральдегід-3-фосфату до гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази, її SH-групи цистеїну, що входить до складу активного центру даного ферменту. У результаті цієї реакції утворюється ферментсубстратний комплекс — його відновлена форма;

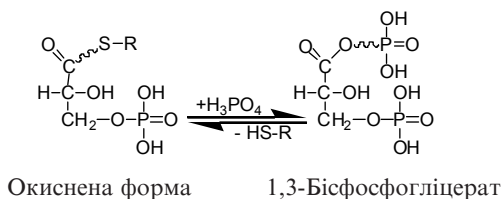


б) окиснення ферментсубстратного комплексу шляхом відщеплення двох атомів Гідрогену і приєднання їх до НАД⁺. При цьому відновлена форма ферментсубстратного комплексу перетворюється на окиснену його форму, а НАД⁺ з окисненої (НАД⁺) — на відновлену форму (НАДН+Н⁺), яка відділяється від ферменту і переносить протони й електрони на інший субстрат (зокрема, піруват або оксалоацетат), а з активним центром знову зв'язується НАД⁺.

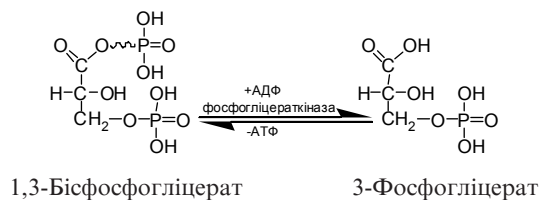


У результаті окиснення ферментсубстратного комплексу утворюється енергія, зосереджена у карбоксил-тіоловому макроергічному зв'язку;

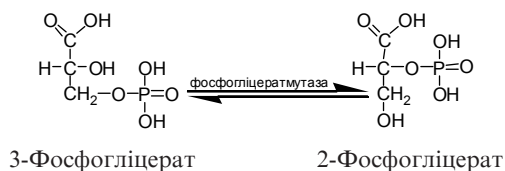
в) взаємодія окисненої форми ферментсубстратного комплексу з фосфорною кислотою. Оскільки фермент повинен залишити молекулу продукту реакції та зв'язатися з новою молекулою субстрату, не втративши акумульованої в продукті реакції енергії, карбоксил-тіоловий макроергічний зв'язок під впливом H₃PO₄ перетворюється на макроергічний карбоксилфосфатний зв'язок. При цьому утворюється 1,3-бісфосфогліцерат, енергія якого використовується для синтезу АТФ і вивільняється фермент гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа.



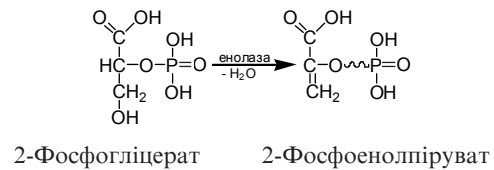
7. Перенос фосфатної групи від 1,3-бісфосфогліцерату на АДФ з утворенням АТФ і 3-фосфогліцерату. При цьому залишок фосфорної кислоти й енергія макроергічного карбоксил-фосфатного зв'язку переноситься на АДФ, що перетворюється при цьому на АТФ. Каталізує цю реакцію фосфогліцераткіназа.



8. Перетворення 3-фосфогліцерату на 2-фосфогліцерат під впливом фосфогліцератмутуази. Відбувається внутрішньомолекулярна перебудова. Кофактором ферменту є 2,3-бісфосфогліцерат.

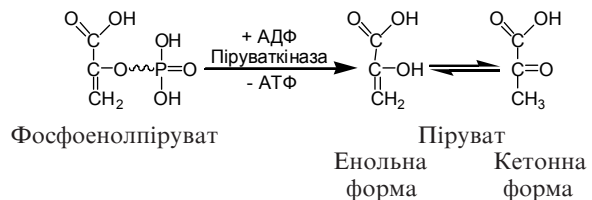


9. Дегідратація 2-фосфогліцерату й перетворення на 2-фосфоенолпіруват. Каталізує реакцію фермент енолаза (фосфопіруватгідратаза). При цьому 2-фосфогліцерат втрачає молекулу H₂O:

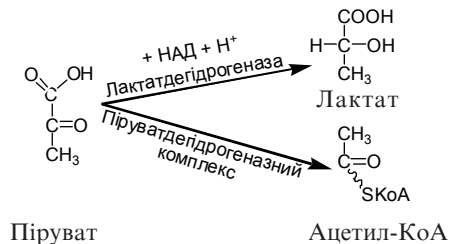


2-Фосфоенолпіруват має макроергічний карбоксилфосфатний зв'язок, енергія якого використовується для синтезу нової молекули АТФ.

10. Перенос фосфатної групи від фосфоенолпірувату на АДФ. Каталізує цю реакцію піруваткіназа. При цьому макроергічний фосфат з його енергією переноситься на АДФ з утворенням АТФ, а фосфоенолпіруват перетворюється на енольну форму пірувату (енолпіруват).



У цій же реакції гліколізу відбувається перехід енольної форми пірувату в кетонну форму неферментативним шляхом (спонтанно):



В анаеробних умовах піруват під дією ферменту лактатдегідрогенази (ЛДГ) відновлюється до лактату. Коферментом ЛДГ є НАД⁺. Він відновлюється до НАДН+Н⁺ при окисненні гліцеральдегід-3-фосфату і використовується при перетворенні пірувату на лактат, тобто відбувається процес гліколітичної оксидоредукції.

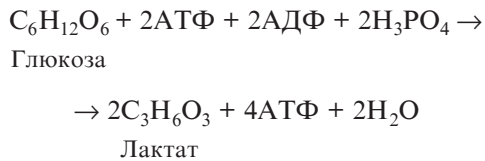
В аеробних умовах піруват піддається складному окисному декарбоксилюванню, перетворюючись на ацетил-КоА. Каталізує реакцію поліферментний піруватдегідрогеназний комплекс. Крім цього, в аеробних умовах НАДН+Н⁺, який утворився в гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції, передає атоми Гідрогену на цитоплазматичну малатдегідрогеназу, що забезпечує відновлення оксалоацетату до малату, переміщення останнього в мітохондрії, окиснення його і передачу НАДН+Н⁺ на ланцюг дихальних ферментів, а не на піруват, як це відбувається в анаеробних умовах.

Для того, щоб підкреслити ці особливості окиснення глюкози в анаеробних умовах до лакта-

ту, його називають ще анаеробним гліколізом. В аеробних умовах гліколіз являє собою лише першу стадію повного аеробного розщеплення глюкози до CO_2 і H_2O . На другій стадії аеробного розщеплення глюкози до CO_2 і H_2O піруват піддається окисному декарбоксілюванню, тобто втрачає CO_2 , а двовуглецевий фрагмент перетворюється на ацетил-КоА. Далі ця ацетильна група окиснюється до CO_2 і H_2O в ЦТК.

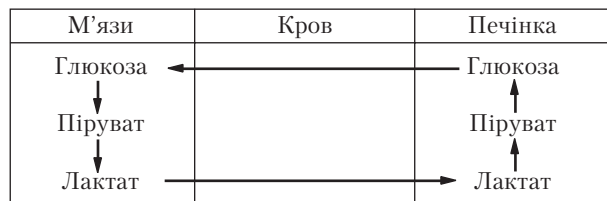
Гліколіз і глікогеноліз перебігають у цитоплазмі клітини, де локалізовані всі вищевказані ферменти цих процесів. Із 10 реакцій гліколізу три реакції є необоротними: гексокіназна, фосфофруктокіназна і піруваткіназна.

Сумарна реакція гліколізу:

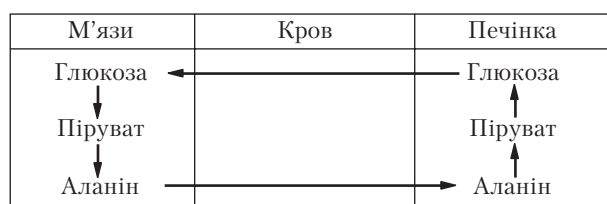


Біологічна роль гліколізу. Енергетична функція

Анаеробний гліколіз — один із процесів, що забезпечує клітини енергією в анаеробних умовах. Оскільки перші живі організми з'явилися на Землі в той час, коли її атмосфера ще не містила кисню, анаеробний гліколіз слід вважати найдавнішим із біологічних механізмів, призначених для отримання енергії з органічних речовин. З усіх тканин анаеробний гліколіз найінтенсивніше відбувається в м'язах під час роботи (наприклад, біг спортсмена на коротку дистанцію). Кисень не встигає швидко надходити в м'язи і забезпечувати окиснення пірувату і сполучений з ним синтез АТФ. У цих умовах м'язи використовують як «паливо» наявний запас глікогену і генерують АТФ за допомогою анаеробного гліколізу, кінцевим продуктом якого є лактат. Тому під час бігу на коротку дистанцію в крові нагромаджується значна кількість лактату. Під час відпочинку цей лактат перетворюється в печінці на глюкозу, яка надходить у м'язи (цикл Корі).



Крім лактату, з пірувату в м'язах може утворюватися шляхом трансамінування аланін, що надходить у кров, печінку, де перетворюється на піруват, а останній — на глюкозу (глюкозоаланіновий цикл).



Однак існують докази, що лактат, нагромаджений у м'язах під час роботи, може залучатися до глюकोгеногенезу, не залишаючи м'язів.

На етапі анаеробного гліколізу вивільняється 6–7 % енергії, що утворюються при повному окисненні глюкози. На першій стадії гліколізу з однієї молекули глюкози утворюються дві молекули гліцеральдегід-3-фосфату, окиснення якого до пірувату сполучене з синтезом двох молекул АТФ:

а) у фосфогліцераткіназній реакції за рахунок енергії 1,3-бісфосфогліцерату;

б) у піруваткіназній реакції за рахунок енергії фосфоенолпірувату.

Отже, в анаеробному гліколізі утворюються 4 молекули АТФ. Оскільки 2 молекули АТФ споживаються на першій стадії гліколізу (гексокіназна і фосфофруктокіназна реакції), енергетична роль анаеробного гліколізу полягає в синтезі 2 молекул АТФ на 1 молекулу глюкози.

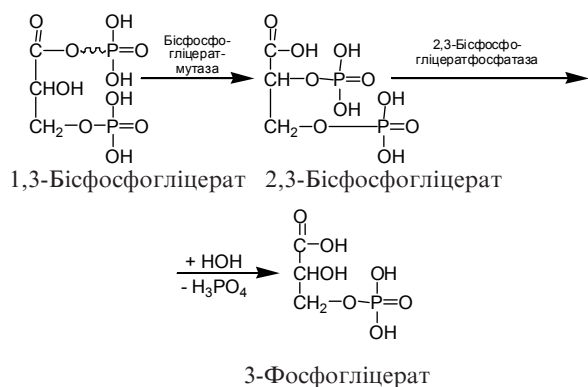
1. Енергетична роль аеробного гліколізу така. Одним із продуктів гліколізу є $\text{НАДН}+\text{H}^+$, що утворюється при окисненні гліцеральдегід-3-фосфату, причому на кожен молекулу глюкози утворюються 2 молекули $\text{НАДН}+\text{H}^+$. В аеробних умовах $\text{НАДН}+\text{H}^+$ окиснюється за рахунок кисню, тобто атоми Гідрогену передаються не на піруват, як це відбувається в анаеробному гліколізі, а на ланцюг дихальних ферментів. При окисненні однієї молекули $\text{НАДН}+\text{H}^+$ у ланцюзі дихальних ферментів синтезуються 3 молекули АТФ, а при окисненні 2 молекул НАДН — 6 молекул АТФ. Отже, на першому етапі енергетична ефективність аеробного гліколізу більша, ніж анаеробного (вона становить $6 + 2 = 8$ молекул АТФ, якщо функціонує малатаспартатний човниковий механізм, а якщо гліцерофосфатний, — то 6 молекул АТФ). Враховуючи, що 2 молекули ацетил-КоА, утворені в аеробних умовах із пірувату, окиснюються у ЦТК, дають по 12 молекул АТФ кожна, то енергетична цінність аеробного окиснення глюкози до CO_2 і H_2O дорівнює 36–38 молекул АТФ.

Енергетична роль глікогенолізу в перерахунку на одну молекулу глюкози рівноцінна анаеробному або аеробному гліколізу. Під час глікогенолізу АТФ не витрачається на утворення Гл-6-Ф, однак у процесі синтезу глікогену з глюкози одна молекула АТФ витрачається на утворення Гл-1-Ф із глюкози, що перетворюється на біосинтез глікогену. Крім того, 1 молекула УТФ витрачається на утворення УДФ-глюкози.

2. Гліколіз готує «напівфабрикати» (піруват і лактат), які далі окиснюються в аеробних умовах ЦТК до CO_2 і H_2O з вивільненням значної кількості енергії. Як відомо, на кожен молекулу глюкози в гліколізі утворюються 2 молекули пірувату або 2 молекули лактату. При їхньому окисненні до CO_2 і H_2O вивільнюється 93–94 % від усієї енергії окиснення 1 молекули глюкози.

2,3-Бісфосфогліцератний цикл. В еритроцитах багатьох ссавців є фермент бісфосфогліцератмутаза, який каталізує перетворення 1,3-бісфосфо-

гліцерату на 2,3-бісфосфогліцерат, що перетворюється на 3-фосфогліцерат за участю 2,3-бісфосфогліцератфосфатази. На цій стадії процес не супроводжується утворенням АТФ. Утворений 2,3-бісфосфогліцерат знаходиться в еритроциті в еквімолярних співвідношеннях із гемоглобіном, зв'язується з оксигемоглобіном, знижуючи спорідненість останнього до кисню, тобто сприяє дисоціації оксигемоглобіну і переходу кисню в тканини.



3. Проміжною речовиною гліколізу є діоксиацетонфосфат. Ця сполука може залучатися до біосинтезу жирів. Отже, за рахунок гліколізу забезпечується взаємозв'язок між обміном вуглеводів і жирів та їхнє взаємоперетворення.

Реакції аеробного й анаеробного гліколізу відрізняються лише на етапі утворення пірувату, що перетворюється на ацетил-КоА при аеробному гліколізі. Крім того, анаеробний і аеробний гліколіз відрізняються способами регенерації відновленого НАДН у НАД⁺.

Регуляція гліколізу

Більшість реакцій гліколізу — оборотна, однак три з них мають яскраво виражений екзергонічний характер і тому можуть розглядатися як фізіологічно необоротні. Ці реакції каталізуються гексокіназою (чи глюкокіназою), фосфоглюкокіназою і піруваткіназою й служать головними ділянками, на яких відбувається регуляція гліколізу.

Гексокіназа (у скелетних м'язах) — для ферменту алостеричним інгібітором є глюкозо-6-фосфат.

Фосфоглюкокіназа — інгібіторами ферменту є АТФ, цитрат, активатором — АМФ.

Піруваткіназа — інгібітором ферменту є АТФ, субстрати циклу лимонної кислоти.

Контроль гліколізу здійснюється за допомогою лактатдегідрогенази та її ізоферментів. У тканинах з аеробним метаболізмом (тканини серця, нирок) переважають ЛДГ₁, ЛДГ₂, що інгібуються навіть невеликими концентраціями пірувату, перешкоджають утворенню лактату, це сприяє утворенню ацетил-КоА, що окиснюється в циклі трикарбонових кислот. У скелетних м'язах активність ЛДГ₅ максимальна при концентраціях

пірувату, що інгібують ЛДГ₁. Переважання ізоферментів ЛДГ₅ і ЛДГ₄ зумовлює інтенсивний анаеробний гліколіз зі швидким перетворенням пірувату на лактат.

Клінічні аспекти гліколізу

1. Для більшості пацієнтів із дефіцитом гліколітичних ферментів (піруваткінази в еритроцитах) характерна *гемолітична анемія* в результаті зменшення швидкості синтезу АТФ. Енергія АТФ необхідна для підтримки цілісності мембрани еритроцитів, зміни в якій призводять до ушкодження клітин і зрештою — до їхньої загибелі.

2. Лактоацидоз.

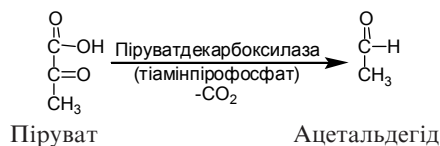
Підвищена концентрація лактату в крові (лактоацидоз) спостерігається при інфаркті міокарда, легеневій емболії, неконтрольованих геморагіях. Недостатнє постачання О₂ до тканин призводить до ослаблення окисного фосфорилування і синтезу АТФ. Для виживання клітина використовує анаеробний гліколіз як рятівну міру для одержання АТФ, через це збільшується концентрація лактату.

У швидкозростаючих ракових клітинах гліколіз перебігає з швидкістю, яка значно перевищує можливості циклу лимонної кислоти, внаслідок чого утворення пірувату перевершує його споживання. Це призводить до утворення надлишку лактату і підвищення кислотності в пухлинній тканині.

Спиртове бродіння

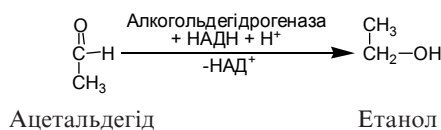
В анаеробних умовах у вищих організмів глюкоза в процесі гліколізу розщеплюється до лактату. У мікроорганізмів (наприклад дріжджів) в анаеробних умовах глюкоза також розщеплюється до пірувату, який надалі перетворюється не на лактат, а на етиловий спирт. Це перетворення відбувається у дві реакції:

1. **Декарбоксілювання пірувату до ацетальдегіду.** Каталізує реакцію фермент піруватдекарбоксілаза, коферментом якого є ТПФ.



2. **Відновлення ацетальдегіду до етанолу.** Каталізує цю реакцію фермент алкогольдегідрогеназа, коферментом якого є НАД⁺. Відновлення ацетальдегіду відбувається за рахунок НАДН + Н⁺, що утворився при окисненні гліцеральдегід-3-фосфату.

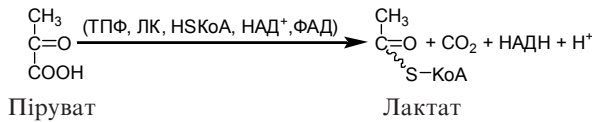
Процес перетворення глюкози на етанол і СО₂ дістав назву *спиртового бродіння*.



9.3. АЕРОБНЕ ОКИСНЕННЯ ГЛЮКОЗИ. АЛЬТЕРНАТИВНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ МОНОСАХАРИДІВ. МЕТАБОЛІЗМ ФРУКТОЗИ ТА ГАЛАКТОЗИ. ПЕНТОЗОФОСФАТНИЙ ШЛЯХ

Окисне декарбоксілювання пірвіноградної кислоти

Як зазначалося раніше, при гліколізі в **анаеробних умовах** пірвіноградна кислота (пірват) перетворюється в молочну (лактат). В **аеробних умовах** пірвіноградна кислота піддається окисному декарбоксілюванню з утворенням ацетил-КоА, CO_2 і $\text{НАДН} + \text{H}^+$.



Каталізує окисне декарбоксілювання пірвіноградної кислоти складний поліферментний комплекс — *пірватдегідрогеназа*, до складу якої входять п'ять ферментів і п'ять коферментів:

1. Пірватдегідрогеназа (E_1) з коферментом ТПФ.
2. Дигідроліпоїлтрансациетилаза (E_2) з коферментами ЛК і НСKoA .
3. Дигідроліпоїлдегідрогеназа (E_3) з коферментами ФАД і НАД.
4. Пірватдегідрокіназа.
5. Пірватдегідрозфатаза.

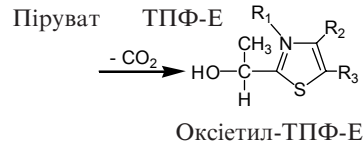
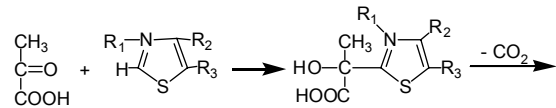
Пірватдегідрогеназний комплекс складається з 16 молекул пірватдегідрогенази; 8 молекул дигідроліпоїлдегідрогенази; 64 субодиниць дигідроліпоїлтрансациетилази, об'єднаних у 4 агрегати.

Окисне декарбоксілювання пірвіноградної кислоти відбувається в мітохондріальному матриксі, складається з 5 реакцій і є сполучною ланкою між гліколізом і циклом трикарбонних кислот.

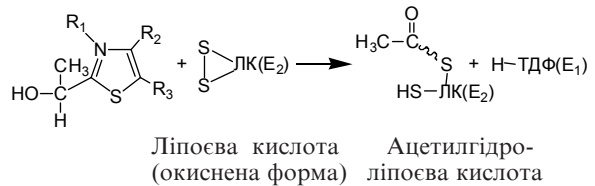
Стадії процесу:

1. *Декарбоксілювання пірвіноградної кислоти* з утворенням оксіетил-тіамініпрофосфату (оксіетил-ТПФ) — фосфорний ефір вітаміну B_1 . Каталізує цю реакцію фермент пірватдегідрогеназний компонент комплексу, коферментом якого є ТПФ. При цьому ТПФ реагує з пірватом у вигляді дипольного іона, що забезпечує йому можливість зв'язку з пірватом. Атом Гідрогену, зв'язаний з тіазолом, легко приєднується до карбонільної групи пірвату. Пірватдегідрогеназний компонент комплексу може перебувати в *неактивній фосфорильованій формі* й *активній нефосфорильованій формі*. Фосфорилування ферменту каталізує пірватдегідрокіназа, а дефосфорилування — пірватдегідрозфатаза, тобто останні два ферменти безпосередньо участі у декарбоксілюванні не беруть, а регулюють активність пірватдегідрогеназного компоненту комплексу,

отже, й інтенсивність декарбоксілювання пірвату.

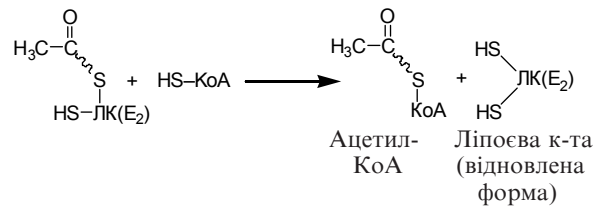


2. *Окиснення оксіетильної групи до ацетильної групи* і одночасний перенос *ацетильної групи* від ТПФ на окиснену форму ліпоєвої кислоти, що входить до складу ферменту дигідроліпоїлтрансациетилази:

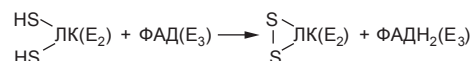


При цьому вивільняється ТПФ, а окиснена форма ліпоєвої кислоти перетворюється на відновлену форму. У результаті цієї реакції утворюється ацетилгідроліпоєва кислота. Каталізує окиснення оксіетильної групи й перенос ацетильної групи з ТПФ на ліпоєву кислоту пірватдегідрогеназний компонент.

3. *Перенос ацетильної групи з ацетилгідроліпоєвої кислоти на HS-KoA*. При цьому утворюється ацетил-КоА і відновлюється друга $-\text{SH}$ -група ліпоєвої кислоти з утворенням другого продукту реакції — дигідроліпоєвої кислоти. Каталізує цю реакцію дигідроліпоїлтрансациетилаза.



4. *Окиснення дигідроліпоєвої кислоти* (відновленої, сульфгідрильної форми ЛК) до ліпоєвої кислоти, її дисульфідної (окисненої) форми. При цьому атоми Гідрогену від дигідроліпоєвої кислоти переносяться на ФАД, що є коферментом ферменту дигідроліпоїлдегідрогенази.



5. *Окиснення ФАДН₂ до ФАД*. При цьому відбувається перенос Гідрогену від ФАДН на НАД⁺. Каталізує реакцію той самий фермент.



Біологічна роль окисного декарбоксілювання пірувату

1. НАДН+Н⁺, що утворився на 5-й стадії окиснення пірувату, окиснюється в ланцюзі дихальних ферментів. Це окиснення супроводжується синтезом 3 молекул АТФ.

2. Ацетил-КоА, що утворився на 3-й стадії окиснення пірувату, окиснюється в ЦТК до СО₂ і Н₂О з утворенням 12 молекул АТФ, а також може використовуватися на процеси біосинтезу. При обміні вуглеводів, жирів і білків за добу на 1 кг маси тіла людини утворюється приблизно 10 г ацетату. При середній масі людини 70 кг за добу утворюється близько 700 г оцтової кислоти.

За аналогічною схемою відбувається окисне декарбоксілювання одного з субстратів ЦТК α-кетоглутарової кислоти, але під впливом уже α-кетоглутаратдегідрогеназного комплексу.

Пентозофосфатний шлях обміну вуглеводів

Глюкозо-6-фосфату належить центральне місце у метаболізмі вуглеводів. Він же може бути використаний для синтезу глікогену шляхом перетворення на глюкозо-1-фосфат. Глюкозо-6-фосфат у печінці використовується для підтримки рівня глюкози у крові шляхом дефосфорилювання під впливом глюкозо-6-фосфатази. Він може брати участь у подальшому окисненні глюкози з вилученням акумульованої в ній енергії у тих випадках, коли глюкозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-6-фосфат, а останній — на фруктозо-1,6-бісфосфат. Подальше розщеплення вуглеводів відбувається гліколітичним шляхом з утворенням пірувату, що в аеробних умовах окиснюється до ацетил-КоА, а в анаеробних — до лактату.

Однак в аеробних умовах глюкозо-6-фосфат може піддаватися прямому окисненню до фосфопентоз, які в анаеробних умовах піддаються неокиснювальним перетворенням. Цей шлях прямого окиснення фосфорильованої глюкози до фосфопентоз і подальші неокиснювальні перетворення фосфопентоз дістав назву «пентозофосфатний (або апотомічний) шлях обміну вуглеводів». *Пентозофосфатний* — тому що утворюються фосфорні ефіри пентоз. *Апотомічний* (від грецьк. *apo* — від, *tope* — сікти) — тобто відбувається відсікання частин молекул вуглеводів.

Пентозофосфатний шлях складається з двох фаз:

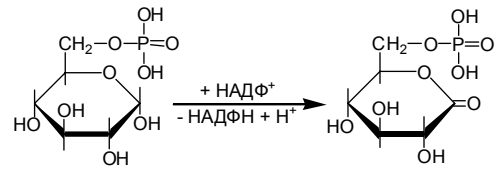
— *аеробна (або окисна) фаза*. У цій фазі глюкозо-6-фосфат піддається окисненню і декарбоксілюванню з утворенням фосфопентоз;

— *анаеробна фаза* (або фаза неокисних перетворень пентозофосфатів).

Аеробна фаза

Вона перебігає у кілька реакцій:

1. *Окиснення* шляхом дегідратування глюкозо-6-фосфату і перетворення його на 6-фосфоглюколактон:

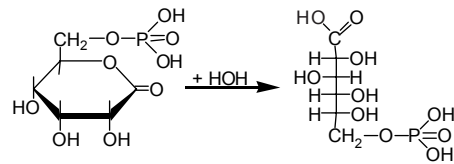


Глюкозо-6-фосфат

6-Фосфоглюколактон

Каталізує цю реакцію глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, коферментом якої є НАДФ⁺ (останній після окиснення глюкозо-6-фосфату відновлюється до НАДФН+Н⁺).

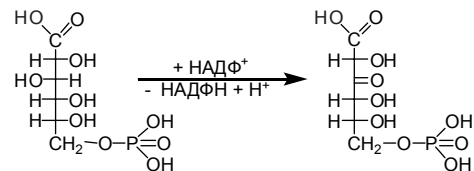
2. *Гідратація 6-фосфоглюколактону*. Ця сполука нестабільна, швидко приєднує до себе молекулу води, спонтанно або ферментативно за участю глюконолактонази перетворюється на 6-фосфоглюконову кислоту:



6-Фосфоглюколактон

6-Фосфоглюконова кислота

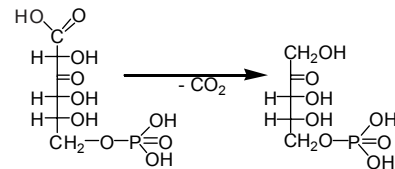
3. *Окиснення шляхом дегідратування 6-фосфоглюконової кислоти до 3-кето-6-фосфоглюконової кислоти*. Цю реакцію каталізує фосфоглюконатдегідрогеназа, кофермент її — НАДФ⁺. Останній у цій реакції відновлюється до НАДФН+Н⁺, тобто утворюється друга молекула НАДФН+Н⁺. Це найпотужніше джерело відновлених коферментів НАДФ⁺ у клітині:



6-Фосфоглюконова кислота

3-Кето-6-фосфоглюконова кислота

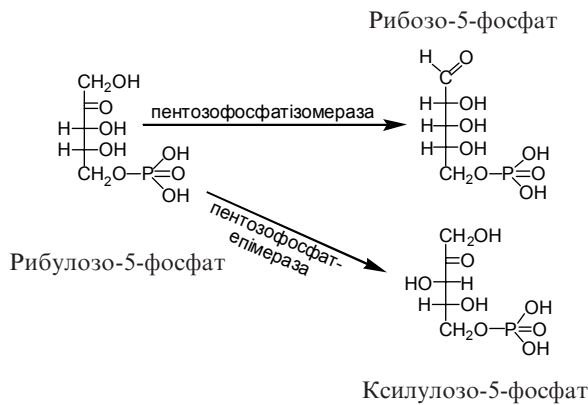
4. *Декарбоксілювання 3-кето-6-фосфоглюконової кислоти до рибулозо-5-фосфату*. Каталізує цю реакцію теж фосфоглюконатдегідрогеназа:



3-Кето-6-фосфоглюконова кислота

Рибулозо-5-фосфат

5. *Взаємоперетворення фосфопентоз*. Рибулозо-5-фосфат під впливом ферменту пентозофосфатізомерази може перетворюватися на рибозо-5-фосфат або під впливом ферменту пентозофосфатепімерази — на ксилулозо-5-фосфат.



На етапі взаємоперетворення фосфопентоз закінчується перша аеробна фаза пентозофосфатного шляху. Отже, ця фаза обміну вуглеводів забезпечує організм:

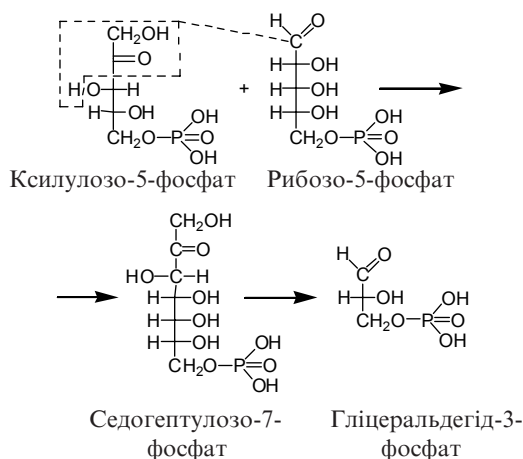
- відновленими коферментами НАДФН до 50 % від потреби;
- фосфопентозами, які становлять до 40 % від маси нуклеїнових кислот.

Анаеробна фаза

Залежно від умов обміну речовин пентозний шлях може завершитися на аеробній фазі. В інших умовах пентозний шлях обміну вуглеводів переходить у другу анаеробну (неокиснювальну) фазу.

У цій фазі можливі такі перетворення фосфорних ефірів моносахаридів:

1. *Перенос гліколевого альдегіду від ксилулозо-5-фосфату на рибозо-5-фосфат.* При цьому утворюються седогептулозо-7-фосфат і гліцераальдегід-3-фосфат. Каталізує реакцію транскетолаза, коферментом якої є ТПФ.

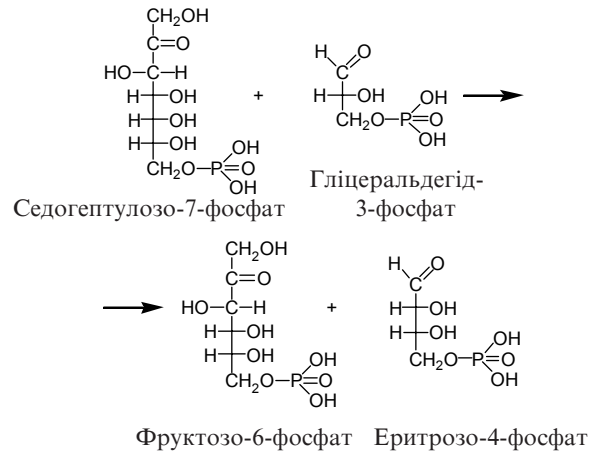


Гліцераальдегід-3-фосфат може:

- окиснюватися по шляху гліколізу до пірватату або лактату;
- перетворюватися на діоксіацетонфосфат і залучатися до синтезу ліпідів;
- взаємодіяти з седогептулозо-7-фосфатом.

2. *Перенос триуглецевого фрагмента (частинки з трьох атомів Карбону за структурою, подібною до діоксіацетонфосфату) від седогептуло-*

зо-7-фосфату на гліцераальдегід-3-фосфат. У результаті цього утворюється фруктозо-6-фосфат і еритрозо-4-фосфат. Каталізує реакцію ферменту трансальдолаза.



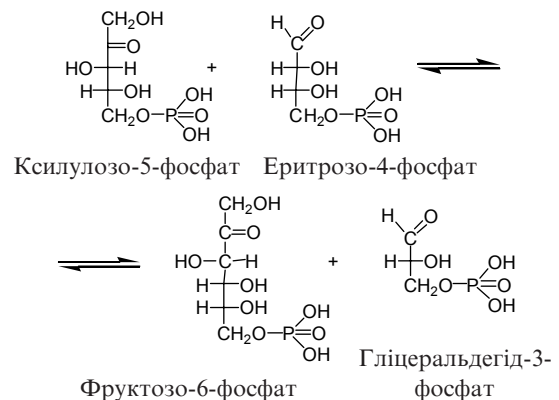
Фруктозо-6-фосфат може окиснюватися шляхом гліколізу або ж перетворюватися на глюкозо-6-фосфат (під дією ферменту гексозофосфатізомерази), який:

- окиснюється в 6-фосфоглюконову кислоту;
- використовується по шляху гліколізу;
- використовується на біосинтез глікогену;
- дефосфорилується до глюкози.

Отже, гліцераальдегід-3-фосфат і фруктозо-6-фосфат забезпечують взаємозв'язок гліколізу й пентозофосфатного шляхів обміну вуглеводів.

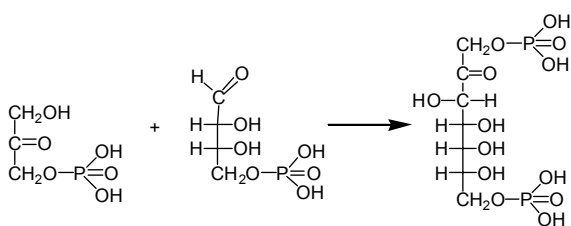
Утворений еритрозо-4-фосфат відіграє ключову роль у неокиснювальних реакціях пентозофосфатного шляху. Залежно від концентрації еритрозо-4-фосфату він може взаємодіяти з другою молекулою ксилулозо-5-фосфату або ж з діоксіацетонфосфатом.

3. *Перенос гліколевого альдегіду від ксилулозо-5-фосфату на еритрозо-4-фосфат* з утворенням фруктозо-6-фосфату й гліцераальдегід-3-фосфату. Каталізує реакцію транскетолаза.



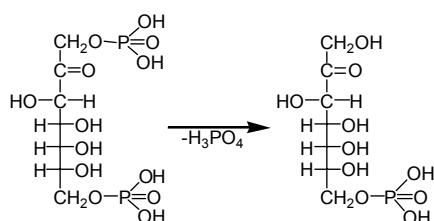
У цій реакції утворюються також два продукти гліколізу, що забезпечують взаємозв'язок гліколізу й пентозофосфатного шляху. Вони можуть піддаватися наведеним вище перетворенням.

4. *Взаємодія еритрозо-4-фосфату з діоксіацетонфосфатом.* Каталізує цю реакцію альдолаза. Утворюється седогептулозо-1,7-бісфосфат.



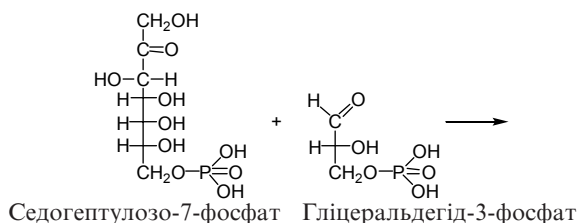
Діоксіацетон-фосфат Еритрозо-4-фосфат Седогептулозо-1,7-бісфосфат

5. *Седогептулозо-1,7-бісфосфат під впливом ферменту фосфатази дефосфорилується до седогептулозо-7-фосфату.*

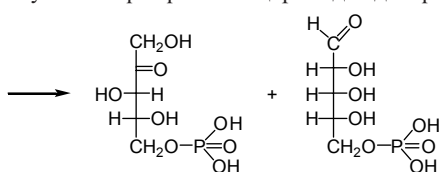


Седогептулозо-1,7-бісфосфат Седогептулозо-7-фосфат

6. Седогептулозо-7-фосфат може взаємодіяти з гліцеральдегід-3-фосфатом. При цьому утворюється ксилулозо-5-фосфат і рибозо-5-фосфат. Каталізує реакцію транскетолаза.



Седогептулозо-7-фосфат Гліцеральдегід-3-фосфат



Ксилулозо-5-фосфат Рибозо-5-фосфат

Отже, діоксіацетонфосфат є третьою сполукою, що забезпечує взаємозв'язок гліколізу і пентозофосфатного шляху. З таких продуктів гліколізу, як фруктозо-6-фосфат, гліцеральдегід-3-фосфат і діоксіацетонфосфат у пентозному шляху обміну вуглеводів можуть утворюватися фосфопентози, тобто основне значення анаеробної фази пентозофосфатного шляху — взаємоперетворення моносахаридів, у ході якого відбувається утворення фосфопентоз із проміжних продуктів гліколізу, або фосфопентози можуть використовуватися в реакціях гліколізу.

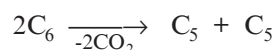
Обидва процеси — пентозний шлях і гліколіз — перебігають у цитоплазмі клітини і можуть

взаємоперемикатися. Важливим регулятором такого перемикання є еритрозо-4-фосфат. При високій концентрації його в клітині він пригнічує активність ферменту гексозофосфатізомерази, що загальмовує перетворення фруктозо-6-фосфату на глюкозо-6-фосфат, і тому фруктозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-1,6-бісфосфат, тобто використовується в гліколізі (активується гліколіз).

При низькій концентрації еритрозо-4-фосфату активується гексозофосфатізомераза, що приводить до посиленого перетворення фруктозо-6-фосфату на глюкозо-6-фосфат, який окиснюється по пентозному шляху, тобто при низьких концентраціях еритрозо-4-фосфату активується не гліколіз, а пентозний шлях обміну вуглеводів.

Оскільки всі неокиснювальні реакції пентозофосфатного шляху оборотні, а також з огляду на інтегруючу роль еритрозо-4-фосфату, цей процес можна представити в такий спосіб.

Окисні реакції:



Неокиснювальні реакції:

а) при нестачі еритрозо-4-фосфату:



Відбувається нагромадження пентозофосфатів із метаболітів гліколізу;

б) при надлишку еритрозо-4-фосфату:



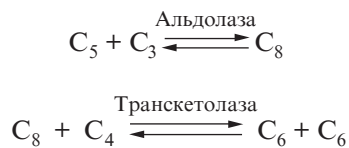
Відбувається залучення фосфопентоз, що утворилися при розпаді нуклеїнових кислот або нуклеотидів, в утворення метаболітів гліколізу.

Еритрозо-4-фосфат інгібує гексозофосфатізомераза, і фруктозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-1,6-бісфосфат, тобто метаболітний потік іде по шляху гліколізу.

Поряд із зазначеними реакціями, у пентозофосфатному шляху можуть перебігати такі реакції:

1. Рибозо-5-фосфат
 ↓ Епімераза
 Арабінозо-5-фосфат
2. Арабінозо-5-фосфат + Діоксіацетонфосфат
 ↓ Альдолаза
 Октулозо-1,8-бісфосфат
 ↓ Фосфатаза
 Октулозо-8-фосфат
3. Октулозо-8-фосфат + Еритрозо-8-фосфат
 ↓ Транскетолаза
 Фруктозо-6-фосфат + Глюкозо-6-фосфат

Схематично це можна виразити в такий спосіб:



Біологічна роль пентозофосфатного шляху обміну вуглеводів

1. Пентозофосфатний шлях забезпечує організм пентозами, необхідними для біосинтезу нуклеотидів (наприклад, АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ, НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, КоА та ін.). Фосфопентози необхідні також для біосинтезу нуклеїнових кислот — ДНК і РНК, де вони становлять близько 40 % молекулярної маси нуклеїнових кислот.

2. Пентозофосфатний шлях постачає відновлені форми НАДФ⁺ (НАДФН+Н⁺). Він задовольняє потреби організму в НАДФН+Н⁺ приблизно на 50 %. Відновлений НАДФ⁺ є донором Гідрогену для біосинтезу вищих жирних кислот, холестерину, пуринових основ та інших сполук, використовується в мітосомальному окисненні при знешкодженні лікарських засобів та отрут у печінці, у синтезі жовчних кислот, стероїдних гормонів, у знешкодженні аміаку шляхом відновного амінування. Про важливу роль його для біосинтезу вищих жирних кислот свідчить те, що у жировій тканині він становить приблизно 50 % від гліколізу (тобто 50 % глюкози витрачається не в гліколізі, а в пентозофосфатному шляху обміну вуглеводів), а в м'язовій тканині — всього 0,3 %. У печінці пентозофосфатний шлях становить 2,5–3 % від гліколізу, тобто приблизно в 10 разів більше, ніж у м'язах.

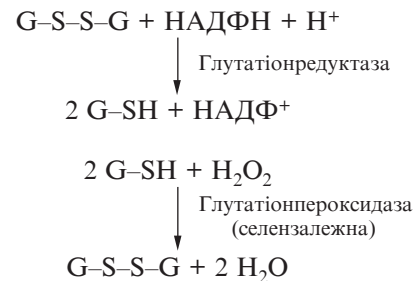
3. В анаеробній фазі пентозофосфатного шляху обміну вуглеводів утворюється фруктозо-6-фосфат, гліцеральдегід-3-фосфат і діоксіацетонфосфат, які забезпечують взаємозв'язок гліколізу й пентозофосфатного шляху обміну вуглеводів.

4. В окисній фазі пентозофосфатного шляху (яка активна у присутності кисню) відбувається синтез фосфопентоз і відновлених еквівалентів НАДФ⁺; у неокисній фазі (при зниженні вмісту кисню у тканині) утворення відновлених форм

НАДФ⁺ не відбувається (тобто гальмуються біосинтетичні процеси з участю НАДФ⁺), але, залежно від кількості еритрозо-4-фосфату, може відбуватися залучення метаболітів гліколізу до синтезу пентозофосфатів, або, мабуть, при дуже складних умовах, пентозофосфати використовуються для утворення метаболітів гліколізу і підтримки енергозабезпечення в анаеробних умовах.

Клінічні аспекти пентозофосфатного шляху

1. Пентозофосфатний шлях в еритроцитах постачає НАДФН для відновлення окисненого глутатіону, ця реакція каталізується *глутатіонредуктазою*. Відновлений глутатіон руйнує в еритроцитах Н₂О₂ за допомогою глутатіонпероксидази. Ця реакція має важливе значення, тому що нагромадження Н₂О₂ може скоротити час життя еритроцитів (шляхом підвищення швидкості окиснення гемоглобіну в метгемоглобін).



2. Недостатність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази є причиною гемолітичної анемії за рахунок гемолізу еритроцитів.

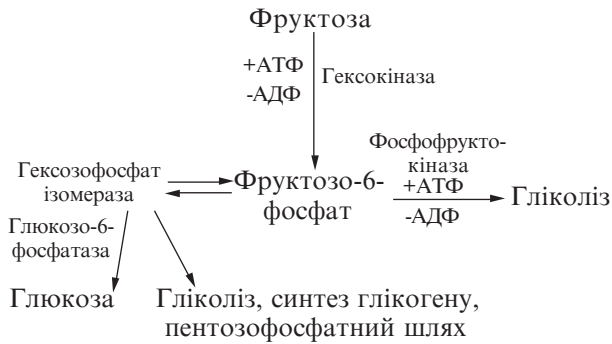
У деяких груп людей спостерігаються мутації, що спричинюють нестачу глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, внаслідок чого порушується утворення НАДФН₂, що призводить до гемолізу еритроцитів, особливо після прийому пацієнтами антималярійних препаратів, аспірину, сульфаніламідів. Такі ж порушення виникають у пацієнтів при споживанні бобів *Vicia faba* — фавізм (захворювання, на яке страждають мільйони людей у країнах Африки й Азії).

Метаболізм фруктози

На частку фруктози припадає значна кількість вуглеводів, що надходять з їжею (за добу — близько 100 г). Джерелами фруктози в їжі є фрукти, мед і дисахарид сахароза, що у тонкому кишечнику перетворюється на глюкозу і фруктозу. Фруктоза після глюкози є найбільшим джерелом вуглеводів, вона може включатися в гліколіз.

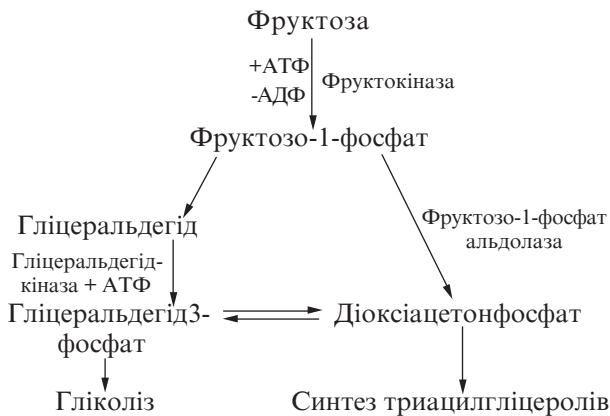
У жировій тканині фруктоза під дією гексокінази і за участю АТФ перетворюється на фруктозо-6-фосфат, який під впливом фосфофруктокінази і ще однієї молекули АТФ перетворюється на фруктозо-1,6-бісфосфат і далі по шляху гліколізу, або за участю гексозофосфатізомерази перетворюється на глюкозо-6-фосфат, що бере участь у гліколізі, синтезі глікогену, пентозофосфатному шляху або утворенні глюкози.

1-й шлях (у жировій тканині)



У печінці фруктоза перетворюється на фруктозо-1-фосфат за допомогою фруктокінази. Фруктозо-1-фосфат використовується в гліколізі таким чином: розщеплюється альдолазою на гліцеральдегід і діоксіацетонфосфат; гліцеральдегід може включитися в гліколіз після фосфорилювання з утворенням гліцеральдегід-3-фосфату. Ця реакція каталізується іншим ферментом печінки — гліцеральдегідкіназою. Дві тріози — діоксіацетонфосфат і гліцеральдегід-3-фосфат — можуть використовуватися в гліколітичному шляху чи конденсуватися під дією альдолази з наступним перетворенням на глюкозу.

2-й шлях (у печінці)



Зі спадковою недостатністю фруктозо-1-фосфатальдолази (альдолаза В) у печінці та нирках пов'язана вроджена непереносність фруктози. У цьому випадку, при наявності фруктози в їжі, у тканинах нагромаджується фруктозо-1-фосфат, що інгібує альдолазу фруктозо-1,6-бісфосфату (альдолаза А), яка міститься в більшості тканин. У результаті порушується розпад і синтез глюкози. Крім того, фруктозо-1-фосфат інгібує фосфорилазу глікогену. Ці причини призводять до появи *гіпоглікемії після прийому їжі, що містить фруктозу*. Хвороба звичайно виявляється після переходу з грудного вигодовування на їжу, що містить сахарозу, і виявляється нападами блювання і судом після їжі. При усуненні фруктози з раціону діти розвиваються нормально. Відомо також спадкове порушення обміну — *фруктоземія*, спричинена нестачею *фруктокінази*. Фруктоза, що надходить в організм, не піддається ніяким змінам, виявляється в крові й виводиться з

сечею. Інших симптомів при фруктоземії не спостерігається.

У людини значна кількість фруктози утворюється при розщепленні сахарози. У клітинах кишечника вона перетворюється на глюкозу, а потім глюкоза надходить у систему порталльної вени. Метаболізм фруктози в печінці гліколітичним шляхом відбувається набагато швидше, ніж метаболізм глюкози. Це пояснюється тим, що фруктоза минає стадію, характерну для метаболізму глюкози, яка каталізується фосфотруктокіназою. На цій стадії здійснюється метаболічний контроль швидкості катаболізму глюкози. Це дозволяє фруктозі інтенсифікувати в печінці процеси метаболізму, що ведуть до синтезу жирних кислот, їхню етерифікацію і секрецію ЛПДНЩ.

Метаболізм сорбітолу

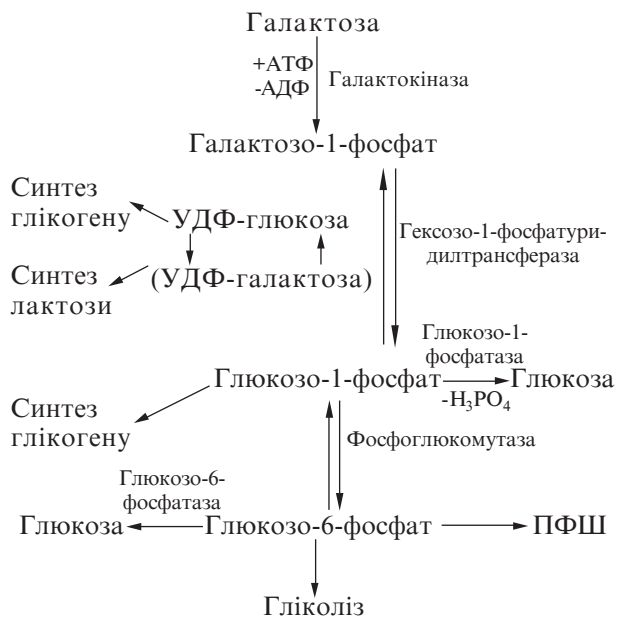
Глюкоза відновлюється НАДФН до сорбітолу в результаті реакції, що каталізується альдозоредуктазою, потім сорбітол окиснюється до фруктози в присутності НАД⁺ і сорбітолдегідрогенази. Присутність сорбітолдегідрогенази в печінці, у тому числі й у печінці плода, забезпечує перетворення сорбітолу на фруктозу.

При інтравенозному введенні сорбітол перетворюється переважно на фруктозу, а не на глюкозу. При пероральному введенні всмоктування його в кишечнику незначне, він ферментується бактеріями товстого кишечника з утворенням ацетату і Н₂. У кристалику ока виявлені й фруктоза, і сорбітол. При діабеті концентрація їх збільшується — вони беруть участь у патогенезі діабетичної катаракти.

Метаболізм галактози

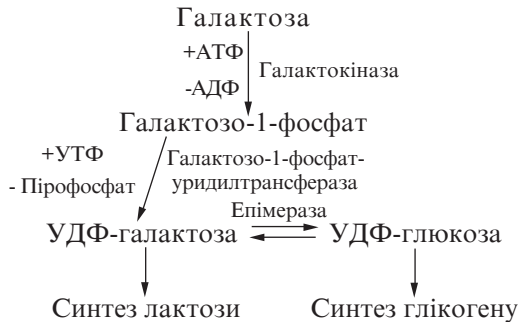
Галактоза утворюється при гідролізі в кишечнику дисахариду — лактози. Перетворення галактози на глюкозу може відбуватися двома шляхами.

1-й шлях



Спочатку галактоза перетворюється на галактозо-1-фосфат за участю АТФ і галактокінази. Надалі галактозо-1-фосфат вступає в реакцію з УДФ-глюкозою, яку каталізує гексозо-1-фосфатуридилтрансфераза. Внаслідок цієї реакції утворюється глюкозо-1-фосфат, який використовується для синтезу глікогену, утворення глюкози або перетворюється на глюкозо-6-фосфат, і УДФ-галактоза, яка бере участь у синтезі лактози, або під впливом епімерази перетворюється на УДФ-глюкозу, що знову взаємодіє з галактозо-1-фосфатом, або використовується для синтезу глікогену.

2-й шлях



Перший етап утворення галактозо-1-фосфату не відрізняється від попереднього шляху, а в подальшому галактозо-1-фосфат за участю УТФ і галактозо-1-фосфатуридилтрансферази перетворюється на УДФ-галактозу, яка використовується для синтезу лактози, або під впливом епімерази перетворюється на УДФ-глюкозу, яка бере участь у синтезі глікогену.

Відомо спадкове захворювання *галактоземія*, при якому спостерігається недостатність галактозо-1-фосфатуридилтрансферази. Хвороба виявляється з перших днів після народження — відмова від їжі, блювання, пронос. Характерним для галактоземії є розвиток помутніння кришталика (катаракта). Перехід на їжу, яка не містить галактози (штучне вигодовування), цілком усуває всі прояви хвороби.

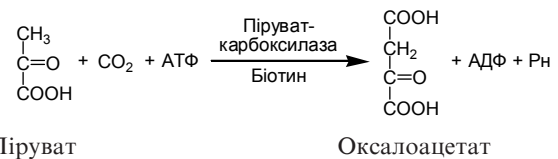
9.4. БІОСИНТЕЗ ГЛЮКОЗИ (ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ) І БІОСИНТЕЗ ГЛІКОГЕНУ. ГЕНЕТИЧНІ ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ГЛІКОГЕНУ

Глюконеогенез

Глюконеогенез — процес ресинтезу глюкози із продуктів неуглеводної природи. Такими продуктами є лактат, піруват, гліцерол, щавлево-оцтова, ацетооцтова, масляна кислоти, глікогенні амінокислоти — тобто джерелами глюкози можуть бути будь-які сполуки, що перетворюються в процесі катаболізму на піруват або один із проміжних продуктів ЦТК. У хребетних найінтенсивніше перебігає глюконеогенез у печінці й нирках. Цей процес дуже тісно пов'язаний із гліколізом: обое функціонують у цитоплазмі

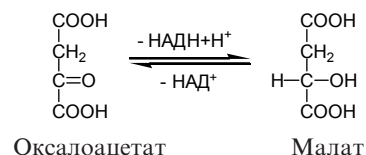
клітин, багато реакцій гліколізу оборотні, тому можуть брати участь у глюконеогенезі. Перешкодою для перебігу глюконеогенезу є необоротні (нерівноважні) реакції гліколізу: гексокіназна, фосфофруктокіназна, піруваткіназна, біологічна роль яких полягає в «проштовхуванні» метаболітів по шляху гліколізу.

Якщо для перших двох необоротних реакцій гліколізу — гексокіназної (глюкокіназної) і фосфофруктокіназної — існують «альтернативні» реакції глюконеогенезу: глюкозо-6-фосфатазна і фруктозо-1,6-бісфосфатазна, біологічна роль яких полягає у відсіканні фосфату від відповідного метаболіту, і механізм глюконеогенезу на цих ділянках відносно простий, то початковий етап глюконеогенезу, що є альтернативою піруваткіназній реакції, складний і неоднозначний. Складається він із кількох реакцій, що забезпечують перехід пірувату у фосфоенілпіруват. Піруват — один із центральних продуктів метаболізму в організмі людини. Він дуже тісно пов'язаний не тільки з вуглеводами, але й з амінокислотами і ліпідами. Так, гліцерол, окиснюючись через етапи гліцерофосфату, діоксиацетонфосфату, гліцеральдегідфосфату, перетворюється на піруват. Піруват, піддаючись окисному декарбоксілюванню, перетворюється на ацетил-КоА, що може окиснюватися в ЦТК, брати участь у синтезі ВЖК, холестеролу, стероїдних гормонів та ін. Нарешті, піруват може, карбоксилуючись, перетворюватися на оксалоацетат, і саме цю реакцію вважають початком глюконеогенезу. Вона перебігає в мітохондріях, тому піруват гліколітичного, амінокислотного, гліцеролового походження переходить із цитоплазми в мітохондрії. Тут піруват карбоксилується за участю АТФ під дією піруваткарбоксилази, у якої коферментом є біотин, а алостеричним активатором — ацетил-КоА, з утворенням оксалоацетату.

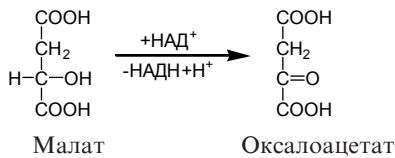


Оскільки ця реакція перебігає в мітохондріях, а мембрана мітохондрії непроникна для оксалоацетату і відношення НАДН/НАД⁺ велике, то оксалоацетат відновлюється за участю мітохондріальної НАД⁺-залежної малатдегідрогенази до малату, що вільно виходить із мітохондрії в цитоплазму, тут він окиснюється під дією цитоплазматичної НАД⁺-залежної малатдегідрогенази до оксалоацетату.

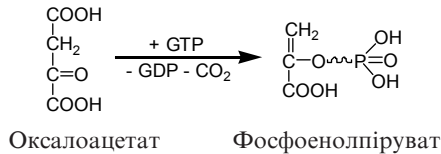
У мітохондріях:



У цитоплазмі:



Потім оксалоацетат під дією ферменту фосфоенолпіруваткарбоксікінази з використанням енергії ГТФ перетворюється на фосфоенолпіруват:



Далі фосфоенолпіруват через ряд оборотних реакцій гліколізу перетворюється на фруктозо-1,6-бісфосфат, що під дією фруктозо-1,6-бісфосфатази перетворюється на фруктозо-6-фосфат, потім — на глюкозо-6-фосфат, а останній за участю глюкозо-6-фосфатази перетворюється на глюкозу. Ферменти глюконеогенезу (ГНГ) активуються при гіпоксії, коли зменшується значення рН. З одного боку, зниження рН є сигналом нагромадження вихідних продуктів для ГНГ (лактату, пірувату, оксалоацетату та ін.), але, з іншого боку, початкові етапи ГНГ перебігають зі споживанням енергії у вигляді макроергічних зв'язків пуринових нуклеотидів, утворення яких в умовах гіпоксії знижене, тобто механізм адаптації за певних умов перетворюється на механізм поломки.

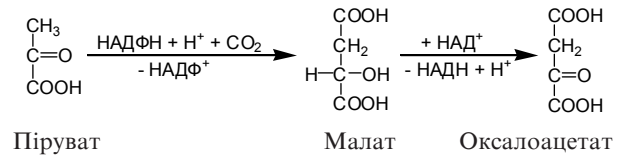
Тривалий час вважали, що ГНГ інтенсивно перебігає в печінці, у меншому ступені — в нирках і практично не функціонує в інших органах. Пояснювали це тим, що в цих органах відсутня піруваткарбоксілаза (як, наприклад, у м'язовій тканині). Тому лактат, що утворюється у м'язах гліколітичним шляхом, при інтенсивній роботі дифундує у кров, доставляється в печінку, де по шляху глюконеогенезу перетворюється на глюкозу, що виходить у кров, досягає м'язів і знову використовується ними як енергетичний субстрат. Цей цикл був названий циклом Корі. Однак деякі дослідники, працюючи на ізольованих м'язах, встановили, що лактат, який утворюється в м'язах при скороченні, згодом перетворюється на глюкозу без участі печінки, із чого було зроблено висновок, що в м'язовій тканині перебігає глюконеогенез, але його початкові реакції відрізняються від реакцій, що відбуваються у печінці, тобто минаючи піруваткарбоксілазну реакцію.

Було встановлено, що в м'язах високою є активність декарбоксілювальної НАДФ⁺-залежної малатдегідрогенази, яка каталізує взаємоперетворення пірувату і малату. При цьому малат, що утворюється в цитоплазмі під дією цитоплазматичної НАДФ⁺-залежної малатдегідрогенази, окиснюється до оксалоацетату, що за участю вже відомої фосфоенолпіруваткарбоксікінази і

ГТФ перетворюється на фосфоенолпіруват, подальші реакції перебігають, як описано вище.



Таким чином, виявилось, що в багатьох органах глюконеогенез відбувається, але по шляху, що відрізняється від глюконеогенезу в печінці. Із цих позицій можна зазначити, що деякі специфічні риси окремих органів і тканин лише підкреслюють загальні закономірності, властиві цілісному організму, з урахуванням структурно-метаболических особливостей тканин, що виконують різні функції.



Регуляція глюконеогенезу

Важливим регулятором глюконеогенезу є ацетил-КоА. Це позитивний алостеричний ефектор піруваткарбоксілази і негативний модулятор піруватдегідрогенази, тобто при його нагромадженні активується ГНГ. Другим регулятором ГНГ є аденіловий нуклеотидний пул. АМФ активує фосфоглюкокіназу й інгібує фруктозо-1,6-бісфосфатазу, тоді як АТФ чинить зворотню дію — при високому відношенні АТФ/АМФ активується глюконеогенез, а при низькому — гліколіз. Подібну до АМФ дію має фруктозо-2,6-бісфосфат, підвищення в клітині його концентрації сприяє посиленню гліколізу й ослабленню ГНГ. Якщо врахувати, що фруктозо-2,6-бісфосфат синтезується й руйнується тим самим біфункціональним ферментом, що має фосфокіназну й фосфатазну активність і регулюється шляхом цАМФ-залежного фосфорилування, стає зрозумілим швидкий механізм дії глюкагону, що посилює глюконеогенез. Гормон інсулін пригнічує глюконеогенез шляхом інгібування ферментів фосфоенолпіруваткарбоксікінази і глюкозо-6-фосфатази та посилює гліколіз шляхом активації нерівноважних реакцій гліколізу, ПДГ і ЦТК. Глюкокортикоїди активують глюконеогенез шляхом посилення синтезу ключових білків-ферментів ГНГ.

Отже, можна зробити висновок, що ГНГ залежить від енергозабезпечення клітини, активується високим вмістом АТФ, надлишком ацетил-КоА й оксалоацетатом, які не утилізуються в ЦТК, тобто висока енергозабезпеченість клітини дозволяє використовувати енергію для синтезу вуглеводів і їхнього депонування в клітині. Крім того, ГНГ дозволяє утилізувати багато сполук, які є токсичними, і з цих позицій виступає як процес адаптивний.

Метаболізм глікогену

Глікоген — тваринний полісахарид, що знаходиться в цитозолі клітини у вигляді мікроскопічних гранул і являє собою резервну форму глюкози. Необхідність перетворення глюкози на глікоген зумовлена тим, що нагромадження глюкози в клітинах могло б призвести до осмотичного шоку — руйнування клітинної мембрани. Крім того, глюкоза вільно залишає клітину, а для фіксації її необхідно фосфорилувати і далі використати або гліколітичним шляхом, або пентозофосфатним, або шляхом синтезу глікогену.

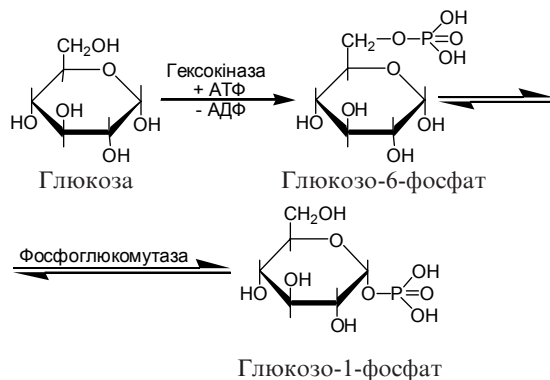
Глікоген утворюється практично в усіх клітинах організму, однак найбільша концентрація виявляється в печінці — від 2 до 6 % і в м'язах — від 0,5 до 2 %. Оскільки загальна маса м'язів велика, значна частина всього глікогену організму міститься в м'язах. Глікоген печінки використовується, головним чином, для підтримки фізіологічних концентрацій глюкози в крові, насамперед у проміжках між прийомами їжі, завдяки високій активності глюкозо-6-фосфатази. М'язовий глікоген є легкодоступним джерелом глюкози, а глюкозо-6-фосфатаза у м'язах практично відсутня, тому глікоген використовується в самому м'язі для «власного споживання».

Реакції біосинтезу і розпаду глікогену каталізуються ферментами, що структурно зв'язані з цитозольними гранулами полісахариду і забезпечують контроль швидкості його синтезу чи мобілізації, залежно від рівня глюкоземії та стану регуляторних систем організму.

Біосинтез глікогену (глікогенез)

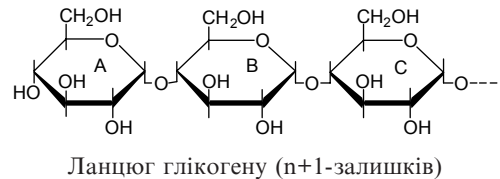
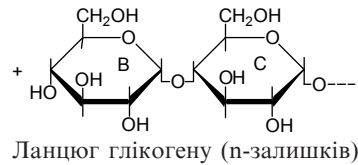
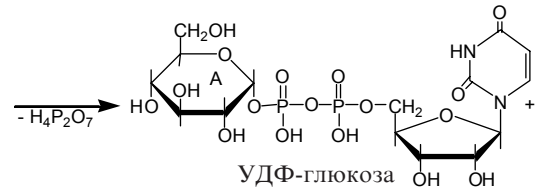
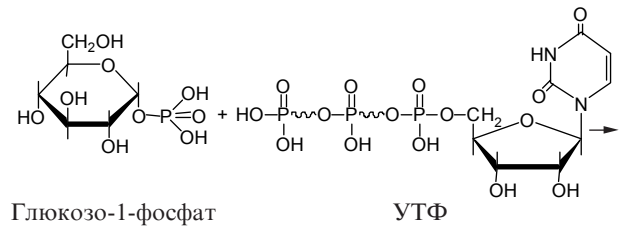
Усі біохімічні реакції утворення складних вуглеводів (полісахаридів, глікопротеїнів, протеогліканів) потребують наявності активних форм моносахаридів.

1. Метаболічно активною формою глюкози є УДФ-1-глюкоза (уридиндифосфатглюкоза), яка утворюється з глюкозо-1-фосфату і УТФ. Дана реакція каталізується ферментом *глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазою* (УДФ-пірофосфорилазою). Глюкозо-1-фосфат утворюється з глюкозо-6-фосфату під дією ферменту *фосфоглюкомутази*.



2. Формування нерозгалужених ланцюгів глікогену. На другій стадії утворення глікогену відбувається перенос залишку глюкози від УДФ-

глюкози на глікозидний ланцюг глікогену (за-
травочна кількість). При цьому утворюється α -1-4-глікозидний зв'язок між першим атомом Карбону залишку глюкози, що додається, і 4-ОН групи залишку глюкози ланцюга.



Каталізує наведені реакції фермент *глікогенсинтаза*.

3. Встановлено, що *глікогенсинтаза* не здатна каталізувати утворення α -1,6-зв'язків, які є в місцях розгалуження. Цей процес каталізує фермент розгалуження — *аміло-1,4 \rightarrow 1,6-трансглюкозидаза*: відбувається перенесення кінцевого фрагмента, що складається з 6 чи 7 залишків глюкози, від кінця лінійної ділянки на гідроксильну групу шостого атома Карбону (C₆) глюкози. Утворюється α -1,6-глікозидний зв'язок. Глікогенсинтаза може каталізувати приєднання глікозидних залишків, якщо тільки полісахаридний ланцюг уже містить більше чотирьох залишків глюкози. Таким чином, синтез глікогену потребує праймера. Цю функцію виконує глікогенін — білок, що має у своїй структурі олігосахариди з α -(1,4)-глікозидними зв'язками. Атом C₁ першого фрагмента глюкози цього ланцюга ковалентно приєднаний до ОН-групи тирозину, який входить до складу глікогеніну. Глікогенін автоталітично приєднує до восьми залишків глюкози. Від такого праймера розпочинається синтез глікогену. Необхідно відмітити, що глікогенсинтаза каталітично ефективна лише тоді, коли зв'язана з глікогеніном. Це має три важливих аспекти:

— кількість гранул глікогену визначається кількістю молекул глікогеніну;

— елонгація припиняється, коли глікогенсинтаза не контактує з глікогеном;

— взаємодія синтаза-глікогенін лімітується розміром гранул глікогену.

Мобілізація глікогену

Глюкоза, депонована у формі глікогену, вивільняється за участю глікогенфосфорилази у вигляді глюкозо-1-фосфату. Цей фермент каталізує фосфороліз кінцевих 1,4-глікозидних зв'язків глікогену до того моменту, поки на ланцюгах, що виходять із місця розгалуження (α -1,6-глікозидні зв'язки), не залишиться близько 4 залишків глюкози. Інший фермент α -1,6 \rightarrow 1,4-глюкантрансфераза переносить трисахаридний фрагмент з одного ланцюга на інший, α -1,6-ділянка розгалуження стає доступною для аміло- α -1,6-глюкозидази, яка гідролітично розщеплює α -1,6-глікозидні зв'язки, відщеплюючи глюкозу. Утворений глюкозо-1-фосфат за участю *фосфоглюкомутази* перетворюється на глюкозо-6-фосфат. Подальша доля глюкозо-6-фосфату в м'язах і печінці різна.

Голодування призводить до зникнення глікогену в печінці. Однак при ритмічному харчуванні кожна молекула глікогену може існувати довго: спочатку молекула глікогену зменшуються за рахунок розщеплення периферійних гілок, а після чергового прийому їжі знову виростають до попередніх розмірів. Аналогічні процеси відбуваються й у м'язовій тканині, але тут вони значною мірою визначаються режимом м'язової роботи.

Регуляція глікогенолізу і глікогенезу

Провідну роль у регуляції синтезу і розпаду глікогену відіграють *глікогенсинтаза* і *глікогенфосфорилаза*. Кожний із цих ферментів існує в двох формах, здатних до взаємоперетворення, які розрізняються активністю (рис. 9.5–9.6). Зміни активності відбуваються в результаті фосфорилування і дефосфорилування (ковалентна модифікація ферменту), а також алостеричного механізму регуляції активності ферменту.

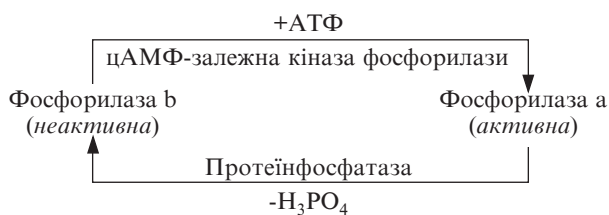


Рис. 9.5. Регуляція активності глікогенфосфорилази

Глікогенфосфорилаза і глікогенсинтаза регулюються реципрочно: активація глікогенфосфорилази (і фосфоролізу глікогену) відбувається в умовах інактивності глікогенсинтази (і синтезу глікогену).

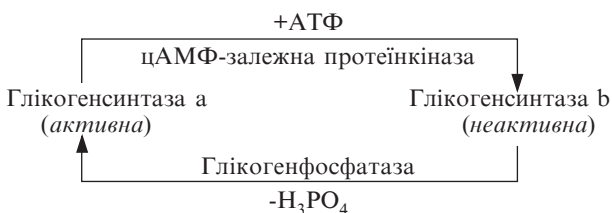


Рис. 9.6. Регуляція активності глікогенсинтази

Гормональна регуляція метаболізму глікогену

У м'язах адреналін стимулює глікогеноліз і гальмує глікогенез шляхом:

— активації глікогенфосфорилази за рахунок її цАМФ-залежного фосфорилування;

— інгібування глікогенсинтетази за рахунок її цАМФ-залежного фосфорилування;

— підвищення проникності мембран м'язових клітин для глюкози, яка використовується для синтезу глікогену;

— зменшення внутрішньоклітинного рівня цАМФ за рахунок активації її розщеплення фосфодіестеразою.

У печінці глюкагон стимулює глікогеноліз і гальмує глікогенез за механізмом, аналогічним дії адреналіну в клітинах м'язів.

Інсулін підвищує активність ферментативних реакцій синтезу глікогену.

Активація за участю цАМФ

Аденілатциклаза активується гормоном *адреналіном* за допомогою *β -адренергічних рецепторів*, локалізованих у клітинній мембрані м'язів. У печінці аденілатциклаза активується глюкагоном, що діє на глюкагонові рецептори. цАМФ утворюється з АТФ під дією аденілатциклази. Підвищення концентрації цАМФ активує *протеїнкіназу*. Ця кіназа каталізує фосфорилування *неактивної кінази фосфорилази*, що, у свою чергу, шляхом фосфорилування активує *фосфорилазу b*, яка переходить у *фосфорилазу a*. *Фосфорилаза b* перетворюється на *фосфорилазу a* за допомогою фосфорилування залишку серину кожної субодиниці. Ця ковалентна модифікація *фосфорилази b* каталізується *кіназою фосфорилази*.

Фосфорилаза a дезактивується за допомогою гідролізу фосфосеринового залишку кожної субодиниці під дією *протеїнофосфатази*.

М'язова *фосфорилаза b* активна тільки в присутності високих концентрацій АМФ, що діє алостерично, зв'язуючись з *фосфорилазою b* і змінюючи її конформацію; АТФ діє як негативний алостеричний ефектор, на відміну від АМФ.

Глюкозо-6-фосфат також інгібує *фосфорилазу b*, з'єднуючись із ділянкою зв'язування для АМФ на ферменті. При більшості фізіологічних умов *фосфорилаза* неактивна, тому що інгібується АТФ і глюкозо-6-фосфатом. *Фосфорилаза b* активна тільки тоді, коли енергетичний статус клітин низький.

Мобілізація глікогену — це кінцева ланка каскаду реакцій. Активація першого ферменту каскаду — аденілатциклази — спричинює посилення розпаду глікогену і водночас пригнічення його синтезу. Активація аденілатциклази в гепатоцитах відбувається за умов взаємодії з мембранними рецепторами гормону α -клітин підшлункової залози, глюкагону.

Активація іонами Ca^{2+} і синхронізація з м'язовим скороченням

У м'язах існує також механізм стимуляції глікогенолізу шляхом алостеричної активації *фосфорилази b* і *кінази фосфорилази* іонами Ca^{2+} .

М'язова кіназа фосфорилази складається з субодиниць чотирьох типів: α , β , γ і δ . Її структура — (α , β , γ , δ)₄. β -Субодиниця зв'язує чотири іони Ca^{2+} , вона ідентична Ca^{2+} -зв'язуючому білку *кальмодуліну*. Зв'язування іонів Ca^{2+} активує каталітичний центр γ -субодиниць кінази фосфорилази β , хоча молекула залишається дефосфорильованою. Цей процес має фізіологічне значення швидкого механізму забезпечення енергією м'язового скорочення, що включається в результаті вивільнення іонів Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулула після надходження нервового імпульсу.

Глікоgenoзи

Спадкові порушення метаболізму глікогену в тканинах. При глікоgenoзах виявляється повна або часткова відсутність одного або кількох ензимів, які беруть участь у розщепленні глікогену, що веде до нагромадження його в тканинах. За нормальних умов у людини основна частина глікогену в цитоплазмі піддається фосфоролізу, при цьому утворюється глюкозо-1-фосфат із подальшим перетворенням його на глюкозо-6-фосфат. У процесі фосфоролізу розпаду піддаються тільки лінійні ланцюги молекули глікогену, а не ділянки розгалуження. Далі глюкозо-6-фосфат розщеплюється по шляху гліколізу до лактату в багатьох органах або ж у печінці за участю глюкозо-6-фосфатази до вільної глюкози, що виходить у кров, і так підтримується оптимальний рівень глюкози. Ділянки розгалуження молекули глікогену піддаються гідролізу в присутності аміло-1,6-глікозидази.

Типи глікоgenoзів ілюструє табл. 9.1.

Глікоgenoз 1-го типу (хвороба Гірке). Зустрічається найчастіше. Успадковується за автосомно-рецесивним типом. Відсутність глюкозо-6-фосфатази перешкоджає гідролізу глюкозо-6-фосфату до вільної глюкози. Порушення синтезу глікогену не відбувається, і хронічна гіпоглікемія веде до розвитку реактивного гіперкортицизму, що супроводжується відкладенням значної кількості

білків і ліпідів у печінці. Нагромадження молочної кислоти інгібує виділення сечової кислоти нирковими канальцями, розвивається гіперурикемія. Значна гіпоглікемія може зумовити кетоацидоз. Характерною ознакою хвороби Гірке є гіпоглікемія натще, на яку не впливає навантаження адреналіном. Лікування дієтичне — часте введення глюкози або полісахаридів для підтримки рівня глюкози в крові.

Глікоgenoз 2-го типу (один із підтипів — хвороба Помпе). Захворювання успадковується за автосомно-рецесивним типом і становить 10% від загальної кількості глікоgenoзів. Зумовлений відсутністю α -1,4-глікозидази, яка перебуває в лізосомах гепатоцитів і міофібрил, що приводить до нагромадження глікогену, який має нормальну структуру. Розміри серця збільшені в 2–8 разів. Глікоген накопичується не тільки в міокарді, м'язах і печінці, але й у нейронах ЦНС, спинного мозку і вегетативних гангліїв, що може призвести до затримки нервово-психічного розвитку, м'язової гіпотонії. Лікування відсутнє. Прогноз поганий.

Глікоgenoз 3-го типу (хвороба Корі, лімітдекстриноз). Успадковується за автосомно-рецесивним типом. В основі лежить мутація гена, що виявляється клінічно в гомозиготів. У печінці й м'язах відсутня аміло-1,6-глікозидаза, відбувається нагромадження глікогену з аномальною структурою. Гістологічно виявляються великі набряклі фібрили з явищами вакуолізації. Гепатоцити вакуолізовані й виглядають пінистими. Навантаження адреналіном не викликає гіперглікемії, а проба з галактозою дає нормальну глікемічну криву. Діагноз ставиться шляхом визначення активності аміло-1,6-глікозидази в біоптаті печінки, еритроцитах і в культурі клітин амніотичної рідини. Лікування — часте годування з обмеженням жирів. Замість сахарози дають глюкозу з гідрокарбонатом. При відсутності стабілізації рівня цукру крові призначають цинк-глюкагон.

Глікоgenoз 4-го типу (хвороба Андерсена, амілопектиноз). Захворювання успадковується за

Таблиця 9.1

Типи глікоgenoзів

Тип	Порушені ферментні системи	Ушкоджені органи і тканини	Хвороба
0	Глікогенсинтаза	Печінка, м'язи	—
I	Глюкозо-6-фосфатаза	Печінка, нирки	Хвороба Гірке
II	Лізосомальні глікозидази (або α -1,4-глікозидаза)	Всі органи	Хвороба Помпе
III	Аміло-1,6-глікозидаза	Печінка, м'язи, міокард, лейкоцити	Хвороба Форбса або Корі
IV	Аміло(1,4-1,6)транsgлікозидаза	Печінка, м'язи, міокард	Хвороба Андерсена
V	Фосфорилаза м'язів	Скелетна мускулатура	Хвороба Мак-Ардла
VI	Фосфорилаза печінки	Печінка	Хвороба Херса
VII	Фосфоглюкомутаза	Печінка та (або) м'язи	Хвороба Томпсона
VIII	Фосфофруктокіназа	Скелетні м'язи	Хвороба Таруї
IX	Кіназа фосфорилази β	Еритроцити, печінка	Хвороба Хага
X	ЦАМФ-залежна протеїнкіназа	Печінка, м'язи	—

автосомно-рецесивним типом, супроводжується цирозом печінки, відкладанням амілопектину в печінці, м'язах, нирках, кишечнику, ЦНС і ретикуло-ендотеліальній системі. В основі лежить порушення синтезу глікогену — відсутня аміло-1,4-1,6-глікозилтрансфераза — розгалужуючий фермент, у результаті чого утворюється аномальний глікоген (амілопектин), що дає забарвлення як крохмаль. Лікування неефективне. Прогноз несприятливий.

Глікогеноз 5-го типу (хвороба Мак-Ардла). Прогресуюча міопатія, спричинена дефіцитом фосфорилази у м'язах. При роботі не збільшується вміст лактату в крові. Введення адреналіну збільшує вміст глюкози й лактату в крові.

Глікогеноз 6-го типу (хвороба Херса). Спричинений дефіцитом фосфорилази у печінці. Зрідка виявляється гіпоглікемія. Навантаження адреналіном приводить до підвищення рівня цукру в крові. Лікування таке ж, як при хворобі Корі, прогноз цілком сприятливий.

Глікогеноз 7-го типу (хвороба Томпсона). Характеризується дефіцитом фосфоглюкомутазу в печінці та м'язах.

Глікогеноз 8-го типу (хвороба Таруї). Характеризується дефіцитом фосфофруктокінази, супроводжується тяжким ураженням ЦНС.

Глікогеноз 9-го типу (хвороба Хага). Існують дві форми цього глікогенозу: одна успадковується за рецесивним типом і пов'язана з X-хромосою, друга — за автосомно-рецесивним типом. В основі лежить недостатність кінази фосфорилази печінки.

Глікогеноз 10-го типу. Характеризується дефіцитом цАМФ-залежної протеїнкінази.

Для всіх глікогенозів характерна гепатомегалія, порушення функції печінки. Діагностика полягає в такому: 1) визначення вмісту глюкози і лактату в крові; 2) навантаження адреналіном; 3) біопсія тканин; 4) визначення структури глікогену і його розташування в клітині; 5) ензиматичні показники.

Аглікогеноз (глікогеноз 0) характеризується дефіцитом глікогенсинтази, низьким вмістом

глікогену в печінці, гіпоглікемією вранці. Лікування — часте споживання вуглеводів.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Аеробне й анаеробне окиснення глюкози, загальна характеристика процесів.
2. Анаеробне окиснення глюкози. Послідовність реакцій та ферменти гліколізу.
3. Аеробне окиснення глюкози. Етапи перетворення глюкози до CO_2 і H_2O .
4. Окиснювальне декарбоксілювання пірувату. Ферменти, коферменти та послідовність реакцій у мультиферментному комплексі.
5. Гліколітична оксидоредукція: субстратне фосфорилування й човникові механізми окиснення гліколітичного НАДН.
6. Порівняльна характеристика біоенергетики аеробного та анаеробного окиснення глюкози, ефект Пастера.
7. Фосфоролітичний шлях розщеплення глікогену в печінці та м'язах. Регуляція активності глікогенфосфорилази.
8. Біосинтез глікогену: ферментативні реакції, фізіологічне значення. Регуляція активності глікогенсинтази.
9. Механізми реципрокної регуляції глікогенолізу та глікогенезу за рахунок каскадного цАМФ-залежного фосфорилування ферментних білків.
10. Роль адреналіну, глюкагону й інсуліну в гормональній регуляції обміну глікогену в м'язах і печінці.
11. Генетичні порушення метаболізму глікогену (глікогенози, аглікогенози).
12. Глюконеогенез: субстрати, ферменти та фізіологічне значення процесу.
13. Глюкозо-лактатний (цикл Корі) та глюкозо-аланіновий цикли.
14. Пентозофосфатний шлях окиснення глюкози: схема процесу та біологічне значення.
15. Метаболічні шляхи перетворення фруктози та галактози; спадкові ензимопатії їх обміну.

Глава 10. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ І ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ

10.1. МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ: КАТАБОЛІЗМ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ, РЕГУЛЯЦІЯ ЛІПОЛІЗУ, МЕТАБОЛІЗМ КЕТОНОВИХ ТІЛ

Основні біологічні функції ліпідів

До ліпідів належать жири і жироподібні речовини рослинного й тваринного походження, які розчиняються у хлороформі, ефірі або інших органічних неполярних розчинниках.

Біологічна роль ліпідів

Ліпіди в організмі виконують такі основні функції (рис. 10.1):

1. **Енергетична функція.** При окисненні 1 г жиру утворюється 36–39 кДж енергії. За рахунок жирів харчового раціону організм на 25–35 % забезпечується енергією, необхідною людині на добу. Важливу роль в енергозабезпеченні організму відіграють триацилгліцероли (жирові депо підшкірної жирової клітковини, сальника, навколониркової клітковини). У формі глікогену

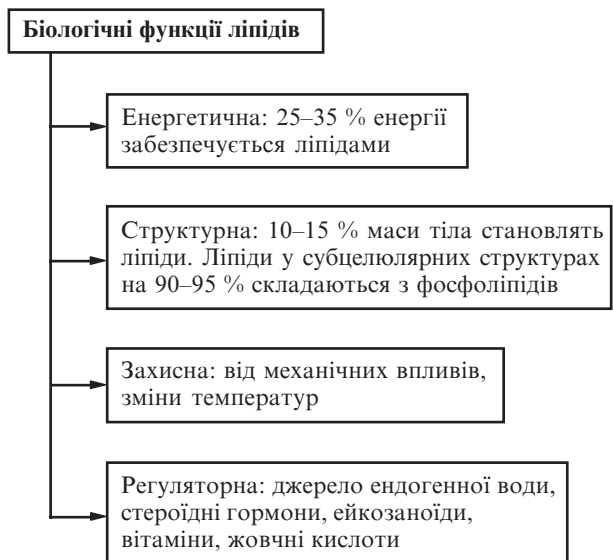


Рис. 10.1. Біологічні функції ліпідів

організм людини може запасти енергію не більше ніж на добу, а у формі триацилгліцеролів — на кілька місяців. Особливо важлива енергетична функція ліпідів у тварин, які впадають у зимову сплячку.

2. Структурна функція. Ліпіди є пластичним матеріалом організму. Приблизно 10–15 % маси тіла ссавців становлять ліпіди, головним чином, триацилгліцероли. У структуру клітин і тканин вони входять у комплекси з білками або вуглеводами, тобто у вигляді ліпопротеїнів і гліколіпідів.

Ліпіди, переважно складні, входять у значній кількості в субцелюлярні утворення клітин. Так, у ядрах печінки, серця та інших тканин вони становлять 15–16 % сухої маси, у мітохондріях — 25–30 %, причому ліпіди субцелюлярних структур на 90–95 % складаються з фосфоліпідів.

Ліпіди входять до складу клітинних мембран у вигляді ліпопротеїнів, значною мірою визначаючи їхню структуру та функцію.

3. Захисна функція. Жир підшкірної жирової клітковини, навколонирикової клітковини та інших органів виконує захисну функцію, охороняючи організм від механічних ушкоджень і переохолодження.

4. Регуляторна функція:

а) ліпіди беруть участь у регуляції кількості води в організмі — затримують втрати її через покривні тканини. Крім цього, у процесі окиснення ліпідів утворюється H_2O , тобто вони є одним із джерел ендогенної води в організмі;

б) ліпіди та продукти їхнього обміну утворюють велику групу біологічно активних речовин. До них належать:

- гормони кори надниркових залоз і статеві гормони;
- ейкозаноїди;
- вітаміни А і D;
- жовчні кислоти та ін.

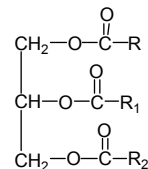
в) у ліпідах розчиняється група жиророзчинних вітамінів — А, D, Е, К, які зумовлюють регуляторний вплив на певні метаболічні процеси.

Класифікація ліпідів

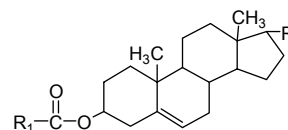
Класифікація ліпідів наводиться на рис. 10.2.

Прості ліпіди

Триацилгліцероли — складні ефіри гліцеролу та вищих жирних кислот (ВЖК) — насичених і ненасичених.



Стероїди — складні ефіри одноатомних циклічних спиртів стеринів і ВЖК.



Воски — складні ефіри вищих ациклічних (рідше циклічних) одно- або двохатомних спиртів і ВЖК.

Приклади: ланолін — ефір холестеролу і ВЖК; спермацет — ефір цетилового спирту ($C_{16}H_{33}OH$) і пальмітинової кислоти ($C_{15}H_{31}COOH$); бджолиний віск — ефір мірицилового спирту ($C_{31}H_{63}OH$) і пальмітинової кислоти.

Складні ліпіди

Окрім спирту і ВЖК, до їхнього складу входять азотисті сполуки, фосфорна, сульфатна кислота, вуглеводи.

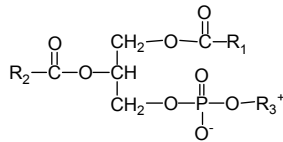
Фосфоліпіди (фосфатиди)

Склад: 1) гліцерол (триацилгліцероли) або сфінгозин (сфінголіпіди); 2) ВЖК; 3) фосфорна кислота; 4) азотвмісна сполука (серин — серинфосфатиди; етаноламін — етаноламінфосфатиди; холін — холінфосфатиди).

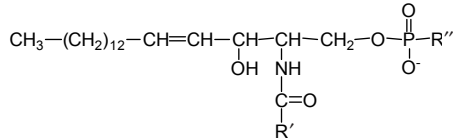


Рис. 10.2. Класифікація ліпідів

Загальна формула фосфогліцеридів:



Загальна формула сфінголіпідів:



Гліколіпіди. Склад: 1) сфінгозин; 2) ВЖК; 3) вуглеводний компонент — галактоза, глюкоза, галактозамін, глюкозамін, нейрамінова, сіалова кислота.

Цереброзиди (у мієліновій оболонці нервів) містять тільки один вуглеводний залишок, причому тільки глюкозу або галактозу.

Гангліозиди (у сірій речовині мозку) мають розгалужений вуглеводний ланцюг, що складається з кількох (аж до 7) залишків цукру, причому обов'язково — мінімум один залишок сіалової кислоти.

Метаболізм триацилгліцеролів

У кишечнику ліпіди піддаються перетравлюванню. У цьому процесі беруть участь жовчні кислоти, ліпаза, холестеролестераза, фосфоліпази. Після всмоктування продуктів повного розщеплення ліпідів або їх тонких емульсій вони потрапляють у лімфатичну систему і кров.

Основні шляхи використання ліпідів після всмоктування (рис. 10.3):

1) частина ліпідів, що всмокталися, піддається окисненню;

2) решта ліпідів, що всмокталися, використовується по шляху біосинтезу необхідних для організму ліпідів, причому здебільшого іде на біосинтез резервних ліпідів — підшкірної жирової клітковини, сальника.

При станах організму, що потребують підвищених витрат енергії, збільшується споживання триацилгліцеролів жирових депо. При цьому

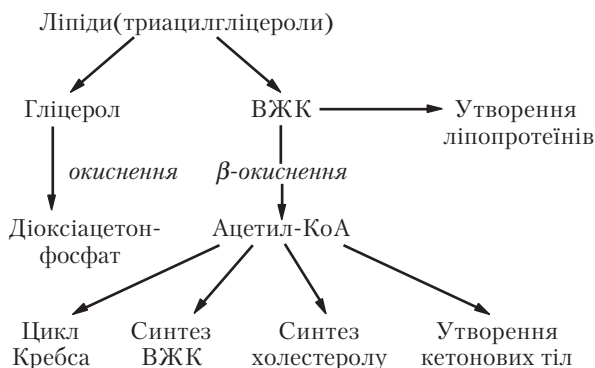


Рис. 10.3. Метаболізм триацилгліцеролів

вони піддаються гідролізу за допомогою тканинних ліпаз до гліцеролу і жирних кислот. Останні з жирових депо в комплексі з альбумінами плазми крові розносяться до різних органів і тканин, де комплекси розпадаються на альбуміни і ВЖК, що використовуються як енергетичний матеріал, тобто окиснюються.

У жировій тканині розрізняють кілька ліпаз:

— триацилгліцеролліпаза (гормончутлива ліпаза) — каталізує розщеплення триацилгліцеролів до діацилгліцеролу і 1 молекули ВЖК;

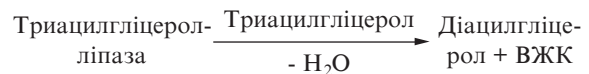
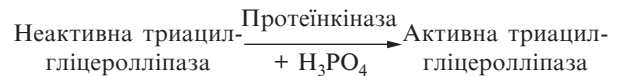
— діацилгліцеридліпаза — каталізує розщеплення діацилгліцеролів до моноацилгліцеролу і 1 молекули ВЖК;

— моноацилгліцеролліпаза — каталізує гідроліз моноацилгліцеролів до гліцеролу і 1 молекули ВЖК.

Триацилгліцеролліпаза активується гормонами адреналіном, норадреналіном, глюкагоном й ін. Ці гормони активують фермент аденілатциклазу, що каталізує утворення цАМФ із АТФ.



цАМФ активує перетворення неактивної протеїнкінази на активну протеїнкіназу:

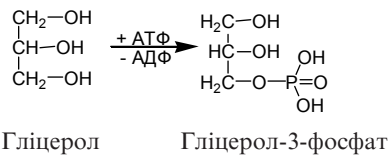


Активна протеїнкіназа фосфорилює триацилгліцеролліпазу, яка при цьому перетворюється з неактивної форми на активну, що гідролізує триацилгліцероли до діацилгліцеролу і ВЖК. Діацилгліцеролліпаза і моноацилгліцеролліпаза активніші в 10–100 разів, ніж триацилгліцеролліпаза, вони не є гормончутливими. Отже, лімітуючою ланкою у цьому процесі є триацилгліцеролліпаза.

Таким чином, гліцерол і ВЖК, що надійшли в організм із їжею або утворені після внутрішньоклітинного ліполізу, можуть піддаватися окисненню або використовуватися на біосинтез ліпідів. Крім цього, частина гліцеролу і жирних кислот утворюється в процесі метаболічного відновлення складних ліпідів, зокрема фосфоліпідів. Частина гліцеролу утворюється з вуглеводів через діоксацетонфосфат.

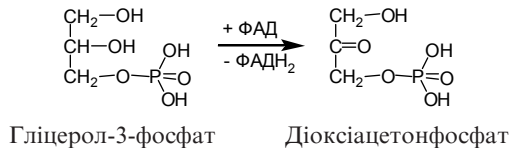
Окиснення гліцеролу

1. Перебігає в кілька етапів: фосфорилювання гліцеролу в цитозолі клітин до гліцерол-3-фосфату. Каталізує реакцію фермент гліцеролкіназа, донором фосфату є АТФ.



Гліцерофосфат, що утворився, проникає в мітохондрії.

2. Окиснення гліцерол-3-фосфату в мітохондріях клітини до діоксацетонфосфату. Каталізує реакцію гліцерофосфатдегідрогеназа, коферментом якої є ФАД:



Діоксацетонфосфат дифундує з мітохондрій у цитозоль.

3. Ізомеризація діоксацетонфосфату в цитозолі клітини в гліцеральдегід-3-фосфат і перетворення його гліколітичним шляхом на піруватну кислоту (піруват). Піруват піддається окисному декарбоксілюванню до ацетил-КоА, який окиснюється в циклі трикарбонних кислот до CO_2 і H_2O . Слід підкреслити, що подібний шлях окиснення поєднаний з переносом протонів із цитоплазми, де їхнє нагромадження призводить до ацидозу, у мітохондрії, де вони використовуються у тканинному диханні.

Біологічна роль процесу окиснення гліцеролу

1. У процесі окиснення гліцеролу вивільняється енергія, частина якої резервується в АТФ. При цьому в результаті окиснення ФАДН₂, що утворюється в мітохондріях у гліцерофосфатдегідрогеназній реакції, у ланцюзі дихальних ферментів синтезуються 2 молекули АТФ. На етапах окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до пірувату синтезується 5 молекул АТФ. Із них 3 молекули утворюються при окисненні в ланцюзі дихальних ферментів НАДН+Н⁺, отриманого в гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції, і по 1 молекулі АТФ при перетворенні 1,3-бісфосфогліцеролової кислоти на 3-фосфогліцеролову кислоту, а також фосфоенолпірувату на піруват. Окиснення НАДН (утворюється в піруватдегідрогеназній реакції) у ланцюзі дихальних ферментів дає 3 молекули АТФ, а окиснення ацетил-КоА в ЦТК — 12 молекул АТФ. Загалом при окисненні 1 молекули гліцеролу до CO_2 і H_2O синтезуються 22 молекули АТФ, із них одна витрачається в гліцеролкіназній реакції, тобто загальний баланс становить 21 молекулу АТФ.

2. Гліцерол-3-фосфат може використовуватися на біосинтез нейтральних жирів і фосфогліцеролів.

3. Утворені з гліцеролу діоксацетонфосфат і гліцеральдегід-3-фосфат можуть використовуватися на біосинтез вуглеводів (глюкози).

Окиснення жирних кислот

Для жирних кислот, що входять до складу ліпідів організму, а також надходять в організм з їжею, характерні кілька шляхів метаболізму:

1. Окиснення до CO_2 і H_2O з утворенням АТФ.

Вільні жирні кислоти спочатку окиснюються до ацетил-КоА, який далі окиснюється в ЦТК до CO_2 і H_2O . У ході цього окиснення вивільняється енергія, причому близько 40 % її акумулюється в АТФ. Жирні кислоти є основним субстратом для енергетичного обміну в печінці.

2. Утворення кетонів тіл. Надлишок ацетил-КоА, що утворився при окисненні жирних кислот і не використаний печінкою, перетворюється на кетонові тіла — ацетоацетат і β-гідроксибутират, які переносяться кров'ю в інші тканини, де використовуються для окиснення в ЦТК. Кетонові тіла можна розглядати як транспортну форму легкодоступних субстратів. Високодиференційовані тканини (міокард, мозок) поглинають ацетоацетат і гідроксибутират із крові, тому вони в крові практично не виявляються і не виводяться з сечею. Однак це відбувається тільки при високоефективному функціонуванні ЦТК. При різних патологічних процесах, що супроводжуються зниженням надходження кисню в тканини і порушенням функції циклу трикарбонних кислот, ацетоацетат накопичується в тканинах, декарбоксілюється до ацетону, вміст кетонів тіл у крові збільшується, вони потрапляють у сечу і розвивається кетонемія і кетонурія.

3. Біосинтез холестеролу і жирних кислот. Частина ацетил-КоА, що утворився з жирних кислот (й із глюкози) використовується на біосинтез холестеролу, з якого утворюються жовчні кислоти.

4. Біосинтез ліпопротеїнів плазми крові. Жирні кислоти використовуються в синтезі ліпідної частини ліпопротеїнів плазми крові. Ліпопротеїни функціонують як переносники ліпідів у жирову тканину, де вони нагромаджуються у вигляді триацилгліцеролів.

5. Утворення вільних жирних кислот плазми крові. Вільні жирні кислоти зв'язуються з сироватковим альбуміном і далі доставляються кров'ю в серце й скелетні м'язи; ці органи використовують жирні кислоти як основний енергетичний матеріал.

6. Частина жирних кислот використовується на біосинтез різних тканинних ліпідів.

Теорія біологічного окиснення жирних кислот була запропонована в 1904 р. німецьким біохіміком Францем Кноопом і дістала назву теорії β-окиснення, оскільки окиснення жирної кислоти і розрив її молекули відбувається у атома Карбону, що перебуває в β-положенні. Цей процес перебігає переважно в мітохондріях печінки, скелетних м'язів і серця. Причому у печінці жирні кислоти окиснюються переважно до ацетоацетил-КоА і ацетил-КоА, а в скелетних м'язах і серці — до CO_2 і H_2O . До 50 % жирних кислот крові поглинаються печінкою.

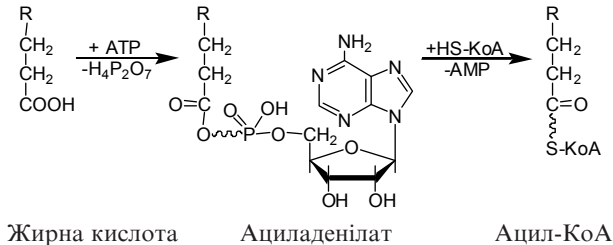
Етапи окиснення жирних кислот

I. Активация жирної кислоти

Цей етап перебігає у дві стадії:

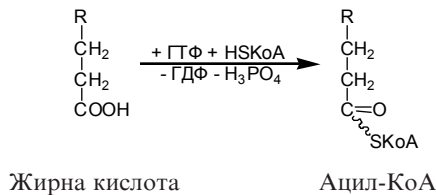
1) на першій стадії активації жирна кислота приєднує до себе аденолову кислоту, перетворюючись на ациладенілат. Донором енергії й АМФ є АТФ;

2) взаємодія ациладенілату з цитоплазматичним HS-CoA. При цьому ациладенілат перетворюється на ацил-CoA:



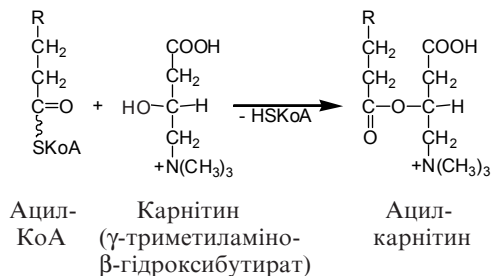
Утворення ацил-CoA (обидві реакції) каталізує фермент ацил-CoA-синтетаза, коферментом якого є HSKoA. Утворюється ацил-CoA на зовнішній поверхні мітохондрій, тому що ацил-CoA-синтетаза перебуває в зовнішній мембрані мітохондрій;

3) жирні кислоти, що утворюються в мітохондріях, активуються за участю не АТФ і HSKoA, а ГДФ і HSKoA. При цьому ГДФ розщеплюється до ГДФ і H₃PO₄.



II. Транспорт жирної кислоти з цитоплазми клітини в мітохондрії

Оскільки ацил-CoA утворюється на зовнішній поверхні мітохондрій, а окиснення жирних кислот відбувається в мітохондріях, ацил за допомогою переносника карнітину (карнітинний човник) переноситься з цитоплазми клітини в мітохондрії. Наявність переносника пов'язана з тим, що ані сам ацил (має кислі властивості, погано розчинний), ані ацил-CoA (великий розмір молекули) не можуть пройти через внутрішню мембрану мітохондрій.



Спочатку ацил-CoA взаємодіє з карнітином. При цьому утворюється ацилкарнітин і вивіль-

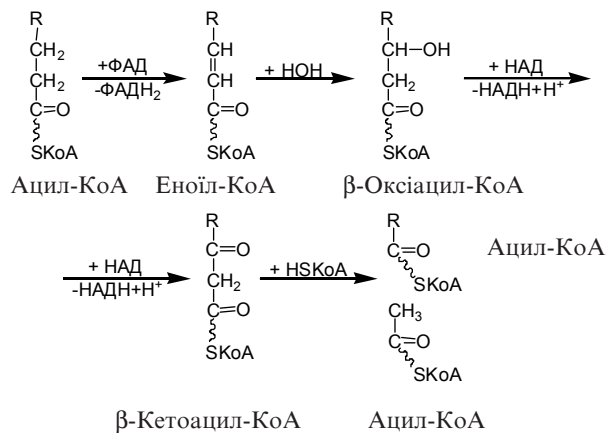
няється HSKoA. Каталізує утворення ацилкарнітину, тобто перенос ацилу від ацил-CoA на карнітин, цитоплазматична карнітинацилтрансфераза, локалізована на зовнішній поверхні внутрішньої мембрани мітохондрій (карнітинацилтрансфераза I). Ацилкарнітин, що утворився, має менш кислі властивості й краще розчинний, ніж ацил-CoA, проходить через внутрішню мембрану мітохондрій у матрикс, де під впливом мітохондріальної карнітинацилтрансферази за участю HSKoA відбувається перенос ацилу від ацилкарнітину на мітохондріальний HSKoA. Мітохондріальна карнітинацилтрансфераза перебуває на внутрішній поверхні внутрішньої мембрани мітохондрій. При цьому утворюється мітохондріальний ацил-CoA. Після цього карнітин повертається в цитоплазму клітини, а ацил-CoA піддається окисненню в мітохондріях.

III. β-Окиснення жирних кислот

1. Дегідрування ацил-CoA. При цьому ацил-CoA втрачає 2 атоми Гідрогену, перетворюючись на α,β-ненасичену форму ацил-CoA (еноіл-CoA). Каталізує реакцію фермент ацил-CoA-синтетаза, коферментом якого є ФАД (він і приймає атоми Гідрогену від ацил-CoA). Утворюється транс-ізомер ненасиченої жирної кислоти, а природні ненасичені жирні кислоти є цис-ізомерами.

2. Гідратація α,β-ненасиченої форми ацил-CoA (еноіл-CoA). У ході цієї реакції ненасичена форма ацил-CoA приєднує до себе молекулу води, перетворюючись на β-гідроксіацил-CoA. Каталізує дану реакцію фермент еноіл-CoA-гідратаза.

3. Дегідрування β-гідроксіацил-CoA. Каталізує дану реакцію фермент β-гідроксіацил-CoA-дегідрогеназа, коферментом якої є НАД⁺, він і приймає атоми Гідрогену від β-гідроксіацил-CoA.

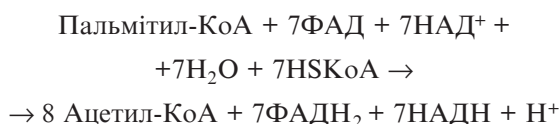


4. Тіолазна реакція. За аналогією з гідролізом цю реакцію називають тіолізом, оскільки β-кетоацил-CoA розщеплюється при його взаємодії з тіоловою групою CoA. У цій реакції взаємодіє β-кетоацил-CoA з HSKoA. У результаті цієї реакції β-кетоацил-CoA розщеплюється на ацил-CoA, що має на два атоми Карбону менше, ніж вихідний ацил-CoA, і ацетил-CoA. Реакція каталізується ферментом β-кетоацил-тіолазою (ацетил-

КоА-ацилтрансфераза). Утворений у результаті тіолазної реакції ацил-КоА знову багаторазово проходить шлях β-окиснення. В остаточному підсумку, наприклад, з пальмітинової кислоти утворюються 8 молекул ацетил-КоА, а із стеаринової — 9. Утворений у результаті β-окиснення жирних кислот ацетил-КоА окиснюється в ЦТК до CO₂ і H₂O.

Енергетичний баланс окиснення жирних кислот

Основна біологічна роль окиснення жирних кислот — забезпечення організму енергією. Сумарну реакцію β-окиснення пальмітил-КоА до ацетил-КоА можна записати так:



При окисненні 1 молекули ацетил-КоА в ЦТК можуть синтезуватися 12 молекул АТФ. При окисненні 1 молекули ФАДН₂ у ланцюзі дихальних ферментів синтезуються 2 молекули АТФ, а при окисненні НАДН — 3 молекули АТФ:

$$(8 \times 12 = 96) + (2 \times 7 = 14) + (3 \times 7 = 21) = 131$$

Отже, усього при окисненні 1 молекули пальмітинової кислоти утворюється 131 молекула АТФ. З урахуванням того, що 1 молекула АТФ витрачалася на утворення ациладенілату, енергетичний вихід становить 130 молекул АТФ на 1 молекулу окисненої до CO₂ і H₂O пальмітинової кислоти. У молекулах АТФ резервується близько 40 % енергії окиснення ВЖК, а решта 60 % енергії розсіюється у вигляді тепла. Для розрахунку енергетичної цінності окиснення жирних кислот, що мають різну довжину вуглеводневого ланцюга, необхідно виходити з такого: переважна більшість жирних кислот, що перебувають в організмі людини і вищих тварин, має парну кількість атомів Карбону і в процесі окиснення «ділиться» на фрагменти двох атомів Карбону без залишку. Кожний «підготовчий етап», що передє відриву ацетил-КоА від молекули жирної кислоти, дає 5 молекул АТФ (1 молекула ФАДН₂ і 1 молекула НАДН+Н⁺). Таких етапів у кожній жирній кислоті, що має у своєму складі C_n атомів Карбону, буде (C_{n/2} - 1), при цьому утвориться C_{n/2} молекул ацетил-КоА, окиснення кожної з яких у ЦТК дасть 12 молекул АТФ. Отже, енергетичний розрахунок окиснення насиченої жирної кислоти, що містить n атомів Карбону, матиме такий вигляд:

$$[(C_{n/2} - 1) \times 5] + (C_{n/2} \times 12) - 1.$$

Обмін ацетоацетату. Кетонів тіла

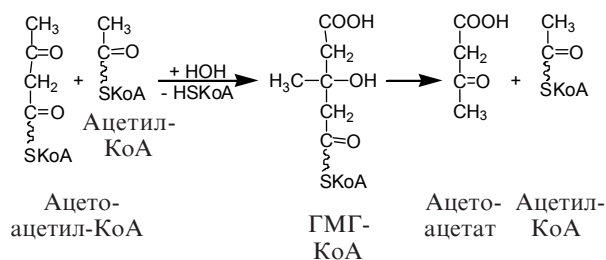
Ацетоацетат утворюється переважно в печінці, це може відбуватися двома шляхами

I шлях — із ацетоацетил-КоА і ацетил-КоА.

Розрізняють такі етапи цього шляху:

1. Утворення β-гідрокси-β-метил-глутарил-КоА (ГМГ-КоА) з ацетоацетил-КоА і ацетил-

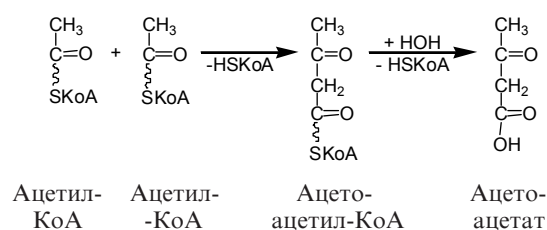
КоА. Каталізує реакцію фермент гідроксиметил-глутарил-КоА-синтаза (ГМГ-КоА-синтаза):



2. Розщеплення β-гідрокси-β-метил-глутарил-КоА на ацетоацетат і ацетил-КоА під впливом ферменту гідроксиметилглутарил-КоА-ліази (ГМГ-КоА-ліаза).

II шлях утворення ацетоацетату — шляхом конденсації двох молекул ацетил-КоА. Етапи цього шляху:

1. Конденсація двох молекул ацетил-КоА з утворенням ацетоацетил-КоА.



Ця реакція каталізується мітохондріальним ферментом ацетил-КоА — ацетилтрансферазою.

2. Відщеплення HSKoA від ацетоацетил-КоА і перетворення його на ацетоацетат. Каталізує реакцію фермент ацетоацетил-КоА-гідролаза (деацилаза).

Однак другий шлях утворення ацетоацетату в організмі не має істотного значення з таких причин:

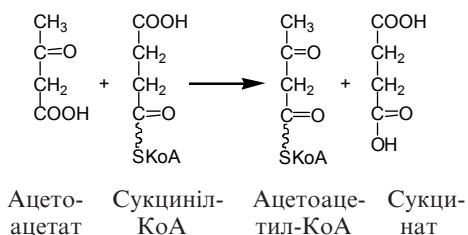
1) низька активність ферменту деацилази;

2) ацетоацетил-КоА швидко розщеплюється тіолазою до двох молекул ацетил-КоА. Ацетил-КоА, що утворився з 2 молекул ацетоацетил-КоА, може використовуватися для утворення ацетоацетату через β-гідрокси-β-метилглутарил-КоА. Ацетоацетат утворюється в печінці, де він мало використовується, а надходить у кров і транспортується до інших органів і тканин (серце, мозок, м'язи, нирки й ін.). У такій формі він більш стійкий до руйнуючого впливу ферментів, ніж у формі ацетоацетил-КоА.

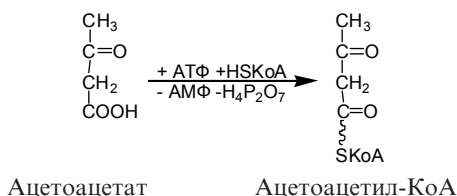
Ацетоацетат, що утворюється переважно першим шляхом, піддається в організмі таким змінам:

1. Перетворення на ацетоацетил-КоА — активну форму ацетоацетату, наступне розщеплення ацетоацетил-КоА на 2 молекули ацетил-КоА і їхнє окиснення в ЦТК до CO₂ і H₂O. При цьому ацетоацетат із крові надходить через плазматичні мембрани до клітин серця, мозку, м'язів, нирок та інших тканин. У цих клітинах він і перетворюється на ацетоацетил-КоА двома шляхами:

а) перенос HSKoA від сукциніл-КоА на ацетоацетат (основний шлях). Каталізує цей перенос фермент сукциніл-КоА-ацетоацетаттрансфераза.

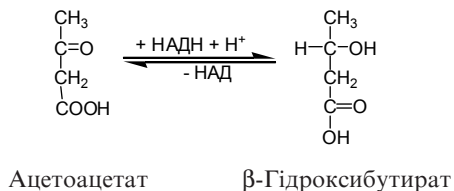


б) з використанням АТФ, HSKoA і ферменту ацил-КоА-синтетази:



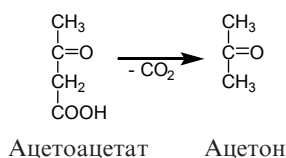
Ацетоацетил-КоА, що утворився, розщеплюється за участю тіолази на 2 молекули ацетил-КоА, що, як уже відомо, окиснюється в ЦТК до CO_2 і H_2O .

2. Перетворення ацетоацетату на β -гідроксибутират. Частина ацетоацетату ще в печінці піддається відновленню до β -гідроксибутирату під впливом НАД⁺-залежної β -гідроксибутират-дегідрогенази. Фермент пов'язаний із внутрішньою мембраною мітохондрій.



β -Гідроксибутират, як і ацетоацетат, надходить із печінки через кров в інші тканини, там перетворюється на ацетоацетат, ацетоацетил-КоА, ацетил-КоА, CO_2 і H_2O .

3. Перетворення ацетоацетату на ацетон. Деяка частина ацетоацетату декарбоксилюється, спонтанно або під впливом ферменту ацетоацетатдекарбоксилази, утворюючи ацетон.



Ацетон, що утворюється, очевидно, не має певного фізіологічного значення і є нераціональним шляхом використання ацетоацетату як можливого енергетичного матеріалу. Ацетоацетат, β -гідроксибутират і ацетон називаються *ацетоновими*, або *кетоновими тілами*. У нормі їх у крові міститься 0–516 мкмоль/л. Частина їх

(близько 20–50 мг на добу) виділяється з організму з сечею.

Уперше кетонові тіла були знайдені в сечі у хворих із цукровим діабетом. Оскільки їх було виявлено при патологічному стані, виникла думка, що вони є всього лише зайвими продуктами метаболізму і нагромаджуються в крові тільки у випадку патології. Однак в 30-ті рр. ХХ ст. було встановлено, що кетонові тіла можуть окиснюватися деякими тканинами (крім печінки); виникло припущення, що в цих тканинах вони є зручною формою утилізації жиру.

Встановлено, що ацетоацетат і β -гідроксибутират — це свого роду постачальники енергетичного матеріалу (палива) для скелетних м'язів, серцевого м'яза, мозку, нирок й інших тканин. Для печінки кетонові тіла не є енергетичним матеріалом. Серцевий м'яз і кірковий шар нирок переважно використовують із цією метою ацетоацетат, а не глюкозу. На протипагу цьому, глюкоза є головним паливом для мозку при збалансованому харчуванні, однак при голодуванні мозок використовує і ацетоацетат як енергетичний матеріал.

При патологічних станах, коли швидкість утворення кетонових тіл перевищує швидкість їхньої утилізації, розвивається *кетоз*. При цьому в крові різко зростає концентрація кетонових тіл (кетонемія), вони з'являються у сечі (кетонурія), у видихуваному повітрі відчувається запах ацетону. Ці три симптоми поєднуються під загальною назвою «кетоз». Наприклад, при голодуванні й цукровому діабеті значно знижується вміст глікогену в печінці, тому відбувається посилене надходження ВЖК із жирових депо в кров і печінку, а внаслідок цього — інтенсивне утворення ацетил-КоА. Оскільки в результаті інтенсивного окиснення ВЖК ацетил-КоА, що утворюється, не встигає окиснюватися в ЦТК, створюються умови для утворення з нього ацетоацетату, β -гідроксибутирату й ацетону. Ацетоацетат і β -гідроксибутират транспортуються кров'ю з печінки до периферичних тканин, які використовують кетонові тіла як енергетичний матеріал. Однак внаслідок незвичайно високої концентрації кетонових тіл у крові, що надходить, м'язи та інші органи не справляються з їхнім окисненням, через що виникає стан патологічного кетозу.

10.2. БІОСИНТЕЗ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРОЛІВ, ФОСФОЛІПІДІВ

Біосинтез триацилгліцеролів складається з трьох взаємозалежних процесів:

1. Утворення активної форми гліцеролу — гліцерол-3-фосфату.
2. Утворення активної форми вищої жирної кислоти — ацил-КоА.
3. Біосинтез триацилгліцеролу з активних форм гліцеролу і вищих жирних кислот.

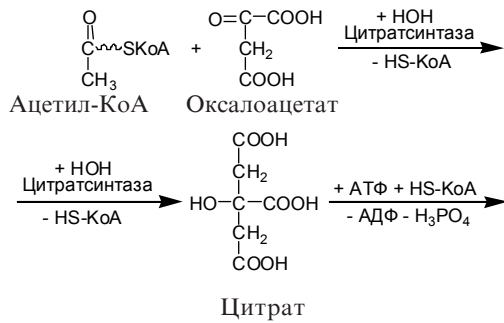
Біосинтез активної форми вищої жирної кислоти

Цей процес перебігає в кілька етапів:

I. Транспорт ацетилу з мітохондрій у цитоплазму клітини. Біосинтез жирних кислот відбувається в цитоплазмі клітин з ацетил-КоА. Ацетил-КоА утворюється в мітохондріях у результаті:

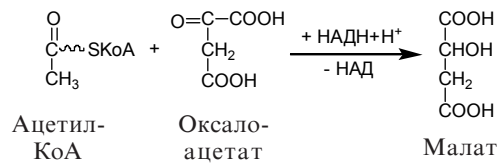
- окиснення жирних кислот;
- окисного декарбоксилювання пірувату;
- окиснення деяких амінокислот.

Мітохондріальна мембрана непроникна для ацетил-КоА, тому перенос ацетилу здійснюється в основному за допомогою цитрату. Каталізує реакцію цитратсинтаза:



Цитрат, що утворився, за допомогою переносника трикарбоксилатів проникає з мітохондрій у цитоплазму клітини, де під впливом ферменту АТФ-цитратліази за участю HSKoA й

АТФ розщеплюється на ацетил-КоА і оксалоацетат:



Оксалоацетат відновлюється до малату (яблучної кислоти) за участю цитоплазматичної малатдегідрогенази. Малат за допомогою переносника дикарбоксилатів переходить із цитоплазми в мітохондрії, де за участю мітохондріальної малатдегідрогенази окиснюється до оксалоацетату (рис. 10.4).

Крім цього, перенос ацетилу з мітохондрій у цитоплазму клітини може відбуватись і за участю карнітину (карнітиновий човник). Механізм цього процесу зворотний до транспорту ацилу з цитоплазми до мітохондрій, тобто карнітиновий човник працює в обидва боки.

II. Карбоксилювання ацетил-КоА до малоніл-КоА. У даній реакції ацетил-КоА і CO₂ взаємодіють за участю АТФ, H₂O і ферменту ацетил-КоА-карбоксилази з утворенням малоніл-КоА. Ацетил-КоА-карбоксилаза є складним ферментом, що містить, крім білка, небілкову частину (простетичну групу) біотин. Активаторами даного ферменту є цитрат й ізоцитрат. У неактивній формі фермент складається з протомерів, кожний з яких утворений із 4 субодиниць. Активація цит-

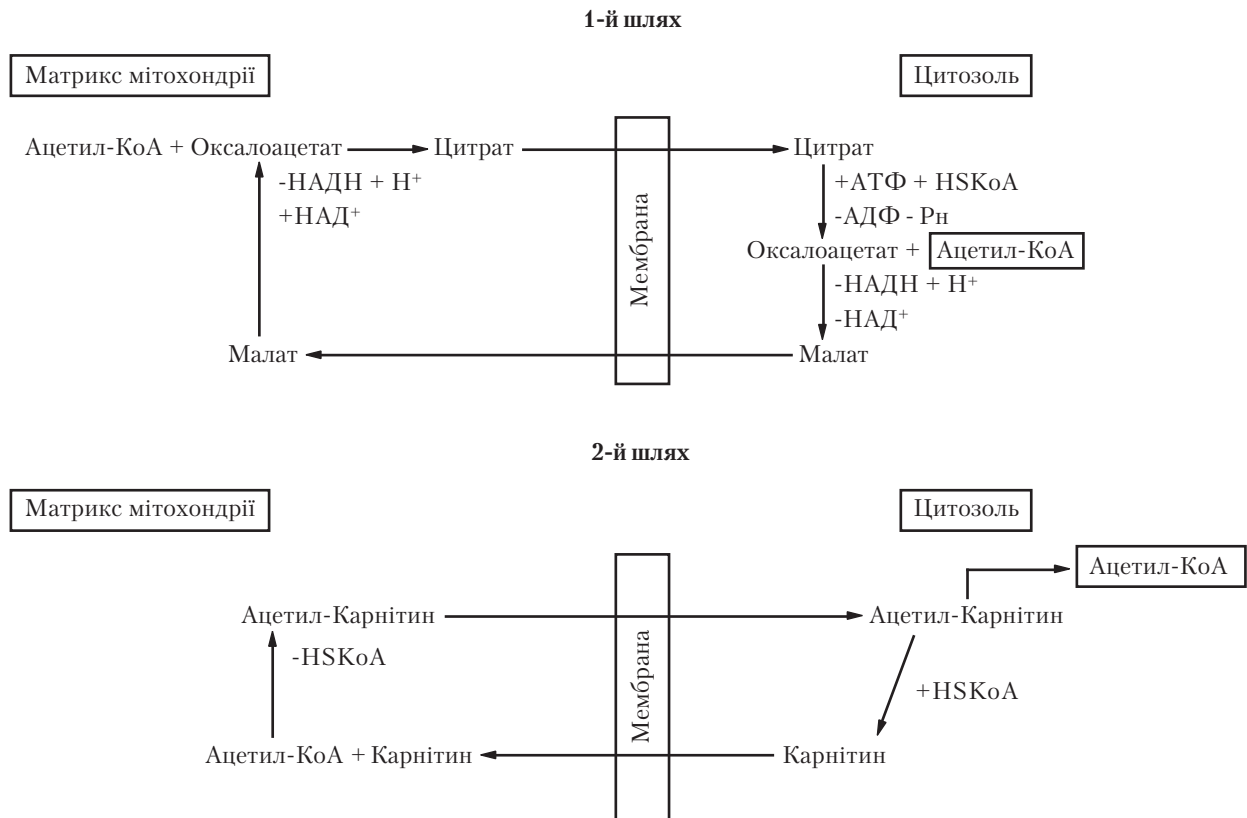
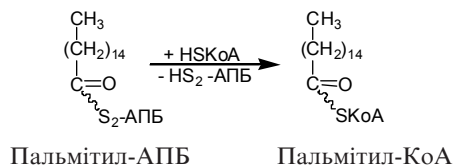


Рис. 10.4. Схема транспорту ацетил-КоА у цитоплазму

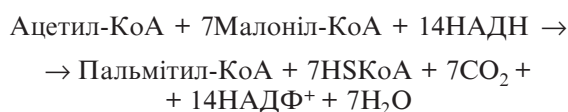
IX. Нарощування вуглецевого ланцюга вищої жирної кислоти.

На даному етапі бутирил перекидається на SH-групу цистеїну β-кетоацил-синтази, малоніл знову переноситься на HS-АПБ, і знову повторюються реакції конденсації, відновлення, дегідратації та відновлення.

X. Взаємодія ацил-АПБ (наприклад пальмітил-АПБ) з HSKoA з утворенням пальмітил-КоА.



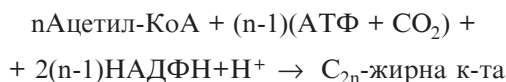
Сумарний процес синтезу пальмітил-КоА можна представити рівнянням:



Активна форма жирної кислоти, що утворилася, — ацил-КоА використовується на біосинтез триацилгліцеролів. Ацил-АПБ може піддаватися гідролізу на вільну жирну кислоту і HS-АПБ. Вільна жирна кислота за участю АТФ і HSKoA перетворюється на ацил-КоА. У процесі синтезу жирних кислот кетоформа і ненасичена

форма ацилів відновлюються за рахунок атомів Гідрогену НАДФН+Н⁺, що утворюються у реакціях пентозофосфатного шляху обміну вуглеводів (близько 50 %). Частина НАДФН+Н⁺ утворюється в ізоцитратдегідрогеназній реакції, декарбоксилуючій малатдегідрогеназній реакції (перетворення малату на піруват) й ін. Отже, це повторюється, доки не утвориться повний вуглецевий ланцюг вищої жирної кислоти — такою кислотою є пальмітинова. Подальша елонгація може відбуватися шляхом використання малоніл-КоА в ендоплазматичному ретикулумі. У мітохондріях подальший шлях синтезу вищих жирних кислот — нарощування вуглецевого ланцюга жирних кислот від 12 до 16 атомів Карбону — відбувається за рахунок не малоніл-КоА, а ацетил-КоА. Враховуючи кількість атомів Карбону в структурі жирної кислоти і залучення метаболітів для синтезу, можна підрахувати необхідну кількість молекул метаболітів, що використовуються для синтезу.

Сумарне рівняння реакції синтезу ВЖК



Синтез вищих жирних кислот схематично подано на рис. 10.5.

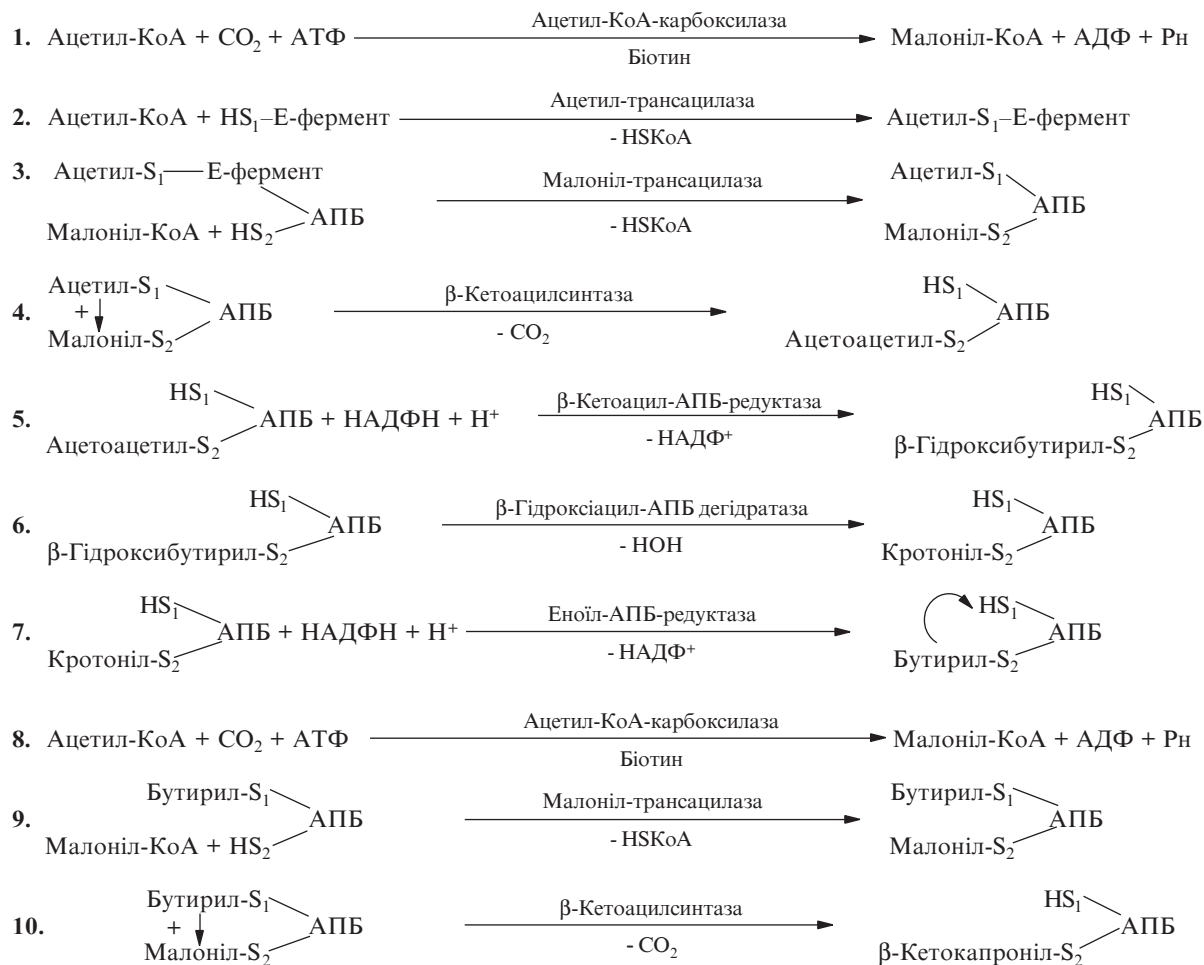


Рис. 10.5. Схема синтезу вищих жирних кислот

Синтез ненасичених вищих жирних кислот на початкових етапах відбувається аналогічно синтезу насичених вищих жирних кислот, і лише на заключному етапі насичена жирна кислота перетворюється на ненасичену (рис. 10.6).



Рис. 10.6. Схема синтезу ненасичених жирних кислот

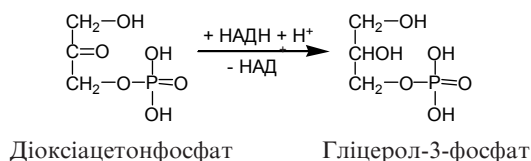
Ацетил-КоА-карбоксилаза є лімітуючим ферментом біосинтезу вищих жирних кислот, позитивним модулятором якого є цитрат. Нагромадження цитрату в мітохондріях відбувається внаслідок збільшення вмісту АТФ, який блокує ізоцитратдегідрогеназу, чим сприяє виходу цитрату з мітохондрій у цитоплазму і перетворенню останнього на оксалоацетат та ацетил-КоА, який у цитоплазмі використовується для біосинтетичних процесів (перш за все, синтезу вищих жирних кислот і холестеролу). Негативними модуляторами активності ацетил-КоА-карбоксилази є кінцеві продукти синтезу, тобто вищі жирні кислоти. Активність ацетил-КоА-карбоксилази знаходиться під гормональним контролем, оскільки інгібується шляхом фосфорилування за участю цАМФ-залежних протеїнкіназ, які, у свою чергу, активуються адреналіном, глюкагоном й інгібуються інсуліном. Крім того, синтез ферментного білка ацетил-КоА-карбоксилази збільшується при надмірному споживанні вуглеводів і зменшується при голодуванні або споживанні великої кількості ліпідів.

Утворення гліцерол-3-фосфату

Цей процес може відбуватися двома шляхами:

1) Відновлення діоксіацетонфосфату до гліцерол-3-фосфату.

Каталізує реакцію гліцерофосфатдегідрогеназа, коферментом якої є НАД⁺:

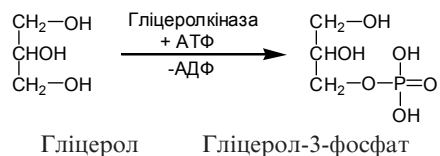


Цим шляхом гліцерол-3-фосфат активно синтезується в жировій тканині й печінці. У цьому

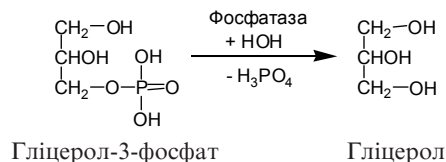
випадку гліцерол-3-фосфат утворюється з діоксіацетонфосфату — проміжного продукту гліколітичного розпаду глюкози. Так, при зниженні вмісту глюкози в жировій тканині (при голодуванні) утворюється незначна кількість гліцерол-3-фосфату, вивільнювані в ході ліполізу вільні жирні кислоти не можуть використовуватися на ресинтез триацилгліцеролів, тому вони залишають жирову тканину.

2) Фосфорилування гліцеролу до гліцерол-3-фосфату.

Гліцерол фосфорилується АТФ за участю ферменту гліцеролкінази.



При цьому фосфорилуванню може піддаватися гліцерол, що всмоктався після гідролізу ліпідів у кишечнику, і той гліцерол, що утворився в результаті ліполізу. Гліцерол-3-фосфат таким шляхом інтенсивно поповнюється в печінці. У жировій тканині основним шляхом утворення гліцерол-3-фосфату є відновлення діоксіацетонфосфату, тому що в цій тканині дуже слабка активність ферменту гліцеролкінази і висока — гліцерофосфатдегідрогенази. Тому основним шляхом синтезу гліцерол-3-фосфату є перший. Гліцерол-3-фосфат, що утворився, використовується для біосинтезу триацилгліцеролів і фосфоліпідів, однак частина його під впливом ферменту фосфатази гідролізується до гліцеролу і фосфорної кислоти:



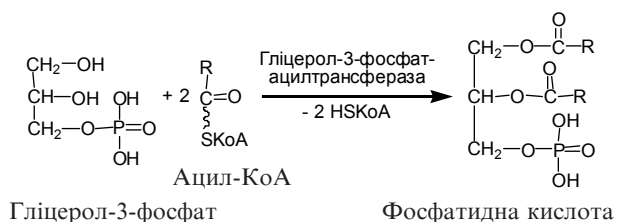
Біосинтез триацилгліцеролів

Біосинтез триацилгліцеролів перебігає в 3 етапи (рис. 10.7):

I етап — взаємодія гліцерол-3-фосфату з 2 молекулами ацил-КоА з утворенням фосфатидної кислоти. Каталізує реакцію фермент гліцерол-3-фосфатацилтрансфераза.

II етап — дефосфорилування фосфатидної кислоти до 1,2-діацилгліцеролу за участю ферменту фосфатацилтрансферази.

III етап — сполучення третьої молекули ацил-КоА з 1,2-діацилгліцеролом з утворенням триацилгліцеролу. Каталізує реакцію діацилгліцеролацилтрансфераза:



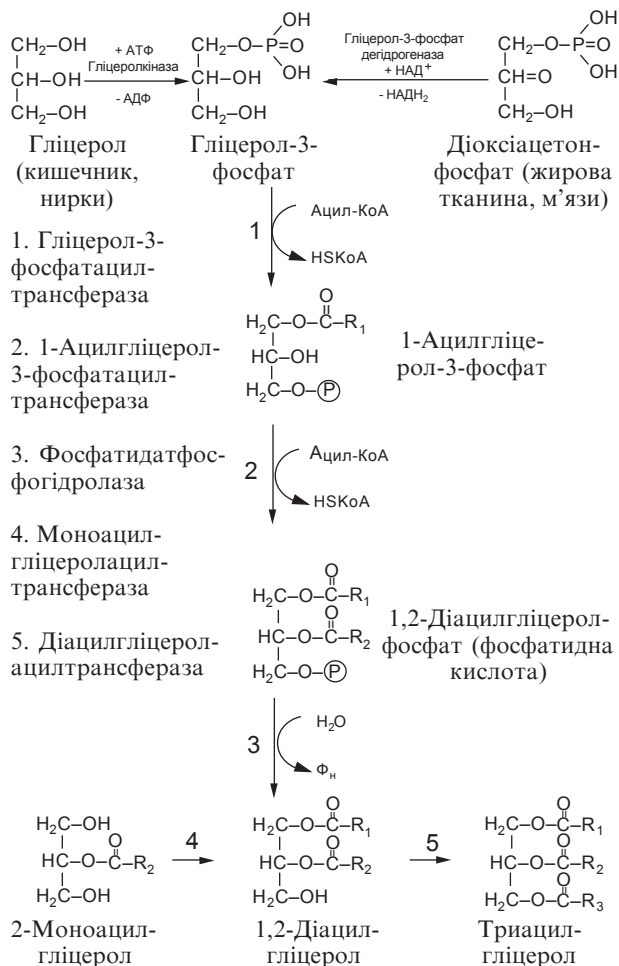
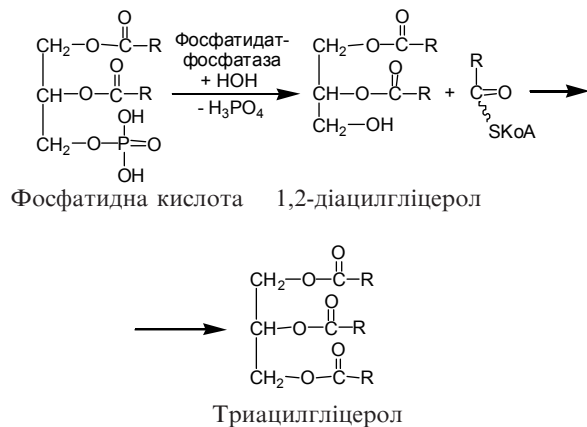


Рис. 10.7. Біосинтез триацилгліцеролів



Біосинтез фосфоліпідів

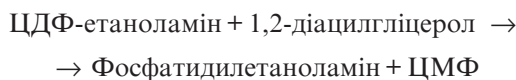
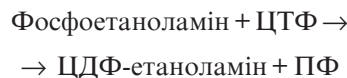
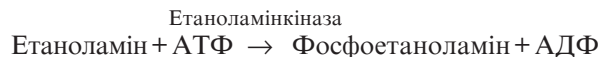
Фосфогліцериди — складні ліпіди, побудовані з гліцеролу, 2 залишків вищих жирних кислот (одна з яких насичена, друга — ненасичена), залишку фосфорної кислоти й азотовмісної сполуки (серину, етаноламіну, холіну). До утворення фосфатидної кислоти синтез фосфогліцеролів повторює етапи синтезу триацилгліцеролів, у подальшому відбувається активація холіну або етаноламіну шляхом його фосфорилювання за допомогою АТФ, взаємодія фосфохоліну або фосфо-

етаноламіну з ЦТФ, внаслідок чого утворюється ЦДФ-холін або ЦДФ-етаноламін. Наступний етап — взаємодія ЦДФ-холіну або ЦДФ-етаноламіну з 1,2-діацилгліцеролом і утворення фосфатидилхоліну або фосфатидилетаноламіну.

Фосфатидилхолін може утворюватися з фосфатидилетаноламіну шляхом метилювання за участю S-аденозилметіоніну. Фосфатидилсерин утворюється шляхом взаємодії серину з фосфатидилетаноламіном.

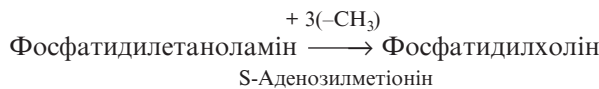
Етапи біосинтезу фосфоліпідів

а) біосинтез фосфатидилетаноламіну

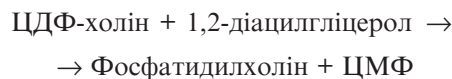
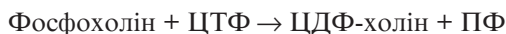
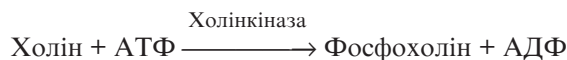


б) біосинтез фосфатидилхоліну

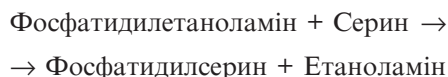
1-й шлях



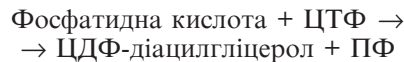
2-й шлях



в) біосинтез фосфатидилсерину



або



Метаболізм сфінголіпідів.

Генетичні аномалії обміну сфінголіпідів — сфінголіпідози

Внутрішньоклітинні ліпідози пов'язані з нагромадженням ліпідів усередині клітини. Прикладом є сфінголіпідози — захворювання, зумовлені порушенням обміну сфінголіпідів (цереброзидів, сфінгомелінів, гангліозидів та ін.). Сфінголіпіди є компонентами цитоплазматичної мембрани.

Характеристика внутрішньоклітинних ліпідозів

Хвороба	Дефектний фермент	Накопичувана сполука	Клінічні ознаки
Хвороба Німанна — Піка	Сфінгомеліназа	Сфінгомелінін	Збільшення печінки та селезінки, коричнева пігментація шкіри, розумова відсталість
Хвороба Тея — Сакса (GM ₂ -гангліозидоз)	Гексоамінідаза А	GM ₂ -гангліозид	Втрата набутих навичок, сліпотата, судоми, м'язова ригідність
Хвороба Гоше	Глюкоцереб्रोзидаза	Глюкозилцереброзид (β-глюкозидаза)	Гепатоспленомегалія, остеопороз, часті переломи, гіпохромна анемія, тромбоцитопенія, кровотечі, розумова відсталість

Дуже велика кількість їх міститься в головному мозку (особливо в мієломиїчних оболонках). Розщеплення сфінголіпідів відбувається за рахунок ферментів лізосом. Дефект того чи іншого ферменту призводить до нагромадження всередині клітин відповідного ліпиду, отже, до розвитку захворювання. Описано більше 15 типів сфінголіпідозів. Внутрішньоклітинні ліпідози, що зустрічаються найчастіше, — хвороба Німанна — Піка, Гоше і Тея — Сакса (табл. 10.1).

10.3. БІОСИНТЕЗ І БІОТРАНСФОРМАЦІЯ ХОЛЕСТЕРОЛУ. ЖОВЧНІ КИСЛОТИ. ПАТОЛОГІЇ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ: СТЕАТОРЕЯ, ОЖИРІННЯ, АТЕРОСКЛЕРОЗ

Біосинтез холестеролу

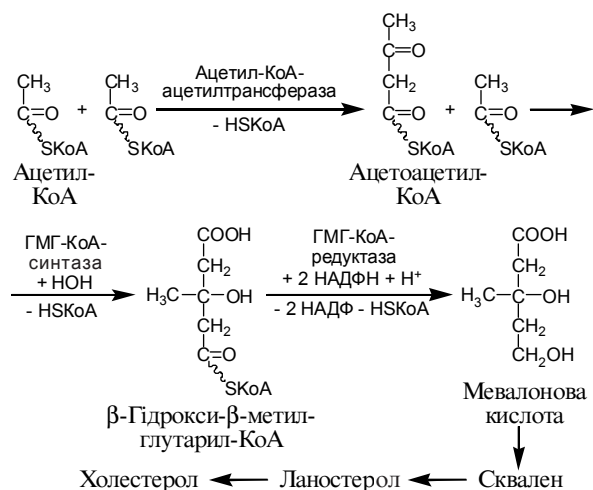
Функції холестеролу в організмі розглядалися раніше. Фонд холестеролу в організмі створюється за рахунок холестеролу їжі (близько 0,3 г за добу) і його синтезу в самому організмі (близько 1 г за добу). При харчуванні рослинною їжею, в якій холестеролу мало, головне значення має ендогенний синтез холестеролу. Вважають, що пул холестеролу в організмі досить стабільний, тому при зменшенні надходження екзогенного холестеролу зростає його ендогенний синтез, і навпаки.

Молекула холестеролу утворюється цілком з ацетильних груп ацетил-КоА. Спочатку утворюється β-гідрокси-β-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) (див. обмін ацетоацетату). Утворення ГМГ-КоА перебігає в три реакції:

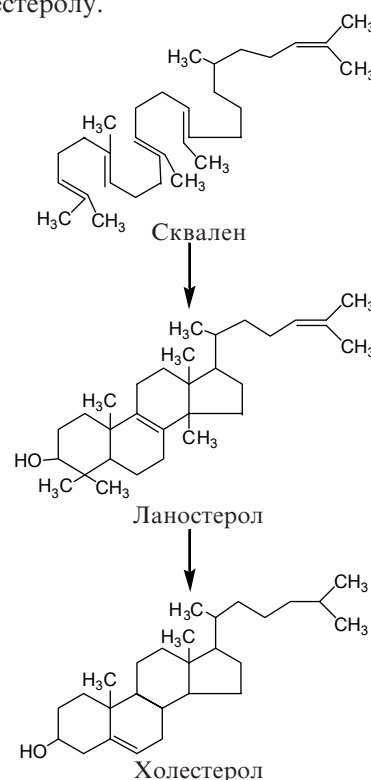
1. Конденсація двох молекул ацетил-КоА з утворенням ацетоацетил-КоА. Реакцію каталізує ацетил-КоА-ацетилтрансфераза.

2. Взаємодія ацетоацетил-КоА з ацетил-КоА з утворенням ГМГ-КоА. Реакцію каталізує ГМГ-КоА-синтаза.

3. Далі йдуть специфічні реакції біосинтезу холестеролу, перша з яких — відновлення ГМГ-КоА до мевалоніної кислоти під дією ГМГ-КоА-редуктази, що містить кофермент НАДФ⁺.

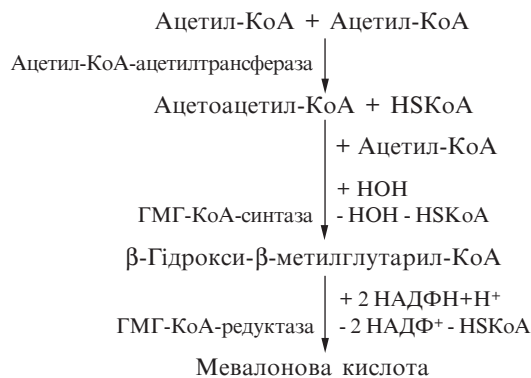


Далі мевалонінова кислота піддається декарбоксілюванню, а залишки її з п'ятьма атомами Карбону конденсуються, утворюючи сквален, який потім перетворюється на ланостерол, що вже містить тетрациклічну структуру, характерну для холестеролу.



1-й етап

Перетворення ацетил-КоА на мевалонову кислоту



2-й етап

Утворення сквалену з мевалонової кислоти

3-й етап

Циклізація сквалену у холестерол

Рис. 10.8. Схема біосинтезу холестеролу

Біосинтез холестеролу схематично подано на рис. 10.8.

Обмін холестеролу

Близько 80 % холестеролу синтезується в печінці, 10 % — у клітинах тонкого кишечника, 5 % — у клітинах шкіри й 5 % — в інших клітинах.

При вмісті в добовій їжі людини 2–3 г холестеролу синтез ендogenous холестеролу майже повністю переривається, тому що холестерол інгібує ГМГ-КоА-редуктазу і пригнічує синтез мевалонової кислоти. У гепатоцитах і клітинах кишечника синтезується холестерол не тільки для власних потреб, але й на «експорт». У цих клітинах утворюються ліпопротеїни, що надходять у кров (ліпопротеїнове ядро містить ефіри холестеролу, а вільний холестерол перебуває між шарами фосfolіпідів). У такому стані холестерол транспортується у кровоносному руслі.

Холестерол, що циркулює в крові у складі ліпопротеїнів, переміщається між окремими (в основному ЛПВЩ-ЛПНЩ) групами ліпопротеїдів, а також між ліпопротеїнами і клітинами. Так, особливо активний обмін холестеролу відбувається між ЛПНЩ і ЛПВЩ: при контакті цих частинок холестерол дифундує з однієї частинки в іншу, але в цілому переважає потік холестеролу в ЛПВЩ, активно відбувається етерифікація холестеролу під дією лецитин-холестерол-ацилтрансферази (ЛХАТ), що каталізує перенос ацильного залишку (переважно олеїнової або лінолевої кислот) із β -положення лецитину на холестерол. Локалізована ЛХАТ у поверхневому шарі ЛПВЩ, утворені тут ефіри холестеролу поринають усередину (в ядро) частинки. Внаслідок цього концентрація холестеролу в поверхневому

шарі ЛПВЩ зменшується й звільняється місце для надходження холестеролу з інших ліпопротеїнів.

Двосторонній обмін холестеролу шляхом дифузії відбувається також при контакті ліпопротеїнів із клітинами. І в цьому випадку існує переважний напрямок потоків: ЛПВЩ вилучають холестерол із клітинних мембран, а ЛПНЩ, навпаки, постачають клітинам холестерол. Навантажені холестеролом ЛПВЩ видаляються з кровотоку шляхом ендоцитозу клітинами кишечника, а також печінки, а ЛПНЩ поглинаються клітинами багатьох органів. Отже, ЛПВЩ запобігає нагромадженню надлишку холестеролу в клітинах, а ЛПНЩ забезпечує клітини холестеролом при збільшенні потреби в ньому (наприклад, під час росту і поділу клітин, коли холестерол витрачається на утворення нових мембран).

Видалення холестеролу з тканин, як і його поповнення в тканинах, також відбувається двома шляхами: його окисненням у жовчні кислоти в печінці з наступною екскрецією жовчних кислот у тонкий кишечник і подальшим виведенням із калом (приблизно 0,5 г за добу), тобто сумарна кількість холестеролу, що надходить у кишечник з їжею й синтезованого в тканинах, дорівнює сумарній кількості холестеролу і жовчних кислот, що екскретуються:

$$\begin{aligned} \text{Холестерол їжі} + \text{Холестерол ендogenousний} &= \\ &= \text{Холестерол} + \text{Жовчні кислоти} \end{aligned}$$

У нормі концентрація холестеролу в крові дорівнює 115–340 мг% (або 3–9 ммоль/л). Якщо порушено баланс між надходженням холестеролу з їжею і його синтезом в організмі, з одного боку, і виведенням жовчних кислот і холестеролу, з іншого боку, то концентрація холестеролу в тканинах і крові змінюється. Найбільш серйозні наслідки пов'язані з гіперхолестеролемією: при цьому збільшується ймовірність захворювань на атеросклероз і жовчнокам'яну хворобу.

Жовчнокам'яна хвороба. При цьому захворюванні в жовчному міхурі або протоках утворюються камені в результаті осадження і кристалізації компонентів жовчі. Звичайно в жовчних каменях основна маса — це холестерол і білірубін. Розрізняють два типи жовчних каменів: переважно холестеролові, які містять більше 70 % холестеролу, і переважно білірубінові. У 2/3 випадків хвороби зустрічаються холестеролові камені.

Холестерол у жовчі може існувати в трьох фазах. Перша фаза — це змішані міцели, що містять холестерол, жовчні кислоти й фосфатидилхолін. Друга фаза — позаміцелярний рідкокристалічний холестерол у водному оточенні жовчі. Третя фаза — твердокристалічний холестерол або його осад. Рідкокристалічна фаза нестабільна: холестерол із неї намагається перейти або в міцели, або в осад. Зменшення синтезу (або екскреції) жовчних кислот або збільшення синтезу холестеролу може призвести до відносного надлишку холе-

стеролу, коли наявні міцели не здатні вмістити весь холестерол жовчі — жовч стає насиченою холестеролом. У цих умовах і утворюється твердокристалічна фаза, тобто холестеролові камені. Осажденню холестеролу сприяє застій жовчі, запалення жовчовивідних шляхів.

Атеросклероз. Гіперхолестеролемія створює підвищену небезпеку захворювання на атеросклероз. Імовірність захворювання тим вища, чим більше відношення концентрацій ЛПНЩ і ЛПВЩ у крові, оскільки ЛПНЩ постачають клітинам холестерол, а ЛПВЩ видаляють із них його надлишок.

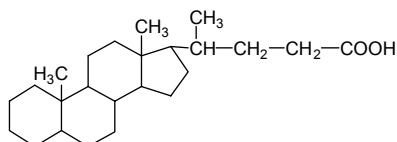
При гіперхолестеролемії відбувається відкладення холестеролу на стінках артерій у вигляді ефірів холестеролу. Утворюються атеросклеротичні бляшки, що складаються майже цілком з ефірів холестеролу. У бляшках можуть з'являтися виразки, що заростають сполучною тканиною (утворюється рубець), в яку відкладаються солі кальцію. Стінки судин деформуються, стають твердими, ламкими, порушується моторика судин, звужується їх просвіт — аж до закупорювання.

Біотрансформація холестеролу

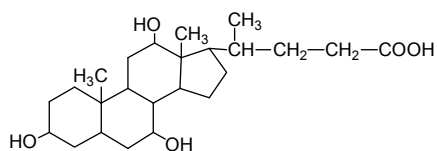
Біотрансформація холестеролу відбувається шляхом гідроксилювання структури циклопентанпергідрофенантрена та модифікації бічного ланцюга. Відбувається це в ендоплазматичному ретикулумі гепатоцитів та у мітохондріях клітин кори надниркових і статевих залоз за участю цитохрому Р-450, відновленого НАДФ, кисню та вітаміну С. Оскільки цитохром Р-450, як і інші монооксигенази, містить у своїй структурі іон заліза, який під час реакції змінює валентність, роль аскорбінової кислоти полягає у підтримці заліза гідроксилазу у фері-формі. Таким шляхом утворюються вітаміни групи D, стероїдні гормони (кортикостероїди та статеві), жовчні кислоти. Утворення, структура і функція вітаміну D, стероїдних гормонів розглядатимуться у відповідних розділах посібника.

Жовчні кислоти

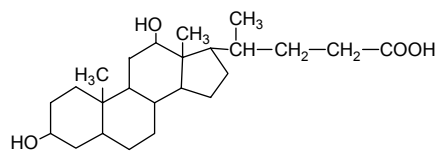
Жовчні кислоти утворюються в печінці з холестеролу (це кінцевий продукт його обміну) і виділяються в складі жовчі у дванадцятипалу кишку. Через кілька проміжних реакцій з холестеролу утворюється холанова кислота, що має таку хімічну структуру:



Жовчні кислоти є похідними холанової кислоти. До них належать холева (3,7,12-триоксихоланова) кислота, якої найбільше у складі жовчі, дезоксихолева (3,12-діоксихоланова), а також літохолева (монооксихоланова). Їх хімічна структура така:

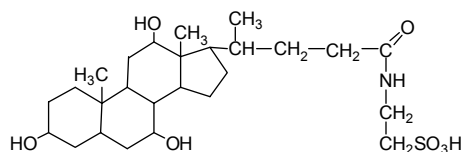


Холева кислота

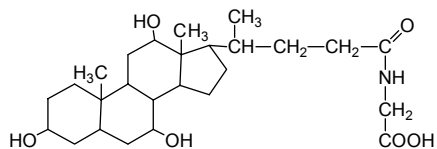


Дезоксихолева кислота

У печінці жовчні кислоти в реакції кон'югації утворюють сполуки з таурином, гліцином (наприклад, таурохолева, глікохолева, дезокситаурохолева, дезоксиглікохолева). Дезоксиформи цих жовчних кислот відрізняються відсутністю гідроксильної групи біля 7-го атома Карбону. Глікохолева, таурохолева кислоти і їх дезоксиформи надходять до кишечника, де розпадаються до холевої, дезоксихолевої кислот і гліцину або таурину. Вільні жовчні кислоти, що утворюються (без залишків гліцину й таурину) у вигляді натрієвих солей, виконують свою функцію в тонкому кишечнику. Основна роль жовчних кислот — це емульгування жирів.



Таурохолева кислота



Глікохолева кислота

Жовчні кислоти мають амфіфільні властивості. На поверхні розділу жир-вода вони орієнтуються таким чином, що гідрофобна циклічна частина виявляється зануреною в жир, а гідрофільний бічний ланцюг — у водну фазу, в результаті чого утворюється стабільна емульсія.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Катаболізм триацилгліцеролів в адипоцитах жирової тканини: послідовність реакцій, механізми регуляції активності триацилгліцеролліпази.
2. Нейрогуморальна регуляція ліполізу за участю адреналіну, норадреналіну, глюкагону й інсуліну.
3. Реакції окиснення жирних кислот (β -окиснення); роль карнітину в транспорті жирних кислот у мітохондрії.

4. Енергетична цінність β -окиснення жирних кислот у клітинах.
5. Окиснення гліцеролу: ферментативні реакції, біоенергетика.
6. Кетонові тіла. Реакції біосинтезу й утилізації кетонових тіл, фізіологічне значення.
7. Порушення обміну кетонових тіл за умов патології (цукровий діабет, голодування).
8. Біосинтез вищих жирних кислот: реакції біосинтезу насичених жирних кислот (пальмітату) та регуляція процесу.
9. Біосинтез моно- та поліненасичених жирних кислот в організмі людини.

10. Біосинтез триацилгліцеролів і фосфогліцеридів.
11. Метаболізм сфінголіпідів. Генетичні аномалії обміну сфінголіпідів — сфінголіпідози.
12. Біосинтез холестеролу: схема реакцій, регуляція синтезу холестеролу.
13. Шляхи біотрансформації холестеролу: етерифікація; утворення жовчних кислот, стероїдних гормонів, вітаміну D₃.
14. Циркуляторний транспорт і депонування ліпідів у жировій тканині. Ліпопротеїніпаза ендотелію.
15. Патології ліпідного обміну: атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет.

Глава 11. МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ. ЕНЗИМОПАТІЇ АМІНОКИСЛОТНОГО ОБМІНУ

11.1. ПУЛ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ В ОРГАНІЗМІ. ШЛЯХИ НАДХОДЖЕННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ У ТКАНИНАХ

Біохімічна роль білків

1. *Структурна* (пластична) функція білків. Білки зі структурними функціями за кількістю посідають перше місце серед інших білків організму людини. Всього в організмі людини в середньому 18–21 % білка в перерахунку на сиру масу та близько 50 % — у перерахунку на суху масу. Найбільша кількість білка знаходиться в паренхіматозних органах. Так, у процентах від сухої маси, у селезінці міститься 84 % білка, у легенях — 82 %, у м'язах — 80 %, у нирках — 72 %, у серці — 60 %, у печінці — 57 %. У сухій речовині головного мозку міститься білка вдвічі менше (45 %), ніж у м'язовій тканині. Найменша кількість білка в зубах (24 %) та у кістковій тканині (28 %).

Широко розповсюджені такі важливі структурні білки, як колаген у сполучній тканині, кератин у волоссі, нігтях, шкірі, еластин у стінці судин, ліпопротеїни біомембран.

2. *Енергетична* функція білків. За рахунок окиснення амінокислот організм забезпечується енергією на 10–15 %.

2. *Захисна* функція білків. Імунна система організму забезпечує синтез специфічних захисних білків-антитіл у відповідь на надходження до організму бактерій, токсинів або вірусів (антигенів). Взаємодія антитіл з антигенами сприяє нейтралізації біологічної дії антигенів.

Наведемо ще один приклад захисної функції білків. Деякі білки крові (наприклад фібриноген) здатні до зсідання. При пораненні судин фібриноген перетворюється на фібрин, який полімеризується, утворюючи згусток (тромб), що закриває дефект у судині й захищає організм від кровотечі.

4. *Каталітична* функція білків. Біологічні каталізатори-ферменти за хімічною природою є білками, сьогодні їх відомо майже 3000.

5. *Гормональна* функція білків. Деякі з гормонів, які виробляються залозами внутрішньої секреції, є білками, поліпептидами або продуктами білкового обміну. Ці речовини впливають на різноманітні біохімічні процеси. Наприклад, гормони-білки: соматотропін, тиреотропін, гонадотропін, інсулін; гормони-поліпептиди: кортикотропін, вазопресин; гормони-продукти білкового обміну (обміну амінокислот): тироксин, трийодотиронін, адреналін, норадреналін.

6. *Медіаторна* функція білків. Медіатори нервової системи — речовини, які беруть участь у передачі нервового імпульсу: гістамін, норадреналін, серотонін, γ -амінобутират та ін., є продуктами білкового обміну.

7. *Скоротлива* функція білків. У скороченні та розслабленні м'язів бере участь багато білків. Головну роль у цих процесах відіграють актин і міозин. За участю цих білків відбувається пересування організму, робота серця, просування їжі по ШКТ та інші важливі функції, без яких неможливе існування організму.

8. *Транспортна* функція білків. Білок еритроцитів — гемоглобін — здійснює транспорт кисню від легень до тканин і вуглекислого газу — від тканин до легень. Транспорт ліпідів здійснюється за допомогою таких білків, як альбуміни та ін.

Розпад білків до амінокислот у тканинах

Стадією оновлення білків є їх гідроліз за допомогою тканинних *протеїназ* (або *катепсинів*). Катепсини зосереджені переважно в лізосомах, як і багато інших гідролітичних ферментів. Проте катепсини наявні й в інших частинах клітини: гіялоплазмі, мітохондріях, ендоплазматичному ретикуліумі.

Лізосомальні катепсини найактивніші в кислому середовищі, тому їх називають *кислими катепсинами*. Всі катепсини поділяються на *екзо-*

пептидази, що гідролізують пептидні зв'язки від N- або C-кінця поліпептидного ланцюга, і *ендопептидази*, що гідролізують внутрішні пептидні зв'язки. Залежно від особливостей каталітичних груп активного центру, розрізняють тілові катепсини (у каталітичному центрі міститься цистеїн — *катепсини В, С, Н, L, N* — це ендопептидази), аспаргінові або карбоксикатепсинові (у каталітичному центрі — аспарагінова кислота — *катепсин D* — це ендопептидаза), і серинові (каталітична ділянка представлена серином — *катепсин А* — це екзопептидаза).

Біологічне значення катепсинів

Тканинний гідроліз білків необхідний для їх оновлення, усунення дефектних молекул білка, мобілізації ендogenousного білка, з енергетичною метою (особливо при голодуванні). Дефіцит катепсинів знижує можливість оновлення білків тканин, що приводить до нагромадження в них пошкоджених білків, які мають слабку функціональну активність. Катепсини відіграють не тільки руйнівну, але й реконструктивну роль. Вони здатні до обмеженого протеолізу, тобто відщеплення якого-небудь фрагмента поліпептидного ланцюга. Обмежений протеоліз у спеціалізованих нейросекреторних клітинах вивільняє нейропептиди, що виконують медіаторні й гормональні функції. За аналогічним механізмом прогормони, що утворюються в ендокринних залозах, переходять в активні білкові гормони.

Висока швидкість метаболічних процесів у організмі людини є причиною досить швидкого «зношування» самих клітин і особливо субклітинних структур, основу яких становлять білки. Крім того, білки як біологічні каталізатори забезпечують перебіг хімічних реакцій із швидкістю кілька тисяч обертів за секунду. Звідси стає зрозумілим, що час функціонування білків в організмі дуже невеликий (10–12 днів), потім вони піддаються деструкції. Однак для підтримки структурно-функціональної активності клітин на певному стабільному рівні їхнє місце повинні зайняти нові молекули білка. Тому в організмі людини щодня розпадається й знову синтезується близько 400 г білка.

Частина амінокислот, що вивільнилася в результаті розпаду білків, використовується для синтезу нових молекул білка, а частина — метаболізується до кінцевих продуктів або виводиться з організму з сечею (до 1 г за добу). Оскільки організм людини і вищих тварин не здатний утилізувати азот повітря, але цю здатність мають рослини (бобові культури) і мікроорганізми, то ми одержуємо азотовмісні сполуки, споживаючи в їжу рослини або тканини тварин, які поїдали рослини. За добу доросла людина споживає з їжею 100–120 г білка. Велике значення має біологічна цінність білків і їхня засвоюваність (тобто перетравлювання в ШКТ). Харчові продукти є постачальниками незамінних амінокислот, причому одні амінокислоти містяться переважно в продуктах рослинного, а інші — у продуктах тваринного походження, звідки стає зрозумілою

необхідність споживання як рослинної, так і тваринної їжі.

Транспорт амінокислот через плазматичну мембрану

Особливий інтерес являє механізм проникнення амінокислот через плазматичну мембрану всередину клітини після перетравлювання білків у ШКТ і всмоктування амінокислот через слизову оболонку кишечника в кров (рис. 11.1).

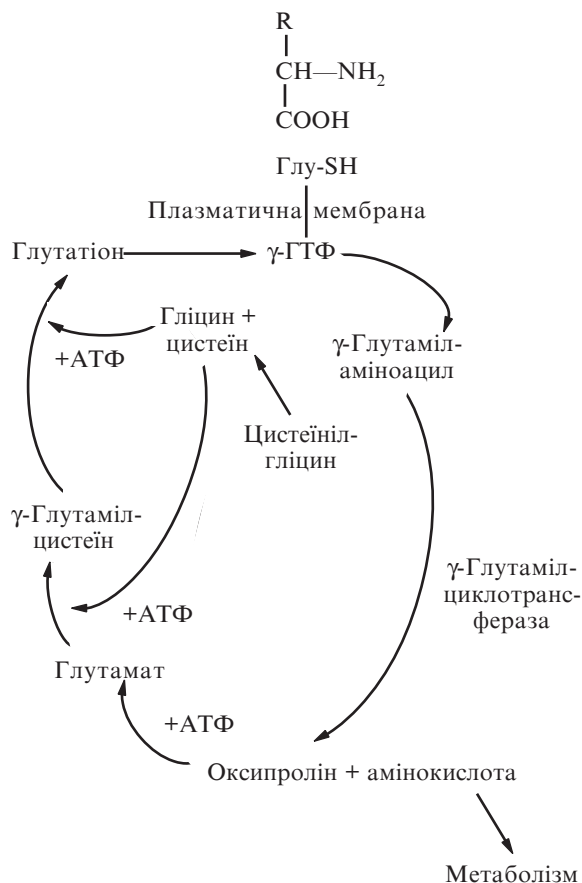


Рис. 11.1. Механізм транспорту амінокислот через мембрану клітин

Транспорт амінокислот через плазматичну мембрану здійснюється за допомогою мембранозв'язувального ферменту — γ -глутамілтрансферази (γ ГТФ), що використовує для цього трипептид глутатіон (γ -глутаміл-цистеїніл-гліцин). Глутатіон у момент взаємодії з амінокислотою розпадається на глутамат, що утворює комплекс γ -глутаміл-аміноацил, і цистеїніл-гліцин, який під дією пептидази розпадається на цистеїн і гліцин. Відбувається транслокація γ -глутаміл-аміноацильного комплексу всередину клітини, де він розпадається під дією γ -глутаміл-циклотрансферази на вільну амінокислоту і 5-оксипролін, що утворюється в результаті циклізації глутамату.

Для переносу наступної молекули амінокислоти через плазматичну мембрану відбувається «складання» глутатіону: 5-оксипролін перетво-

рюється на глутамат під дією 5-оксипролінази з витратою енергії 1 молекули АТФ, потім глутамат з'єднується з цистеїном із використанням ще 1 молекули АТФ і, нарешті, до γ -глутаміл-цистеїну приєднується гліцин, використовуючи ще 1 молекулу АТФ. Таким чином, транспорт амінокислот у клітину є енергозалежним, процес витрачає на перенос 1 молекули амінокислоти 3 молекули АТФ.

11.2. ЗАГАЛЬНІ ШЛЯХИ ПЕРЕТВОРЕННЯ АМІНОКИСЛОТ

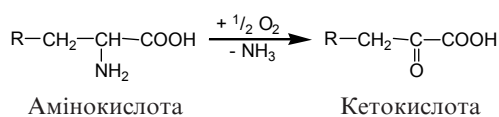
У клітині амінокислоти можуть бути використані у таких напрямках:

1. Біосинтез білків.
2. Біосинтез небілкових азотовмісних сполук (коферменти, гормони, медіатори, пуринові й піримідинові нуклеотиди, креатин, холін, біогенні ди- і трипептиди, біогенні аміни, порфірини, пігменти та ін.).
3. Біосинтез безазотистих сполук (використання вуглецевого скелета амінокислот для біосинтезу вуглеводів, ліпідів).
4. Окиснення до кінцевих продуктів із вивільненням енергії. Близько 10 % біоенергетики організму забезпечується за рахунок окиснення амінокислот. Цей процес особливо важливий у клітинах нервової тканини, де запаси вуглеводів невеликі.
5. Виведення амінокислот з організму з сечею.

Дезамінування амінокислот

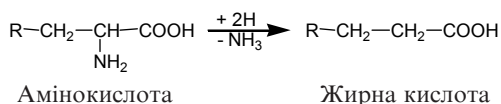
Щоб використати амінокислоти для біосинтезу вуглеводів, ліпідів або піддати окисненню, вони мають бути дезаміновані. У живих організмах існує кілька шляхів дезамінування амінокислот. Наведемо їх у схематичному зображенні:

1) Окисне:



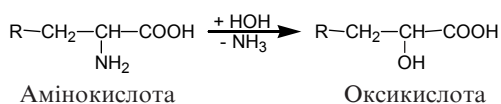
У результаті утворюються кетокислота й аміак.

2) Відновне:



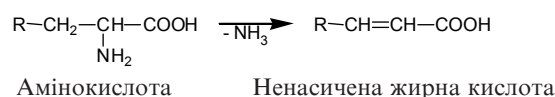
У результаті утворюються насичена жирна кислота й аміак.

3) Гідролітичне:



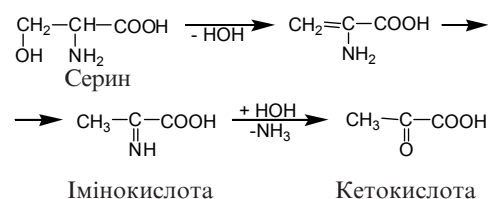
У результаті утворюються оксикислота й аміак.

4) Шляхом внутрішньомолекулярної перебудови:



У результаті утворюються ненасичена жирна кислота й аміак.

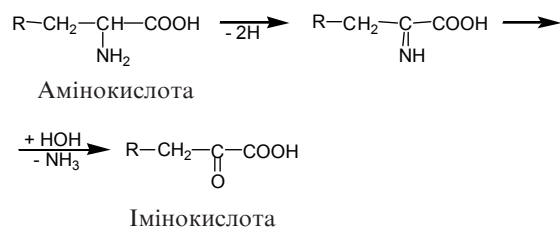
5) Шляхом дегідратації. Так дезамінуються амінокислоти, що містять оксигрупу (серин, треонін):



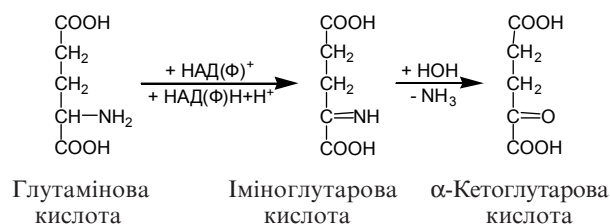
У результаті утворюються кетокислота й аміак.

У тканинах людини й вищих тварин амінокислоти піддаються переважно окисному дезамінуванню. Відомо, що окиснення біологічних субстратів у організмі людини відбувається не шляхом приєднання кисню, як це зображено на схемі, а шляхом дегідрування. Тому окисне дезамінування перебігає в 2 етапи:

- 1) відщеплення 2 атомів Гідрогену від амінокислоти й утворення нестійкої імінокислоти;
- 2) неферментативне приєднання води з відщепленням аміаку й утворення кетокислоти:



Каталізують цей процес *оксидази амінокислот*, які використовують як кофермент ФМН або ФАД, тобто флавінові коферменти. Відновлені флавінові коферменти можуть окиснюватися киснем з утворенням пероксиду гідрогену, що під дією каталази розщеплюється на воду і молекулярний кисень (див. перекисне окиснення). Однак оксидаза амінокислот, що має значну специфічність, при фізіологічних умовах не активна, істотної ролі в окисному дезамінуванні амінокислот вона не відіграє. У тканинах високою є активність лише ферменту, що каталізує окисне дезамінування глутамінової кислоти (глутаматдегідрогенази), коферментом якої є НАД⁺ (або НАДФ⁺).



Оскільки ферментативна реакція оборотна, то, імовірно, у напрямку утворення γ -кетоглутарату фермент використовує НАД^+ , і $\text{НАДН} + \text{H}^+$, що утворюється, залучається в ланцюг тканинного дихання, а в напрямку утворення глутамату фермент використовує відновлені коферменти $\text{НАДФН} + \text{H}^+$, необхідні для відбудовних біосинтетичних процесів.

Слід зазначити, що в результаті дезамінування амінокислот лише частина аміаку, що утворюється, знешкоджується й виводиться з організму з сечею у вигляді сечовини, решта використовується для утворення замінних амінокислот із продуктів небілкового походження. Таким чином, поряд із дезамінуванням амінокислот відбувається амінування кетокислот, тобто процес переамінування, або трансамінування. Каталізують цей процес амінотрансферази, у яких коферментом є піридоксальфосфат (фосфорний ефір вітаміну B_6). Характерною особливістю цього коферменту є те, що він може існувати в альдегідній і аміній формах. Найбільш вивченими є дві трансамінази: аланінамінотрансфераза, що каталізує оборотну реакцію переамінування між аланіном і α -кетоглутаратом, і аспартатамінотрансфераза, що каталізує оборотну реакцію переамінування між аспартатом і α -кетоглутаратом.

Теорію процесу трансамінування розробили А. Е. Браунштейн і М. М. Шемякін. У результаті трансамінування аміногрупа від амінокислоти

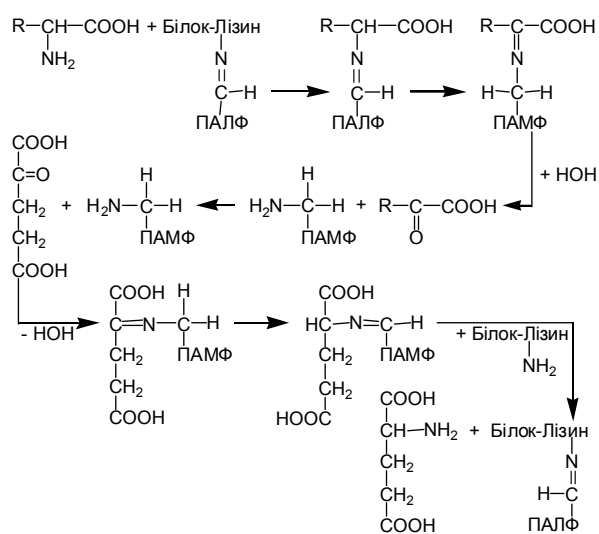


Рис. 11.2. Механізм трансамінування в тканинах

спочатку переноситься на кофермент з утворенням основи Шиффа, що піддається внутрішньо-молекулярній перебудові, вивільняється кетокислота і піридоксамінфосфат, що, у свою чергу, взаємодіє з іншою кетокислотою з утворенням проміжної сполуки (основи Шиффа), це приводить до синтезу нової амінокислоти й переходу піридоксамінфосфату в піридоксальфосфат (рис. 11.2).

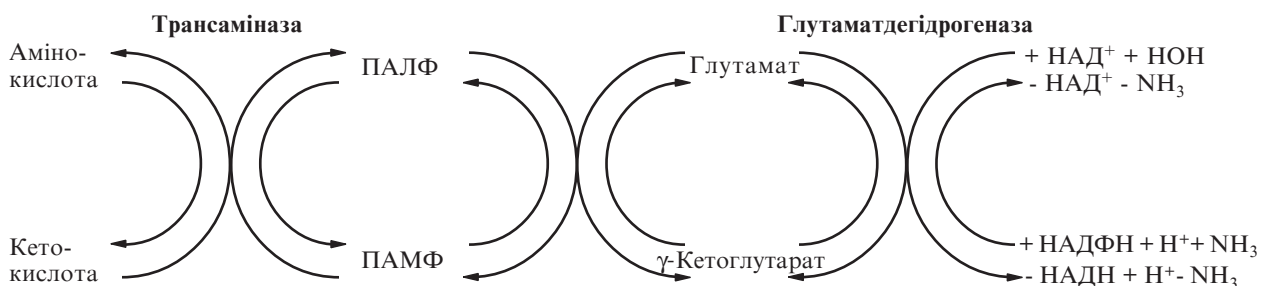
Докладне вивчення характеру зв'язку коферменту й апоферменту в структурі амінотрансфераз показало, що кофермент зв'язується з апоферментом шляхом зв'язку карбонільної групи коферменту з ϵ -аміногрупою лізину апоферменту.

Взаємодія субстрату й коферменту відбувається не шляхом конденсації з відщепленням молекули води, як це припускалося раніше, а шляхом витискання аміногрупи лізину аміногрупою субстрату.

Як правило, акцептором аміногруп у реакціях трансамінування є кетоглутарова кислота, а з огляду на високу активність глутаматдегідрогенази доведено існування в тканинах тварин непрямого дезамінування амінокислот. Тобто майже всі амінокислоти спочатку взаємодіють із α -кетоглутаратом з утворенням глутамінової кислоти й відповідної кетокислоти, а потім глутамінова кислота піддається окисненню дезамінуванню. Цей процес дістав назву *трансдезамінування*. Враховуючи оборотність реакцій трансамінування і дезамінування, доведено існування в організмі трансамінування, завдяки якому здійснюється синтез замінних амінокислот. Механізм його полягає у відновному амінуванні α -кетоглутарової кислоти з утворенням глутамінової під дією глутаматдегідрогенази, що використовує як кофермент відновлений НАДФ^+ , і потім у переносі аміногрупи від глутамату на будь-яку кетокислоту в реакції трансамінування.

Вуглецеві залишки більшості амінокислот можуть включатися в біосинтез глюкози (глікогенні амінокислоти). Три амінокислоти (фенілаланін, тирозин, триптофан) можуть бути глікогенними і кетогенними, лише лейцин і лізин є тільки кетогенними амінокислотами. Разом з тим, вуглецеві залишки амінокислот піддаються окисненню шляхом залучення в цикл трикарбонових кислот через піруват, ацетил-КоА, оксалоацетат, кетоглутарову кислоту і сукциніл-КоА.

Існують мітохондріальні та цитоплазматичні форми амінотрансфераз, зокрема АСТ, які відрізняються спрямованістю каталізованої реакції.



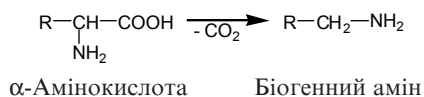
Так, мітохондріальна АСТ каталізує амінування оксалоацетату і перетворення його на аспарат, що виходить із мітохондрій у цитоплазму, де під дією цитоплазматичної АСТ дезамінується до оксалоацетату, а останній відновлюється в малат, що переходить із цитоплазми в мітохондрії й окиснюється до оксалоацетату. Так здійснюється перенос відновлених еквівалентів через мітохондріальну мембрану, який дістав назву малатаспаратного човникового механізму.

У різних тканинах активність трансаміназ різна. Так, у печінці переважає активність АЛТ, тоді як у м'язовій тканині — АСТ, однак слід підкреслити, що у клітинах тканин активність цих ферментів у тисячі разів вища, ніж у сироватці крові. Підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові в кілька разів свідчить про порушення проникності плазматичних мембран тих чи інших органів і вихід тканинних ферментів у кров. Так, при інфаркті міокарда в крові різко збільшується активність АСТ, а при гепатитах у крові зростає активність АЛТ. Співвідношення активностей АЛТ і АСТ у сироватці крові (індекс де Ритиса) дає змогу виявити переважне збільшення активності однієї з трансаміназ (його використовують для диференціальної діагностики захворювань печінки й м'язової системи).

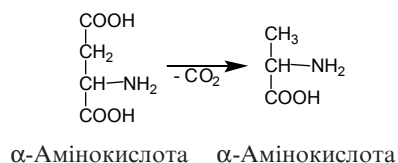
Декарбоксілювання амінокислот

Загальним шляхом метаболізму амінокислот, крім трансамінування, є декарбоксілювання. Продуктами декарбоксілювання амінокислот є біогенні аміни та інші біологічно активні сполуки. Відомо 4 типи декарбоксілювання:

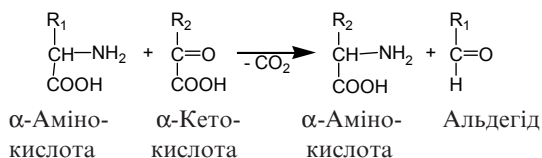
1. α -Декарбоксілювання, у результаті в тканинах утворюються біогенні аміни і CO_2 :



2. ω -Декарбоксілювання, якому піддаються дикарбонові амінокислоти з утворенням нової амінокислоти і CO_2 :

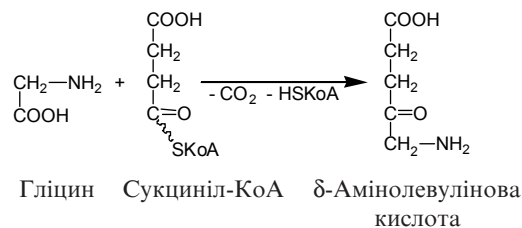


3. Декарбоксілювання, пов'язане з трансамінуванням, у результаті чого утворюються альдегід і амінокислота, що відповідає кетокислоті:



4. Декарбоксілювання, пов'язане з конденсацією двох молекул. Відбувається при синтезі

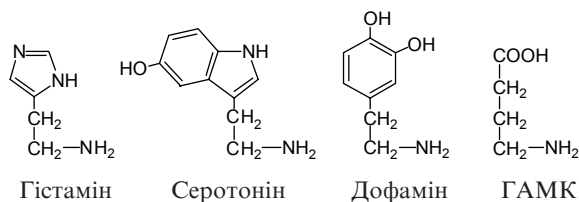
δ -амінолевулінової кислоти, яка є субстратом для синтезу гему, із гліцину і сукциніл-КоА:



Для тканин тварин характерне, головним чином, α -декарбоксілювання, яке, на відміну від трансамінування, є необоротним. Каталізують даний процес декарбоксілази, у яких коферментом, як і в амінотрансфераз, є піридоксальфосфат. Початковий етап декарбоксілювання повторює аналогічний етап трансамінування, тобто піридоксальфосфат зв'язується з аміногрупою амінокислоти з утворенням ферментсубстратного комплексу, що потім декарбоксілюється. Внаслідок декарбоксілювання багато монокарбонових амінокислот перетворюються на біогенні аміни, а дикарбонові амінокислоти — на амінокислоти, які не входять у структуру білків органів і тканин, але виконують низку важливих біологічних функцій.

Відомо, що декарбоксілаза циклічних амінокислот не має високої специфічності й каталізує декарбоксілювання триптофану, окситриптофану і ДОФА з утворенням відповідно триптаміну, серотоніну й дофаміну.

Серотонін є медіатором центральної нервової системи, справляє вазопресорний ефект, бере участь у терморегуляції, нирковій фільтрації, регуляції дихання. Дофамін — попередник норадреналіну й адреналіну, медіатор нервової системи. Інгібітором декарбоксілази циклічних амінокислот є α -метилдофа, що має гіпотензивну дію.



У результаті декарбоксілювання гістидину утворюється гістамін. Він чинить вазодилаторну дію, нагромаджується у вогнищі запалення, прискорюючи приплив лейкоцитів, є медіатором алергії та болю, підсилює секреторну функцію шлунка, що використовується в клініці. Широко застосовують антигістамінні препарати, які знижують виразність алергічної реакції. Декарбоксілювання глутамінової кислоти приводить до утворення γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) — гальмівного медіатора нервової системи. Декарбоксілювання аспарагінової кислоти приводить до утворення β -аланіну — складової частини пантотенової кислоти, коензиму А, карнозину і ансерину.

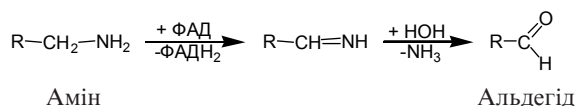
У результаті декарбоксілювання діаміномонакарбонових амінокислот лізину, орнітину й

аргініну утворюються біогенні аміни — кадаверин, путресцин, агматин:



Процес декарбоксілювання амінокислот може відбуватися в кишечнику за участю ферментів його мікрофлори, тоді біогенні аміни, всмоктуючись із кишечника в кров, токсично впливають на організм, що є одним із патогенетичних механізмів розвитку кишкової непрохідності.

Розпад біогенних амінів відбувається шляхом їх окисного дезамінування з утворенням відповідного альдегіду й аміаку:



Амін

Альдегід

Каталізує цю реакцію ФАДзалежна моноаміноксидаза, що відіграє важливу роль у регуляції синтезу і розпаду біогенних амінів.

11.3. ДЕТОКСИКАЦІЯ АМІАКУ, БІОСИНТЕЗ СЕЧОВИНИ

Після прямого й непрямого дезамінування амінокислот виділяється аміак. Протягом доби в організмі людини дезамінується до 70 г амінокислот. Також невелика кількість NH_3 утворюється при дезамінуванні азотистих основ, що входять до складу нуклеотидів, при дезамінуванні біогенних амінів, при розпаді глутаміну й аспарагіну до глутамінової й аспарагінової амінокислот й інших сполук, що становить 16–19,5 г азоту (або 18–24 г NH_3).

Аміак є високотоксичною сполукою для організму, тому концентрація його в крові становить лише 50–60 мкмоль/л. У крові аміак існує майже цілком у вигляді іона амонію (NH_4^+). Ці іони дуже погано проходять через цитоплазматичну і мітохондріальну мембрани. На відміну від них, молекули вільного аміаку (NH_3) легко проходять через ці мембрани. У крові при $\text{pH}=7,4$ частка вільного NH_3 становить лише 1 % від загальної його кількості, але цей аміак вільно проникає крізь мембрани і потрапляє в клітини. Токсичність NH_3 виявляється в тому, що нагромадження його призводить до відновного амінування α -кетоглутарової кислоти до глутамату, внаслідок цього — до видалення α -кетоглутарової кислоти з ЦТК, що притягує ЦТК, сприяє нагромадженню кетонових тіл.

Тому аміак повинен знешкоджуватися в тканинах (там, де він утворюється) з перетворенням

на нетоксичні сполуки. Знешкодження NH_3 в організмі відбувається кількома шляхами:

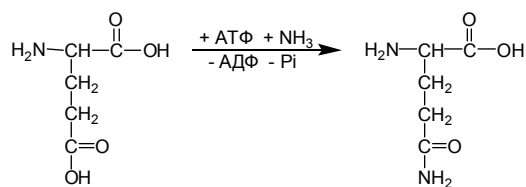
1-й шлях — використання NH_3 на біосинтез сечовини. Це основний шлях знешкодження NH_3 в організмі. Сечовина виділяється з організму з сечею у вигляді головного кінцевого продукту білкового обміну.

2-й шлях — використання NH_3 на біосинтез глутаміну й аспарагіну. NH_3 утворюється в різних тканинах і органах, а біосинтез сечовини відбувається в печінці. Тому NH_3 , що утворився в різних органах і тканинах за місцем його вивільнення, використовується на біосинтез глутаміну й аспарагіну.

3-й шлях — використання NH_3 для біосинтезу необхідних для організму сполук — у процесі відновного амінування α -кетоглутарату з утворенням глутамінової кислоти, для біосинтезу азотистих основ та інших сполук.

Утворення глутаміну й аспарагіну

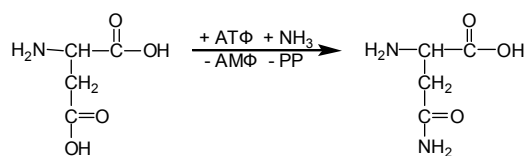
Утворення глутаміну з глутамінової кислоти і NH_3 відбувається за участю АТФ і ферменту глутамінсинтетази за такою схемою:



Глутамінова кислота

Глутамін

Аналогічним шляхом відбувається синтез аспарагіну з аспарагінової кислоти і NH_3 за участю АТФ і аспарагіносинтетази, але, на відміну від синтезу глутаміну, синтез аспарагіну перебігає приблизно в 10 разів повільніше і відбувається більш глибокий розпад АТФ на АМФ і пірофосфат.



Аспарагінова кислота

Аспарагін

Після синтезу глутамін і аспарагін надходять із різних органів і тканин у кров, течією крові потрапляють у печінку і нирки. Основна частина глутаміну й аспарагіну надходить до печінки, де відбувається їхній розпад на NH_3 і глутамат або аспартат під дією глутамінази або аспарагінази й остаточне знешкодження NH_3 з утворенням сечовини. Отже, синтез глутаміну й аспарагіну — це тимчасове знешкодження NH_3 , ці сполуки називаються ще транспортними формами NH_3 в організмі. Деяка частина, переважно глутаміну, надходить у нирки, де під дією ферменту глутамінази розщеплюється на глутамінову кислоту й NH_3 , що використовується в нирках для нейтралізації кислих продуктів при аци-

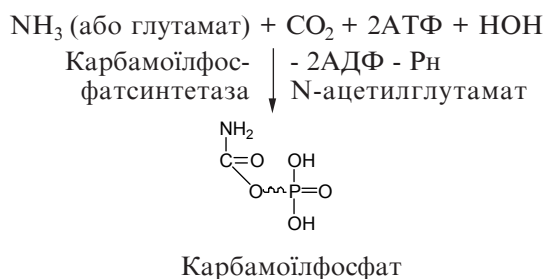
дозі з утворенням амонійних солей ($\text{NH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+$), захищаючи тим самим організм від втрати з сечею іонів Na^+ , які у протилежному разі використовувалися б для підтримки фізіологічного рівня рН крові й сечі при ацидозі.

Біосинтез сечовини

Основним механізмом знешкодження NH_3 в організмі є біосинтез сечовини, який відбувається в печінці й складається з кількох етапів, які разом становлять орнітиновий цикл сечовиноутворення Кребса:

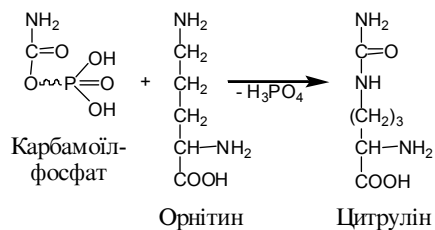
1. Синтез карбамоїлфосфату з NH_3 (або глутаміну), CO_2 , фосфату (донором якого є АТФ) за участю АТФ, N-ацетилглутамату і ферменту карбамоїлфосфатсинтази. На даному етапі витрачаються 2 молекули АТФ. N-ацетилглутамат є активатором даної реакції. Карбамоїлфосфатсинтаза як простетичну групу містить біотин.

Схема першого етапу:



Спочатку за участю однієї молекули АТФ CO_2 з'єднується з ферментом через біотин з утворенням комплексу CO_2 -біотин-фермент. Потім CO_2 -біотин-фермент реагує з NH_3 і з другою молекулою АТФ (донор фосфату) з утворенням карбамоїлфосфату. Виявлено дві карбамоїлфосфатсинтази — I та II. Карбамоїлфосфатсинтаза I локалізована в мітохондріях (переважно в печінці). Як донор азоту цей фермент використовує тільки NH_3 , регулюється й активується N-ацетилглутаматом. Карбамоїлфосфатсинтаза II локалізована в цитоплазмі швидко зростаючих тканин (пухлин), як донор азоту використовує глутамін, активність ферменту не залежить від N-ацетилглутамату.

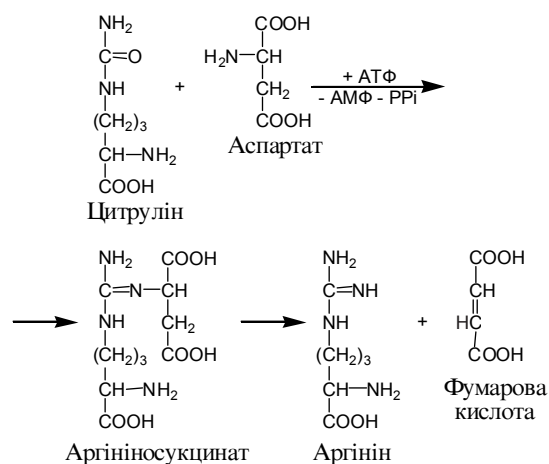
2. Перенос карбамоїлу від карбамоїлфосфату на орнітин з утворенням цитруліну і вивільненням фосфату. Каталізує реакцію фермент орнітинкарбамоїлтрансфераза



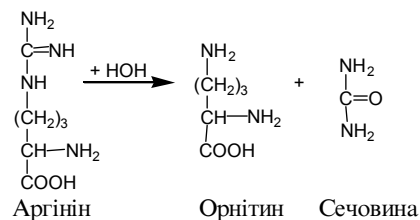
Перші 2 етапи перебігають у мітохондріях печінки. Утворений у мітохондріях цитрулін переходить у цитоплазму клітини, де починається 3-й етап.

3. Синтез аргініносукцину з цитруліну й аспарагінової кислоти. Реакцію каталізує аргініносукцинатсинтаза. У реакції витрачається енергія однієї молекули АТФ, але двох макроергічних зв'язків. Слід зазначити, що аміногрупа аспарагінової кислоти є джерелом другого атома азоту в молекулі сечовини (перший атом азоту — від NH_3).

4. Розпад аргінінбурштинової кислоти на аргінін і фумарову кислоту під впливом ферменту аргініносукцинатліази.



5. Розпад аргініну на сечовину й орнітин під впливом ферменту аргінази.



Фумарат вступає в ЦТК, перетворюючись там на малат, а потім — на оксалоацетат, який трансамінуванням із глутаміновою кислотою перетворюється на аспарагінову кислоту, що знову може з'єднатися з цитруліном, тобто вступати в орнітиновий цикл.

Орнітин переходить із цитозолу у мітохондрії і може знову взаємодіяти з карбамоїлфосфатом, тобто знову повторюється орнітиновий цикл Кребса. Цикл синтезу сечовини має тісний зв'язок із циклом трикарбонових кислот (рис. 11.3).

Сечовина виділяється з організму з сечею. У процесі білкового обміну в людини за добу утворюється і виділяється з сечею близько 30 г сечовини — це 70 % усього азоту азотовмісних компонентів сечі.

Із сечею виділяється більша частина синтезованої в організмі сечовини. Однак невелика кількість її розщеплюється під впливом ферменту уреази на CO_2 і NH_3 , який використовується для нейтралізації кислот і в деяких інших процесах.

Підвищення концентрації аміаку в крові називається гіперамоніємією. Розрізняють вроджені

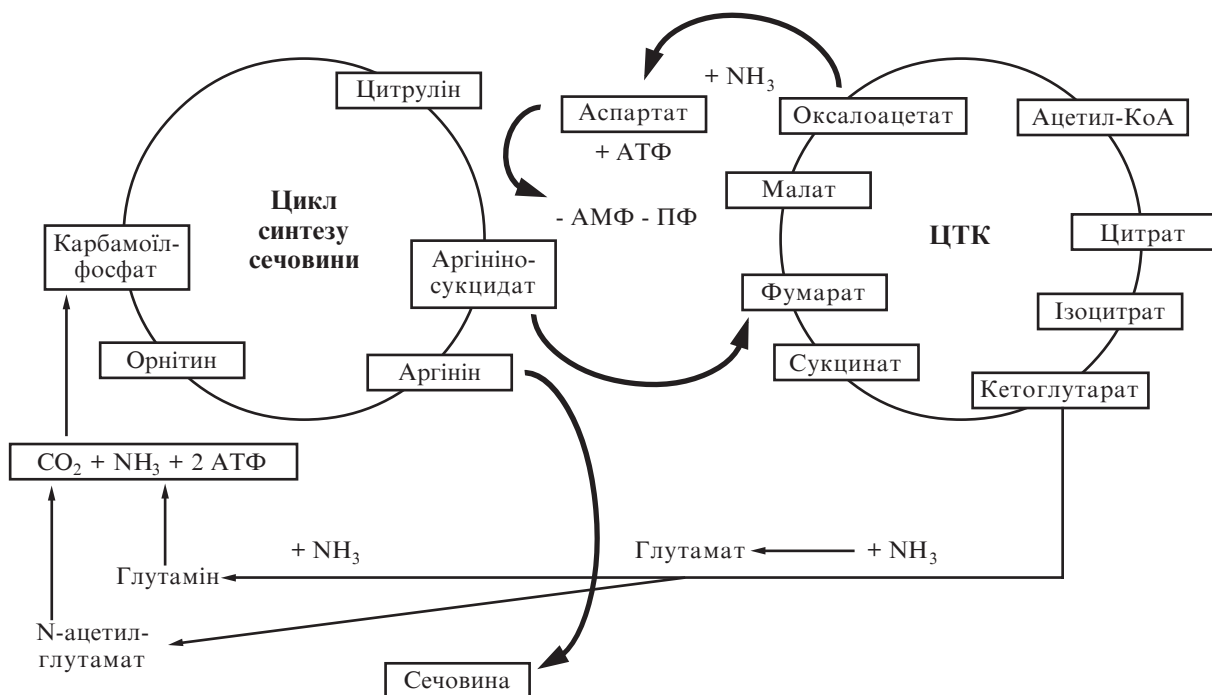


Рис. 11.3. Зв'язок циклу синтезу сечовини і циклу трикарбонових кислот

і набуті гіперамоніємії: вроджені пов'язані з вродженими порушеннями синтезу кожного з 5 ферментів орнітинового циклу; набута гіперамоніємія спостерігається при захворюваннях печінки внаслідок ослаблення біосинтезу сечовини у гепатоцитах.

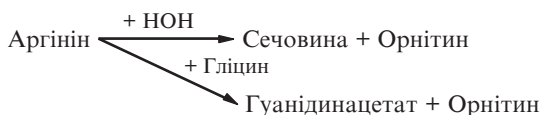
11.4. СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ШЛЯХИ ОБМІНУ АЦИКЛІЧНИХ І ЦИКЛІЧНИХ АМІНОКИСЛОТ. БІОСИНТЕЗ ГЛУТАТІОНУ ТА КРЕАТИНУ. ЕНЗИМОПАТІЇ АМІНОКИСЛОТНОГО ОБМІНУ

Особливості обміну діаміномонокарбонових кислот

Крім загальних шляхів обміну амінокислот (дезамінування, трансамінування, декарбоксілювання), існують індивідуальні шляхи обміну майже всіх амінокислот. У процесі індивідуальних перетворень амінокислот можуть утворюватися продукти реакції, що відіграють важливу роль в обміні речовин і у фізіологічних функціях організму. До цих амінокислот належать аргінін, лізин, орнітин і цитрулін.

Цитрулін у складі білків не виявлений, утворюється з орнітину і є проміжним продуктом біосинтезу сечовини.

Орнітин у складі білків також не виявлений. Утворюється з аргініну в процесі біосинтезу сечовини або біосинтезу креатину.



Лізин входить до складу білків, є незамінною амінокислотою (не синтезується в тканинах тварин і людини). Значну кількість лізину містять такі білки, як протаміни й гістони, які з'єднуються з нуклеїновими кислотами й разом утворюють складні білки — нуклеопротеїни.

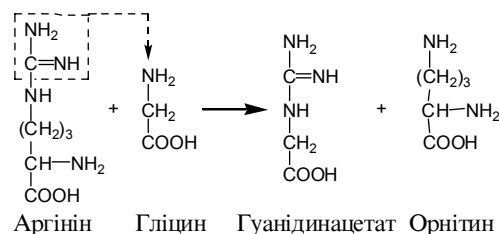
Особливий інтерес представляє обмін аргініну. Ця амінокислота, як і лізин, входить до складу протамінів і гістонів. При гідролізі аргініну за участю аргінази утворюються сечовина й орнітин. Аргінін є субстратом для утворення оксиду нітрогену.

До того ж аргінін разом із гліцином і метіоніном необхідні для біосинтезу важливої для м'язів сполуки — креатину.

Обмін і біологічна роль креатинфосфату

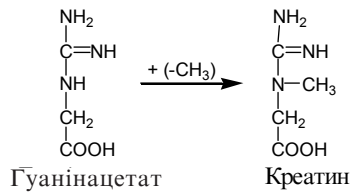
Синтез креатину перебігає в 2 етапи:

1. Перенос амідинової групи від аргініну на гліцин з утворенням гуанідаміну (гуанідинацетату) і орнітину. Каталізує реакцію фермент гліцинамідинотрансфераза. Ця реакція перебігає переважно в нирках.

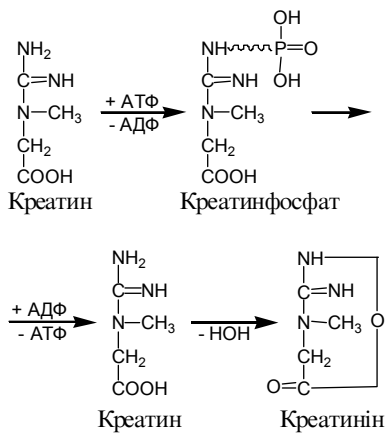


2. Перенос метильної групи від активної форми метіоніну S-аденозилметіоніну на гуанідинацетат з утворенням креатину. Цей етап синтезу креатину відбувається в печінці. Гуанідинацетат із нирок течією крові переноситься в печін-

ку, де метилується в креатин. Каталізує реакцію фермент гуанідинацетатметилтрансфераза, що містить як кофермент S-аденозилметіонін.



Креатин із печінки течією крові надходить у м'язову тканину (у незначній кількості — в інші тканини). Таким чином, починається синтез креатину у нирках, завершується у печінці, а зосереджується майже повністю у м'язах.



Біологічна роль цього явища полягає в тому, що креатин, взаємодіючи з АТФ під впливом ферменту креатинфосфокінази, перетворюється на креатинфосфат, який є макроергом, що містить амідинфосфатний макроергичний зв'язок. Він нагромаджується у м'язах (причому кількість його зростає при тренуванні м'язів до фізичного навантаження) і являє собою сполуку, яка в умовах інтенсивної м'язової роботи може взаємодіяти з АДФ за участю креатинфосфокінази з утворенням АТФ і креатину, тобто реакція перебігає у зворотному напрямку.

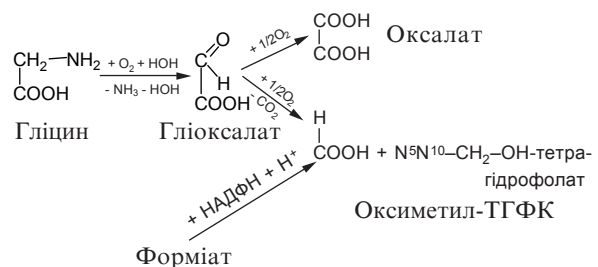
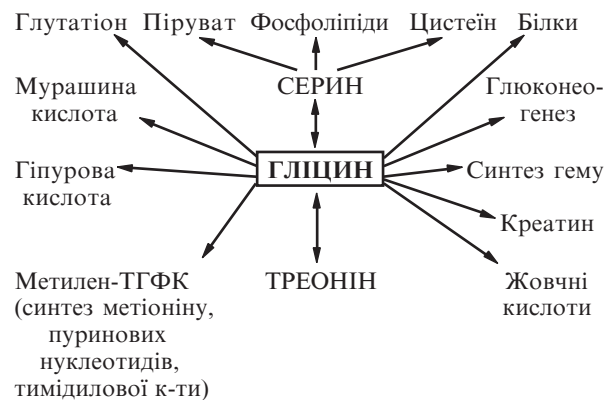
Креатинфосфат є швидким постачальником АТФ, що використовується при м'язових скороченнях. Концентрація його в скелетних м'язах хребетних тварин перевищує в 3–8 разів концентрацію АТФ, тому вміст АТФ у м'язах не зменшується в процесі їхнього скорочення, доки не вичерпається креатинфосфат. Запаси креатинфосфату в м'язах достатні для забезпечення їх енергією протягом 20–30 с інтенсивної м'язової роботи. Частина креатинфосфату піддається неферментативному дефосфорилюванню й перетворюється на креатинін, який може утворюватися безпосередньо з креатину шляхом відщеплення від нього молекули води. Креатинін як один із кінцевих продуктів білкового обміну виділяється з організму з сечею — 0,5–2,5 г/добу.

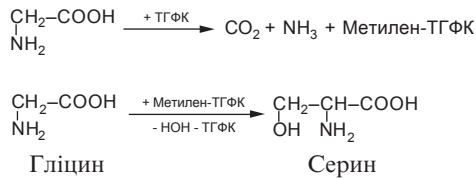
Крім загальних шляхів обміну амінокислот (дезамінування, трансамінування, декарбоксілювання), характерних для всіх амінокислот, з'ясовані індивідуальні шляхи перетворення майже всіх амінокислот білкової молекули. Деякі з цих перетворень спричиняють утворення продуктів реакції, що відіграють вирішальну роль в обміні речовин і фізіологічних процесах організму.

Обмін гліцину і серину

Гліцин пов'язаний з різними метаболічними процесами більше, ніж будь-яка інша амінокислота. Так, він бере участь в утворенні тканинних білків, глюкози, ліпідів, гему, пуринових нуклеотидів, жовчних кислот (глікохолева, дезоксиглікохолева), входить до складу трипептиду глутатіону, що бере участь в окисно-відновних процесах, у знешкодженні у печінці продуктів гниття білків, що всмокталися з кишечника (гіпурова кислота), необхідний для утворення креатину, з нього утворюється мурашина кислота.

Окисне дезамінування гліцину каталізує специфічна дезамінуюча дегідрогеназа — гліциноксидаза. У результаті дезамінування гліцин перетворюється на гліоксилову кислоту, яка надалі в тканинах окиснюється до щавлевої кислоти або мурашиної кислоти і CO_2 . Щавлева кислота виводиться з організму з сечею у вигляді її солей — оксалатів. Мурашина кислота далі може піддаватися відновленню за участю НАДФН+ H^+ і тетрагідрофолієвої кислоти (ТГФК) у формільне похідне тетрагідрофолієвої кислоти — $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ - CH_2CH -ТГФК, що служить донором оксиметильних груп ($-\text{CH}_2-\text{OH}$) у реакціях перетворення гліцину на серин.

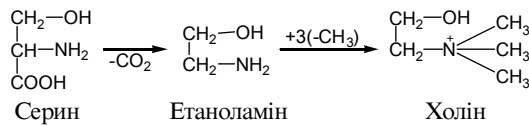




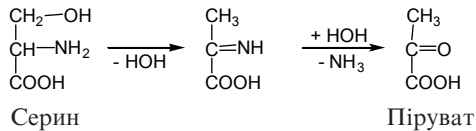
Отже, сама амінокислота гліцин і продукт її розпаду — мурашина кислота використовуються для біосинтезу серину.

При декарбоксілюванні серин перетворюється на коламін (етаноламін), який, приєднуючи метильні групи від S-аденозилметіоніну, перетворюється на холін. Серин, коламін і холін входять до складу фосфоліпідів.

Метаболізм серину



Дезамінування серину відбувається шляхом дезгідратації за участю ферменту сериндегідратази:

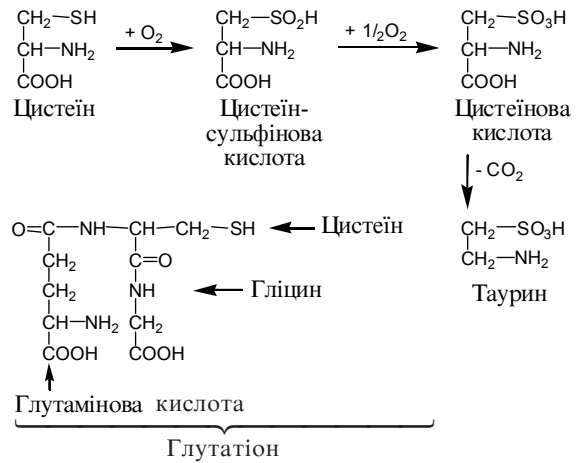
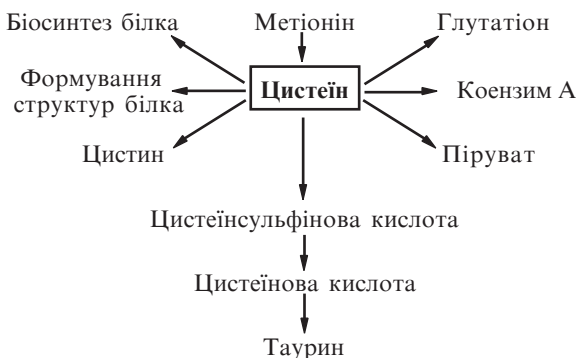


Гліцин також перетворюється на піруват, але через серин. Піруват, що утворився, окиснюється з вивільненням енергії. Отже, гліцин може перетворюватися: 1) на щавлеву кислоту, що виводиться з організму з сечею; 2) на мурашину кислоту, а за участю останньої утворюється формільне похідне ТГФК, оксиметильні групи якого використовуються на біосинтез серину; 3) через серин із гліцину можуть утворюватися коламін, холін, піруват. Серин може перетворюватися: 1) на коламін і холін; 2) на піруват.

Обмін сірковмісних амінокислот

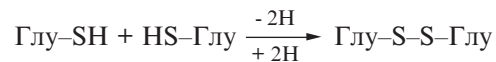
У молекулі білка виявлено три сірковмісні амінокислоти — цистеїн, цистин і метіонін, метаболічно тісно пов'язані між собою. У тканинах легко перебігає ферментативна окисно-відновна реакція між цистеїном і цистином. Каталізує реакцію фермент цистинредуктаза, коферментом якої є НАД⁺:

Метаболізм цистеїну



Дисульфідний зв'язок, що утворився, є одним із видів хімічних зв'язків у білковій молекулі, які стабілізують її структуру. Цистеїн входить до складу активних центрів деяких ферментів, що дістали у зв'язку з цим назву — тіолові ферменти. До них належать гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа, гексокіназа та ін.

Цистеїн є основною частиною трипептиду глутатіону (Г-SH), до складу якого, крім цистеїну, входять глутамінова кислота і гліцин. Глутатіон може перебувати в окисненій і відновленій формі, віддаючи або приєднуючи два атоми Гідрогену. Біологічна роль глутатіону полягає в такому. При окисненні SH-груп активних центрів ферментів вони втрачають свою активність. Глутатіон сприяє збереженню SH-груп цих ферментів у відновленій формі. Окиснений глутатіон відновлюється під дією глутатіонредуктази, використовуючи атоми Гідрогену НАДФ+Н⁺.



Глутатіон відновлений Глутатіон окиснений

З іншого боку, глутатіон може пригнічувати функцію деяких білків. Наприклад, за участю атомів Гідрогену відновленого глутатіону відбувається розрив дисульфідних зв'язків між двома поліпептидними ланцюгами інсуліну. Цистеїн піддається окисненню в цистеїнсульфінову кислоту, яка може використовуватися у двох напрямках:

1. Піддаватися трансамінуванню з α-кетоглутаровою кислотою з утворенням глутамату і β-сульфінілпірувату, що потім переходить у піруват і SO₂. Двоокис сірки перетворюється на сульфат (SO₃²⁻), що окиснюється в тканинах до сульфатів, які виводяться з сечею. Сульфатна кислота в печінці знешкоджує токсичні речовини, що утворюються в товстому кишечнику при гнитті білків. Піруват окиснюється з вивільненням енергії.

2. Окиснення цистеїнсульфінової кислоти до цистеїнової кислоти. Цистеїнова кислота може піддаватися декарбоксілюванню до таурину, який входить до складу жовчних кислот (таурохолевої, дезокситаурохолевої).

Обмін метіоніну

Амінокислота метіонін є головним донором метильних груп для синтезу різних біологічно важливих сполук. Перенос метильних груп від метіоніну на інші речовини називається трансметилуванням. Каталізують цей процес ферменти метилтрансферази, коферментом яких є S-аденозилметіонін. Він утворюється в результаті взаємодії метіоніну з АТФ.

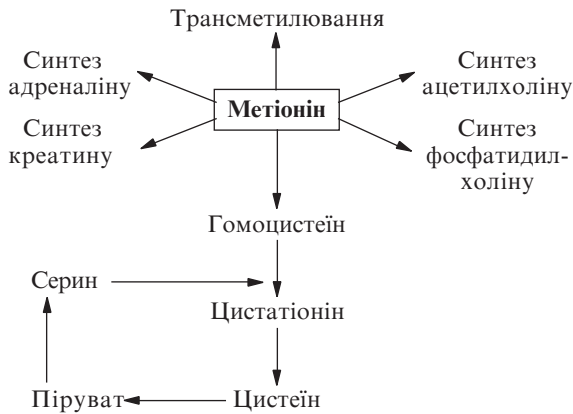
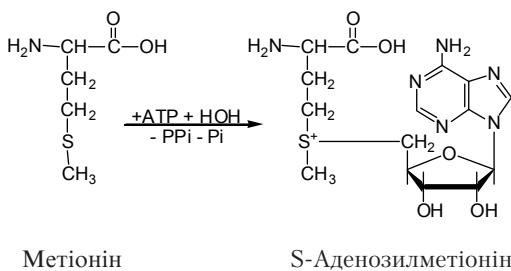
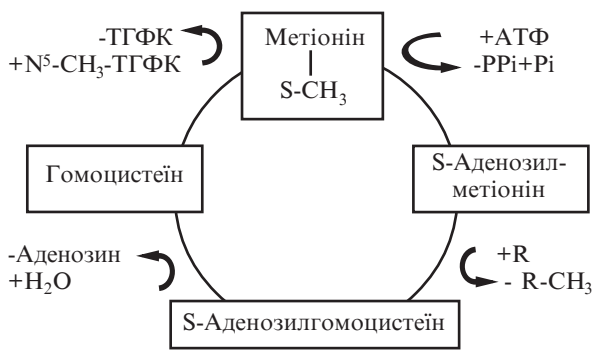
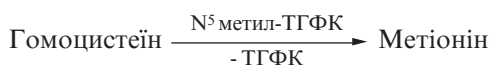


СХЕМА МЕТАБОЛІЗМУ S-АДЕНОЗИЛМЕТІОНІНУ



S-Аденозилметіонін є донором метильних груп у реакціях трансметилування при синтезі холіну, креатину, ансерину, N-метилнікотинаміду, адреналіну. Віддаючи метильну групу, метіонін перетворюється на гомоцистеїн, який може використовуватися так:

1. Знову перетворюється на метіонін, приєднуючи метильну групу від N⁵-метил-ТГФК:

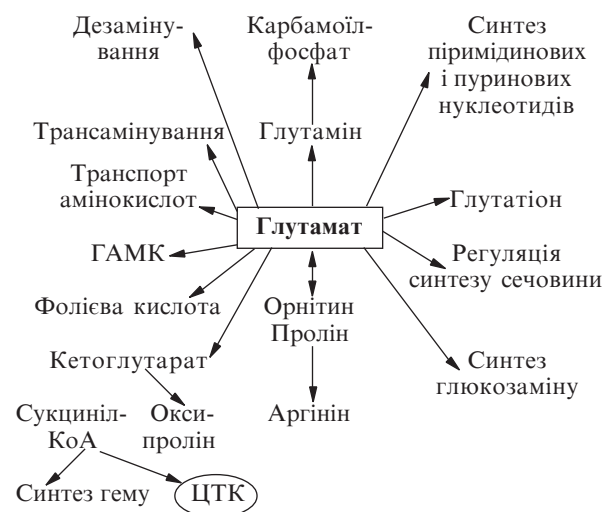


N⁵-метил-ТГФК є донором метильної групи тільки в даній реакції. В інших реакціях трансметилування донором метильних груп є звичайно метіонін.

2. Основний шлях перетворення гомоцистеїну — участь у синтезі цистеїну. При цьому гомоцистеїн взаємодіє з серином з утворенням цистатіоніну. Далі цистатіонін піддається гідролізу до гомосерину і цистеїну.

Обмін глутамінової й аспарагінової амінокислот

Обидві амінокислоти входять до складу різноманітних білків. Із глутамінової кислоти й NH₃ утворюється глутамін — транспортна форма NH₃ в організмі. Глутамін використовується для синтезу сечовини, пуринових нуклеотидів й інших сполук. Глутамінова кислота входить до складу ацетилглутамату (активатора карбамоїлфосфатсинтетази), трипептиду глутатіону, фолієвої кислоти.



Глутамінова кислота бере участь у непрямому дезамінуванні амінокислот (транздезамінуванні) і в синтезі амінокислот з α-кетокислот (трансреамінуванні).

При декарбоксілюванні глутамінової кислоти в головному мозку утворюється γ -амінонаслідна кислота (ГАМК) — один із медіаторів нервової системи. За участю ГАМК-трансамінази ГАМК перетворюється на напівальдегід бурштинової кислоти, що окиснюється в бурштинову кислоту, яка окиснюється в ЦТК із вивільненням енергії. Отже, глутамат на додаток до глюкози служить енергетичним матеріалом для тканини мозку.

Аспарагінова кислота також необхідна для синтезу пуринових нуклеотидів, бере участь у біосинтезі сечовини. При її декарбоксілюванні утворюється β -аланін, що посилює гальмування функції ЦНС, входить до складу пантотенової кислоти, коензиму А та інших сполук.

Обмін фенілаланіну і тирозину

Фенілаланін належить до незамінних амінокислот, тому що тканини тварин не здатні синтезувати його бензенове кільце. Тирозин є замінною амінокислотою при достатньому надходженні з їжею фенілаланіну.

В організмі вищих тварин і людини фенілаланін і тирозин використовуються в таких основних напрямках (рис. 11.4):

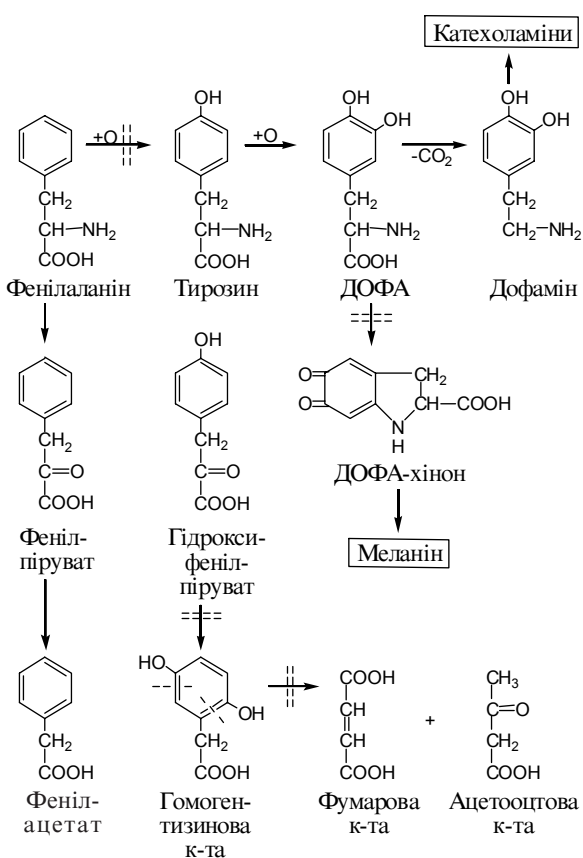


Рис. 11.4. Метаболізм фенілаланіну і тирозину

1. Фенілаланін перетворюється на тирозин шляхом гідроксилювання за участю ферменту фенілаланінгідроксилази, коферментом якого є НАДФ⁺. Він каталізує включення одного з атомів молекули кисню у створення гідроксильної групи, інший атом молекули кисню з'єднується з двома атомами Гідрогену з утворенням води. Ця реакція необоротна, тому синтез в організмі фенілаланіну з тирозину не відбувається.

2. Окиснення фенілаланіну й тирозину до кінцевих продуктів (CO₂ і H₂O) з розривом бензенового кільця. При цьому фенілаланін перетворюється на тирозин, а тирозин спочатку піддається трансамінуванню з α -кетоглутаровою кислотою, перетворюючись на гідроксифенілпіруват окиснюється до гідроксінонпірувату, який, декарбоксілюючись, перетворюється на гомогентизинову кислоту (гідроксінонцтову). Бензенове кільце гомогентизинової кислоти розривається, за участю кисню і води вона перетворюється на фумарову й ацетооцтову кислоти, які піддаються відомим уже перетворенням у ЦТК до CO₂ і H₂O.

Уроджений дефект ферменту окиснення гомогентизинової кислоти до фумарату й ацетоацетату спричинює розвиток захворювання алькаптонурії. При цьому гомогентизинова кислота виділяється з сечею, що при стоянні набуває чорного кольору.

3. Фенілаланін також може піддаватися трансамінуванню до фенілпірувіноградної кислоти, яка декарбоксілюється до фенілоцтової кислоти. Вона є токсичною для організму, тому з'єднується з глутаміном з утворенням фенілацетилглутаміну — нетоксичної для організму сполуки, що виводиться з сечею.

Фенілаланін в основному перетворюється на тирозин за участю ферменту фенілаланінгідроксилази, а незначна кількість його перетворюється на фенілпірувіноградну кислоту. При патологічному стані фенілкетонурії (уроджене порушення обміну речовин) в організмі не синтезується фенілаланінгідроксилаза. Тому фенілаланін перетворюється на фенілпірувіноградну кислоту, що нагромаджується в крові й призводить до розумової відсталості.

4. Утворення пігментів. При цьому тирозин під дією ферменту тирозинази окиснюється до дигідроксифенілаланіну (ДОФА), який окиснюється дегідруванням до ДОФА-хінону. З нього утворюються пігменти меланіни, які забарвлюють волосся, шкіру, сітківку ока.

5. Утворення біогенних амінів. При цьому фенілаланін і тирозин піддаються декарбоксілюванню, перетворюючись відповідно на біогенні аміни — фенілетиламін і тирамін.

6. Утворення гормонів. Із тирозину утворюються гормони мозкового шару надниркових залоз (адреналін і норадреналін) і гормони щитоподібної залози — трийодтиронін і тетрайодтиронін (тироксин).

Обмін триптофану

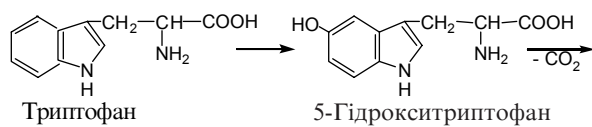
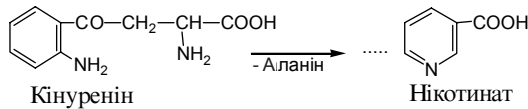
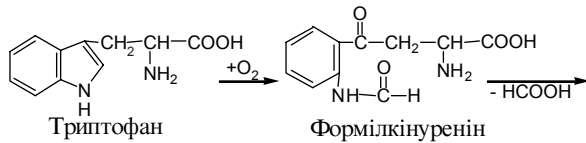
Триптофан належить до незамінних амінокислот. Ця амінокислота необхідна для утворення таких важливих біологічно-активних речовин, як нікотинова кислота (вітамін РР) і серотонін. Синтез нікотинової кислоти з триптофану перебігає в кілька етапів:

1. Окиснення триптофану з розривом пірольної частини індольного кільця. Продуктом даної реакції є формілкінуренін.
2. Гідроліз формілкінуреніну до кінуреніну й мурашиної кислоти.
3. Гідроліз кінуреніну до антранілової кислоти й α -аланіну.
4. Перетворення антранілової кислоти через кілька проміжних продуктів на нікотинову кислоту.

У звичайних умовах близько 95 % триптофану окиснюється по кінуреніновому шляху і не більше 1 % — по серотоніновому.

Перетворення триптофану на серотонін відбувається у два етапи:

1. Гідроксилювання триптофану до 5-гідрокситриптофану за участю ферменту триптофан-5-гідроксилази.
2. Декарбоксилювання 5-гідрокситриптофану до серотоніну (5-гідрокситриптаміну). Серотонін є одним із медіаторів нервової системи.



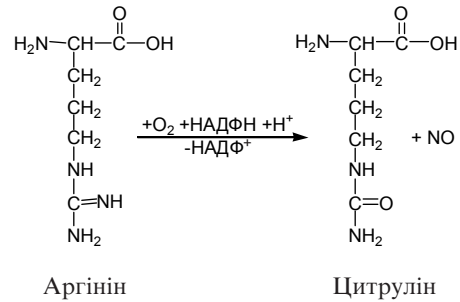
Метаболізм аргініну



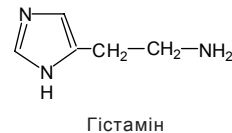
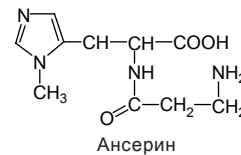
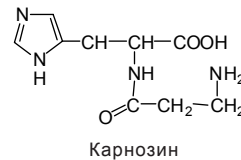
Аргінін — попередник оксиду азоту

Утворення оксиду азоту з аргініну здійснюється з використанням Ca^{2+} -залежної NO-синтази.

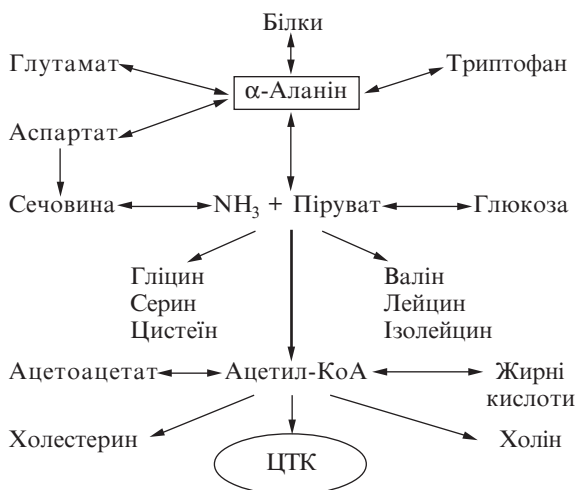
Ізофермент гуанілатциклази — цитозольний білок, який щільно асоційований з гемом (розчинний білок), активується оксидом нітрогену (II) і вазодилаторами — нітропохідними сполуками, такими як нітрогліцерин і нітропрурид (використовуються в лікуванні хвороб серця). Нітропохідні вазодилатори спонтанно розщеплюються, виділяючи NO. У серцевому м'язі цГМФ знижує силу серцевих скорочень за рахунок стимулювання іонних насосів, які зберігають низьку концентрацію Ca^{2+} в цитозолі. Це розслаблення серцевого м'яза таке ж саме, як при дії нітрогліцерину, який використовується для полегшення стенокардії, болю, спричиненого скороченням серця, позбавленого O_2 через те, що блокуються коронарні артерії. Оксид нітрогену — нестабільна сполука короткочасної дії — протягом кількох секунд після його утворення. Оксид нітрогену згодом піддається окисненню до нітрату або нітриту. Оскільки перетворення нітрогліцерину на NO відбувається повільно, то нітрогліцерин спричинює тривале (продлонговане) розслаблення серцевого м'яза.



Метаболізм гістидину



Метаболізм α -аланіну



Природжені порушення обміну окремих амінокислот

Фенілкетонурія (фенілпіровиноградна олигофренія) розвивається як результат втрати здатності організму синтезувати фенілаланінгідроксилазу, що каталізує перетворення фенілаланіну на тирозин. Особливістю хвороби є різке уповільнення розумового розвитку дитини.

Алькаптонурія характеризується екскрецією з сечею великих кількостей гомогентизинової кислоти, окиснення якої на повітрі надає сечі темного забарвлення. Хвороба пов'язана з природженою відсутністю в печінці та нирках оксидази гомогентизинової кислоти.

Альбінізм — природжена відсутність пігментів у шкірі, волоссі та сітківці. Метаболічний дефект пов'язаний з втратою меланоцитами здатності синтезувати тирозиназу — фермент, що каталізує окиснення тирозину в діоксифенілаланін і діоксифенілаланінхінон, які є попередниками меланіну.

Хвороба «кленового сиропу», при якій порушено декарбоксилювання лейцину, ізолейцину, валіну, тобто амінокислот із розгалуженим вуглецевим ланцюгом, що призводить до нагромадження в крові амінокислот і α -кетокислот, екскреції їх із сечею, що має запах кленового сиропу. Хвороба зустрічається рідко, виявляється в ранньому дитячому віці й призводить до порушення функції мозку і летального кінця, якщо не обмежити або повністю не виключити надходження з їжею лейцину, ізолейцину і валіну.

Анафілактичний шок і анафілактичні реакції зумовлені порушеннями обміну білків. Реакція антиген-антитіло призводить до активації L-гістидиндекарбоксилази і клітинних пептидів, що посилює утворення гістаміну з гістидину. У результаті надмірного синтезу гістаміну посилюються спазми гладкої мускулатури і підвищується проникність капілярів.

Активация клітинних пептидаз спричинює посилений розпад клітинних білків і утворення

великої кількості пептидів, деякі з яких мають токсичну дію. Токсичні пептиди викликають зміни з боку клітин (цитоліз) і сприяють збільшенню проникності капілярів.

У практичній медицині застосовують препарати гідролізатів білків і окремих амінокислот, серед яких:

Metionin, а також гідролізати, що містять його у великих кількостях, застосовуються як ліпотропні фактори і для лікування білкової недостатності при хронічних захворюваннях, для лікування хвороб печінки.

Цистеїн є замінною амінокислотою, може синтезуватися в організмі з використанням метіоніну. Цистеїн бере участь в обміні речовин кришталика ока. Зміни, що відбуваються при катаракті, пов'язані з порушенням вмісту цистеїну в кришталику. Тому пропонують застосовувати цистеїн для затримки розвитку катаракти і прояснення кришталика при початкових формах вікової, міопатичної, променевої та травматичної катаракти.

Широко використовуються в клініці **глутамат** і **аспарат** (останній у вигляді калієвих і магнієвих солей) — препарати «панангін» і «аспаркам».

У медичній практиці глутамат застосовують, головним чином, при лікуванні захворювань центральної нервової системи (нарівні з глутаматом також кальцію глутамат), глутамін використовують при кетонурії.

Сьогодні розробляються препарати сумішей кристалічних амінокислот, особливо незамінних, які в певних співвідношеннях застосовуються в чистому вигляді або як добавки до інших лікарських засобів природного походження.

Препарати гідролізатів білків. Шляхом кислотного або ферментативного гідролізу різних білків одержують препарати гідролізатів білків: гідролізін, гідролізат казеїну, церебролізін, амінокровін, фібриносол, амінопептид. Це розчини амінокислот і найпростіших пептидів, одержувані гідролізом білків тваринного або рослинного походження. Ці препарати компенсують білкове голодування організму, забезпечують рівновагу і навіть позитивний азотистий баланс у хворих після операції на шлунково-кишковому тракті, при тяжких опіках.

Розчини кристалічних амінокислот. Поліамін є розчином кристалічних амінокислот, які під час надходження до судинного русла відразу вступають у процеси синтезу. Вони позитивно впливають на білковий обмін, забезпечують збільшення маси тіла, мають дезінтоксикаційну дію (знижують вміст аміаку за рахунок утворення нетоксичних метаболітів глутаміну, сечовини). Амінокислотні суміші протипоказані при порушенні функції нирок і печінки, дегідратації (зневодненні), шоку, гострих гемодинамічних порушеннях і вираженій серцевій недостатності.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Пул вільних амінокислот в організмі: шляхи надходження та використання вільних амінокислот у тканинах.
2. Трансамінування амінокислот: реакції та їх біохімічне значення, механізми дії аміотрансфераз у тканинах.
3. Пряме та непряме дезамінування вільних L-амінокислот у тканинах.
4. Декарбоксилювання L-амінокислот в організмі людини. Фізіологічне значення утворених продуктів. Окиснення біогенних амінів.
5. Шляхи утворення та знешкодження аміаку в організмі.
6. Біосинтез сечовини: послідовність ферментних реакцій біосинтезу, генетичні аномалії ферментів циклу сечовини.
7. Загальні шляхи метаболізму вуглецевих скелетів амінокислот в організмі людини. Глюкогенні та кетогенні амінокислоти.
8. Біосинтез і біологічна роль креатину та креатинфосфату.
9. Глутатіон: будова, біосинтез і біологічні функції.
10. Спеціалізовані шляхи метаболізму циклічних амінокислот — фенілаланіну й тирозину.
11. Спадкові ензимопатії обміну циклічних амінокислот — фенілаланіну й тирозину.
12. Обмін циклічної амінокислоти триптофану та його спадкові ензимопатії.

Глава 12. ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ

**12.1. БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ
НУКЛЕОТИДІВ І НУКЛЕІНОВИХ
КИСЛОТ**

У 1868 р. швейцарський хімік Ф. Мішер уперше виділив з ядер лейкоцитів людини сполуки нового типу, до того часу невідомі, і дав їм назву нуклеїни (від лат. *nucleus* — ядро). Потім нуклеїни були одержані з ядерного матеріалу багатьох організмів. Пізніше Ф. Мішер встановив, що нуклеїн є складною сполукою, яка складається з кислого компонента з вмістом близько 10 % фосфору (він був названий нуклеїновою кислотою) та білкового компонента. Так були відкриті нуклеїнові кислоти і нова група складних білків — нуклеопротейнів.

До середини 80-х рр. XIX ст. нуклеїни були знайдені у складі хромосом, у зв'язку з чим сформувалося перше уявлення про їх важливу роль у передачі спадкових властивостей. Але воно не одержало подальшого розвитку, оскільки передачу генетичних властивостей пов'язували з молекулою білка. І тільки в 50-х рр. XX ст. були одержані експериментальні докази дуже важливої ролі нуклеїнових кислот (ДНК) у явищах спадковості (О. Евері, К. Мак-Леод, М. Мак-Карті, Ф. Гриффітс, А. Херші, М. Чейз та ін.).

**Загальна характеристика
будови нуклеїнових кислот**

Нуклеїнові кислоти — це високомолекулярні органічні сполуки, утворені великою кількістю залишків мононуклеотидів (нуклеотидів), з'єднаних 3',5'-фосфодіефірними зв'язками в полінуклеотидні ланцюги, які виконують важливу роль у збереженні й передачі генетичної інформації, беруть участь у біосинтезі та регуляції біосинтезу специфічних білків живого організму.

Нуклеотиди складаються з гетероциклічної основи, сполученої з вуглеводним залишком, етерифікованим, у свою чергу, фосфорною кислотою.

Дезоксирибонуклеїнові кислоти

Як і білки, ДНК мають первинну, вторинну і третинну структури.

Первинна структура ДНК — кількість, якість і порядок розташування залишків дезоксирибонуклеотидів у полінуклеотидному ланцюзі.

Вторинна структура ДНК — це просторова організація полінуклеотидних ланцюгів у її молекулі. Методами рентгеноструктурного аналізу доведено існування не менше чотирьох форм ДНК, які дістали назву А-, В-, С- і Т-форм. Нині відомо, що між А- і В-формами ДНК здійснюються взаємні переходи. В-форма ДНК найбільше відповідає моделі Дж. Уотсона і Ф. Кріка. Ці переходи, які відбуваються під впливом розчинників або білків, очевидно, мають певний біологічний зміст. Вважається, що в А-формі ДНК виконує роль матриці в процесі транскрипції (синтез РНК на молекулі ДНК), а в В-формі — роль матриці в процесі реплікації (синтез ДНК на молекулі ДНК). Для більшості молекул ДНК характерна подвійна спіраль, однак ДНК може мати й інші форми. Так, деякі віруси містять одноланцюгову ДНК, зустрічаються також кільцеві форми ДНК (плазмід).

Третинна структура ДНК. Дослідження будови ДНК показало, що лінійні двоспіральні або кільцеві форми ДНК у просторі утворюють спіралізовані й суперспіралізовані форми, тобто третинні структури. Третинна структура ДНК прокариотів і еукариотів має свої особливості, пов'язані з будовою та функціями їх клітин. Для третинної структури ДНК вірусів і бактеріофагів характерна наявність специфічної суперспіралізації одно- або дволанцюгових форм. Третинна структура ДНК еукариотичних клітин утворюється завдяки багаторазовій суперспіралізації молекули, однак, на відміну від прокариотів, вона реалізується у формі комплексів ДНК із білками.

В еукариотів майже вся ДНК знаходиться в хромосомах ядер, лише невелика її кількість міститься в мітохондріях, а у рослин — ще й у пластидах. Сумарний матеріал хромосом — хро-

матин — містить ДНК, гістонові й негістонові білки, невелику кількість РНК та іонів металів. Близько 50 % хроматину — це прості білки гістонони, які за вмістом залишків амінокислот аргініну і лізину поділяються на п'ять груп: Н1, Н2А, Н2В, Н3, Н4. Так, гістон Н1 дуже багатий на лізин, а гістон Н4 — на аргінін.

В організації хромосом виділяють три рівні, які відображають й рівні третинної структури ДНК. Перший рівень — нуклеосомний. Диспергований хроматин виглядає в електронному мікроскопі як ланцюжок намистинок-нуклеосом. Нуклеосома містить ДНК довжиною 160–240 пар нуклеотидів, одну молекулу гістону Н1 і по дві молекули інших груп гістонон (октет гістонон). Гістоновий октамер утворює ядро нуклеосоми, або нуклеосомний кор, на поверхню якого намотується ділянка ДНК довжиною 145–150 нуклеотидних пар.

Рибонуклеїнові кислоти

Первинна структура РНК — кількість, якість і послідовність розташування залишків рибонуклеотидів у полінуклеотидному ланцюзі.

Вторинна структура — це частково спіралізований колінеарний полінуклеотидний ланцюг РНК, якому властива своєрідна спіралізація: ланцюг закручується сам на себе, утворюючи короткі двоспіральні «шпильки», «петлі», у яких між азотистими основами виникають водневі зв'язки, що утворюють комплементарні пари аденіну з урацилом (А–У), гуаніну з цитозином (Г–Ц). Характерною особливістю вторинної структури РНК є те, що полінуклеотидний ланцюг її спіралізований не повністю (від 10 до 70 %).

12.2. БІОСИНТЕЗ І КАТАБОЛІЗМ ПУРИНОВИХ Й ПІРИМІДИНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ. СПАДКОВІ ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ

Нуклеотиди беруть участь у багатьох біохімічних процесах. Пуринові та піримідинові нуклеотиди є мономерами-попередниками у біосинтезі РНК і ДНК.

АТФ — це універсальне джерело енергії; цАМФ і цГМФ — це вторинні месенджери у передачі гормонального сигналу; коферменти ФАД, НАД⁺, НАДФ⁺ входять до складу ферментів; у складі S-аденозилметіоніну виконують функції переносників метильних груп; у вигляді УДФ-глюкози, УДФ-галактози, ЦДФ-ацилглицеролу використовуються в метаболічних перетвореннях. Пуринові та піримідинові основи, нуклеотиди, що потрапляють до організму людини з їжею, практично не є джерелом безпосередніх попередників нуклеїнових кислот тканин організму. Клітини людини синтезують попередники нуклеїнових кислот з амфіболічних проміжних сполук (шлях “de novo”). Швидкість син-

тезу пуринових і піримідинових рибонуклеотидів є об'єктом тонкої регуляції, яка забезпечує такий рівень продукції цих сполук, який задовольняє потреби організму, що весь час змінюються.

У клітинах (як і в травному каналі) нуклеїнові кислоти постійно піддаються атаці з боку різних нуклеаз. Так, важливим фактором у регуляції синтезу білків є швидке руйнування мРНК (рис. 12.1). Хоча ДНК досить стійка до дії нуклеаз, однак вони можуть видаляти ушкоджені фрагменти з одиночних ланцюгів, що необхідно при репарації ДНК. Деякі ферменти ендонуклеаз здійснюють гідроліз ДНК до олігонуклеотидів — вони називаються ДНК-азами. Відомі ДНК-аза I, що активна в нейтральному середовищі і гідролізує ланцюг ДНК між пуриновим і піримідиновим нуклеотидом, причому розрив відбувається між фосфатом і 3-гідроксилем дезоксири-

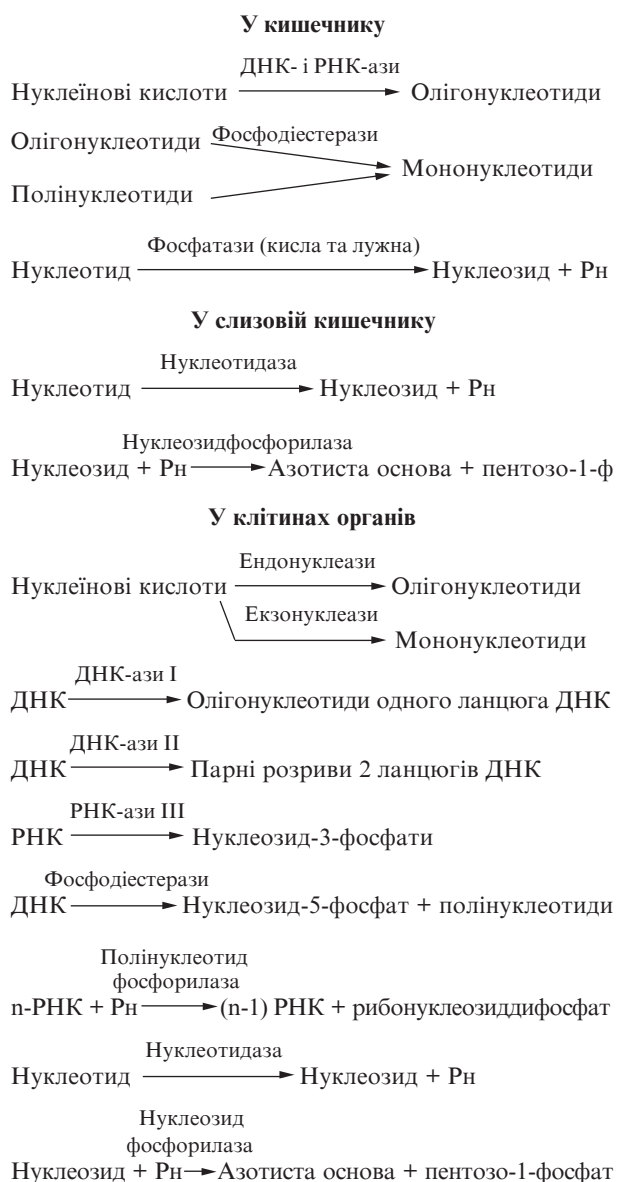


Рис. 12.1. Катаболізм нуклеотидів у клітинах і травному каналі

бози, а також ДНК-аза II, що функціонує в кислому середовищі й гідролізує парні зв'язки обох ланцюгів ДНК між фосфатом і 5'-гідроксилом дестерифікованих рибози і локалізована в лізосомах. Фосфодіестерази відокремлюють послідовно нуклеотиди від молекули ДНК. Крім гідролаз, розпад нуклеїнових кислот каталізують трансферази, що забезпечують перенос фосфату від атома Карбону С5 пентози одного нуклеотиду до атома Карбону С2 сусіднього нуклеотиду, що приводить до розриву міжнуклеотидного зв'язку й утворення фосфодієфірного зв'язку між С₂ і С₃ атомами одного нуклеотиду. Відомі ферменти рестриктази — це ферменти ДНК-азного типу, які каталізують розпад чужорідної ДНК у певних ділянках молекули, що мають структуру паліндромів.

Порівняно з ДНК, РНК менш стійка до гідролізу. Однорозривний луг гідролізує РНК до нуклеотидів. Розрив зв'язків відбувається між фосфатом і 5-гідроксилом рибози, у результаті чого утворюються нуклеозид-3-фосфати. Подібні ендонуклеази називають РНК-азами. Фосфодіестерази належать до екзонуклеаз, що відокремлюють послідовно нуклеозид-5-фосфати, починаючи з кінцевого. До ферментів, що здійснюють гідролітичний розпад ДНК і РНК, належать полінуклеотидфосфорилази і ДНК-глікозидази. Механізм дії полінуклеотидфосфорилази полягає в переносі нуклеотидних залишків від РНК на неорганічний фосфат і утворенні рибонуклеозиди-фосфатів.

Група ДНК-глікозидаз відщеплює модифіковані пуринові й піримідинові основи, ДНК-глікозидази беруть участь у репарації молекули ДНК.

Відбувається активне розщеплення полінуклеотидів на мононуклеотиди, що гідролізуються

потім нуклеотидазами до нуклеозидів і неорганічного фосфату. Нуклеозиди перетворюються на вільні основи і фосфопентози під дією нуклеозидфосфорилаз.

Розпад пуринових нуклеотидів

Пуринові нуклеотиди у клітинах гідролітично дезамінуються в оксипурини. Це може відбуватися ще до повного розщеплення молекули нуклеотиду на складові частини, тобто на рівні нуклеотидів і нуклеозидів, або після гідролізу.

Аденозин піддається гідролітичному дезамінуванню і перетворюється на інозин, що під дією нуклеозидфосфорилази утворює гіпоксантин і фосфопентозу. Перетворення гіпоксантину на ксантин і ксантину — на сечову кислоту відбувається під дією ксантиноксидази (молібден- і залізовмісного флавопротеїну). Рибозо-1-фосфат під дією фосфорибозилмутази перетворюється на рибозо-5-фосфат, субстрат для синтезу фосфорибозил-1-пірофосфату (рис. 12.2). Деякі пуринові основи використовуються для синтезу нуклеотидів (шлях регенерації, або «шлях збереження»).

Сечова кислота — основний кінцевий продукт катаболізму пуринових нуклеотидів в організмі людини і вищих тварин. За добу утворюється до 1 г сечової кислоти, що екскретується з сечею. У крові дорослої людини міститься 0,15–0,5 ммоль сечової кислоти, пов'язаної з білками крові, причому у чоловіків її на 15–25 % більше, ніж у жінок. Кетоформа сечової кислоти перебуває в рівновазі з енольною формою, що втрачає при фізіологічному значенні рН протон, утворюючи уратіон. При фізіологічних значеннях рН 98 % сечової кислоти перебуває в іонізованому

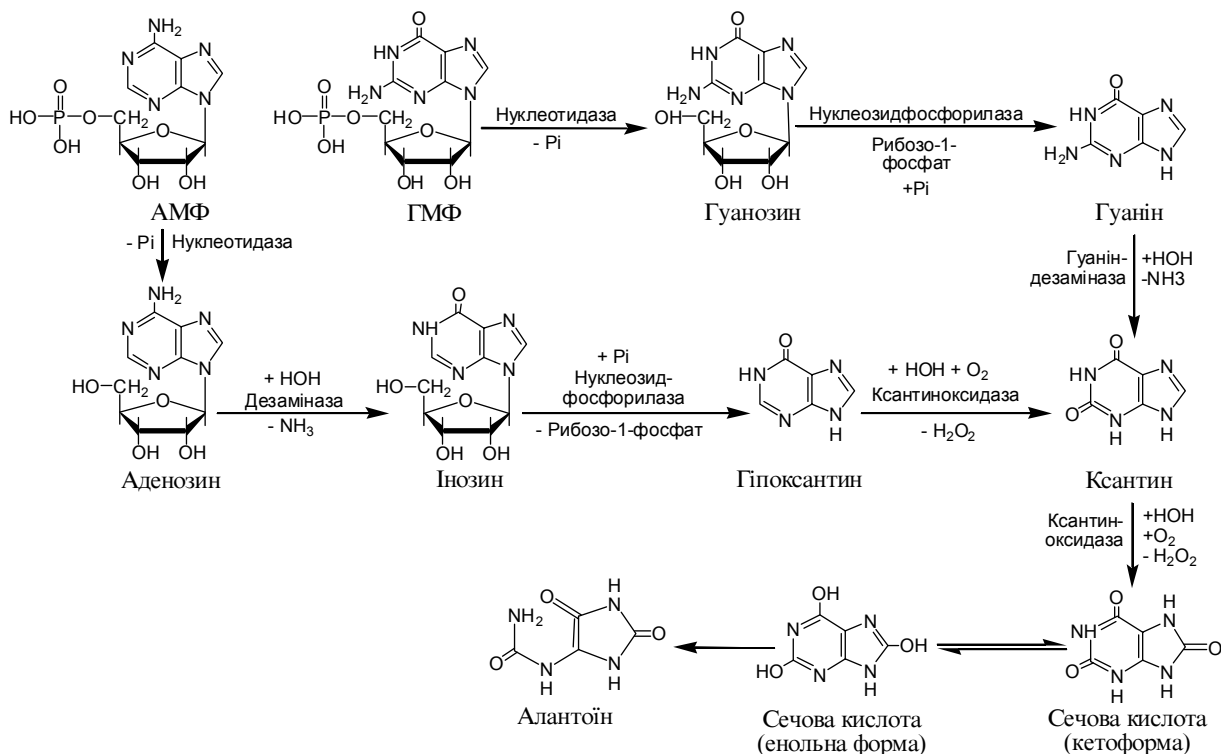


Рис. 12.2. Розпад пуринових нуклеотидів

стані, тобто у вигляді іона урату. У позаклітинній рідині, де основним катіоном є іон натрію, сечова кислота перебуває у вигляді розчину натрієвої солі — урату натрію. Ця сіль має низьку розчинність, насичення позаклітинної рідини відбувається, коли концентрація урату лише незначно перевищує межі норми. Тому у осіб із гіперурикемією є тенденція до утворення кристалів урату натрію.

Найяскравіший клінічний прояв цього процесу — захворювання *подагра*, при якому утворюються кристали урату натрію в хрящах, синовіальній оболонці й синовіальній рідині суглобів. Вважають, що урати фагоцитуються лейкоцитами, порушуючи при цьому проникність лізосомальних мембран, що веде до вивільнення лізосомальних ферментів, які руйнують клітини і сприяють розвитку запального процесу в суглобах. Крім дрібних суглобів, урати накопичуються в сухожиллях, хрящах, шкірі, деформуючи і порушуючи функцію суглобів. Відкладення уратів у нирках призводить до ниркової недостатності й нефролітіазису (утворення каменів у нирках). Сечова кислота виводиться через шлунково-кишковий тракт, ниркова екскреція становить приблизно дві третини від загальної екскреції. Сечова кислота, що виводиться в кишечник, під впливом бактерій перетворюється на CO_2 і NH_3 . Звичайно рівень уратів у плазмі людей обмежується ступенем їхньої розчинності.

Разюче збільшення рівня уратів відбулося при еволюції приматів. Чому ж у людей рівень уратів настільки високий, що балансує на межі виникнення подагри? Виявляється, що урати мають корисну дію, вони дуже ефективні «прибиральники сміття» високоактивних і токсичних похідних кисню: радикалів гідроксилу, супероксиданіону, синглетного кисню та похідних гему. Збільшення рівня уратів у людей порівняно з нижчими приматами може сприяти значному збільшенню тривалості життя і зниженню кількості випадків раку в людей. Приклади урату і білірубину показують, що деякі кінцеві продукти розпаду в організмі людини відіграють важливу роль як захисні агенти.

Одним з ефективних шляхів боротьби з подагрою є використання структурного аналога гіпоксантину — алопуринолу (атом Нітрогену з 7-го положення переміщений у 8-ме) — конкурентного інгібітора ксантиноксидази, внаслідок чого сечова кислота не утворюється, а нагромадження гіпоксантину не відбувається, тобто він має кращу розчинність і добре виводиться з організму.

Катаболізм піримідинових основ та урацилу

На I стадії відбувається відщеплення пентозофосфату, подальше його відновлення під дією НАДФН і перетворення на дигідроурацил, потім — розрив піримідинового кільця з утворенням CO_2 , аміаку та β -амінокислот.

NH_4^+ бере участь у синтезі сечовини; CO_2 — виводиться з організму або бере участь у реакціях карбоксилування. β -Аланін є кінцевим про-

дуктом розпаду урацилу, шляхом окисного розщеплення він може перетворюватися на напівальдегід малонової кислоти і малоніл-КоА, а також може бути використаний для біосинтезу пантотенової кислоти, КоА, карнозину, ансерину, колагену.

Розпад цитозину починається його дезамінуванням в урацил, надалі катаболізм іде по шляху катаболізму урацилу. Катаболізм тиміну аналогічний катаболізму урацилу, але супроводжується утворенням β -аміноізобутирату (рис. 12.3).

1-й етап



2-й етап

Розпад нуклеотидів на азотисті основи і пентозо-1-фосфат.

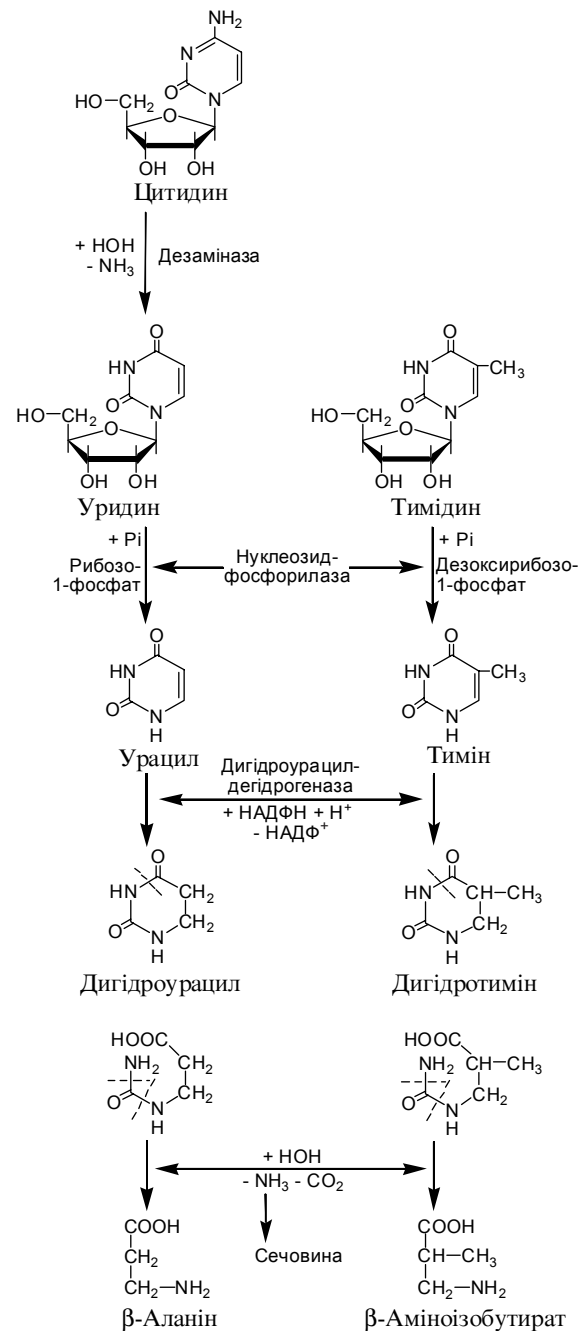
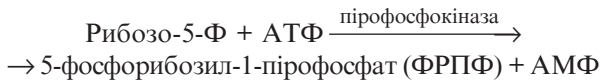


Рис. 12.3. Розпад піримідинових нуклеотидів

Біосинтез пуринових нуклеотидів (*de novo*)

Пуринові нуклеотиди, що утворюються в результаті перетравлювання нуклеопротейнів у шлунково-кишковому тракті, для синтезу нуклеїнових кислот у клітинах органів і тканин практично не використовуються. Синтез їх здійснюється з низькомолекулярних сполук екзогенного або ендogenous походження, які не лімітують утворення пуринових нуклеотидів. Єдиною незамінною сполукою екзогенного походження є тетрагідрофолієва кислота, що постачає формільні групи для синтезу пуринового кільця. Характерною рисою цього синтезу (*de novo*) є те, що починається він з активації фосфопентози, яка утворюється в пентозофосфатному шляху (ПФШ) (рис. 12.4).



Відбувається взаємодія ФРПФ із глутаміном, що є донором аміногрупи, і за участю ФРПФ-амідотрансферази утворюється 5-фосфорибозил-1-амін. Цей атом Нітрогену є 9-м атомом пуринової основи, що будується на «фундаменті» з фосфорибози.

Надалі до аміногрупи фосфорибозил-1-аміну за участю АТФ і Mg^{2+} приєднується молекула гліцину, що формує C_4 , C_5 і N_7 пуринового кільця, форміл-тетрагідрофолієвої кислоти, що дає C_8 , і глутаміну, що утворює N_3 , а також форміл-тетрагідрофолієвої кислоти, що утворює C_2 , і аспаргінової кислоти, що утворює N_1 . Атом Карбону C_6 має джерелом CO_2 . У результаті утворюється ІМФ — попередник пуринових нуклеотидів.

Перетворення ІМФ на ГМФ і АМФ відбувається в такий спосіб (рис. 12.5):

Перетворення АМФ і ГМФ на відповідні нуклеозидди- і трифосфати перебігає за участю нуклеозидмонофосфат і нуклеозиддифосфаткіназ:

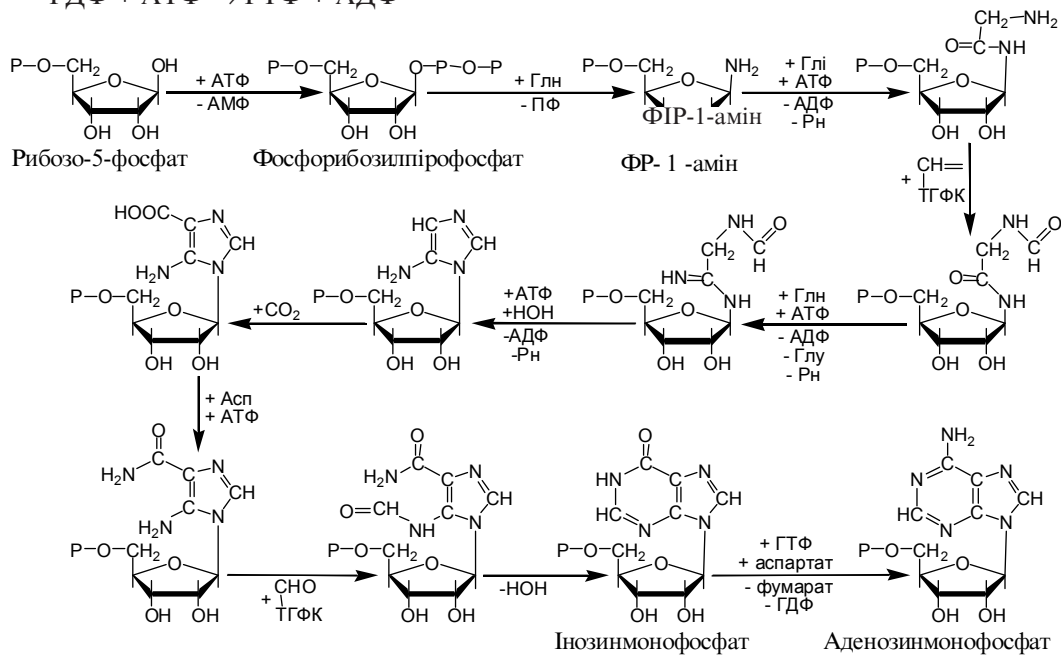
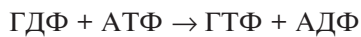
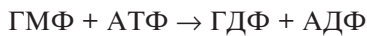


Рис. 12.4. Схема синтезу пуринових нуклеотидів (*de novo*)

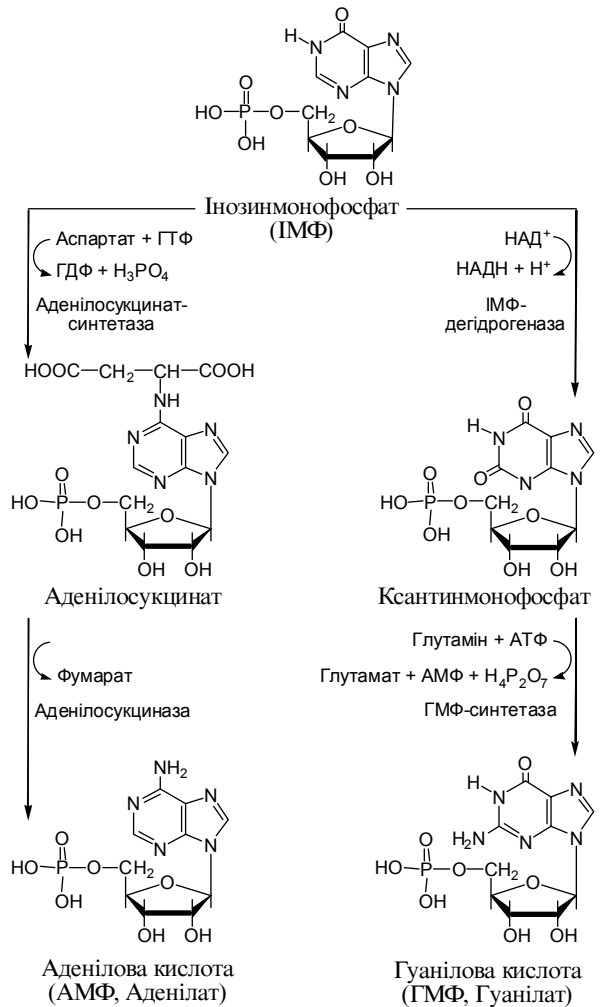


Рис. 12.5. Утворення аденілату й гуанілату з інозиномонофосфату (печінка)

Регуляція синтезу пуринових нуклеотидів

1. Синтез пуринових нуклеотидів регулюється за принципом зворотного зв'язку: а) нагромадження нуклеозидмонофосфатів (ІМФ, АМФ, ГМФ) приводить до зниження утворення ФРПФ і фосфорибозиламіну; б) нагромадження АМФ блокує його утворення з ІМФ. Аналогічно поводитися ГМФ. ФРПФ-амідотрансфераза алостерично інгібується надлишком кінцевих продуктів синтезу, причому надлишок ГМФ гальмує тільки синтез гуанілових нуклеотидів, не впливаючи на синтез аденілових, і навпаки.

2. «Перехресна» активація: АТФ активує утворення ГМФ з ІМФ, а ГТФ — утворення АМФ з ІМФ.

3. «Полегшений» синтез пуринових нуклеотидів відбувається з ФРПФ і вільних пуринових азотистих основ, які утворюються при розпаді нуклеотидів і нуклеїнових кислот в організмі, або надходять із їжею — «реутилізація» основ. Саме так відбувається синтез пуринових нуклеотидів під дією відповідних фосфорибозил-трансфераз у пухлинах і тканинах, що регенерують (рис. 12.6).

Зустрічається тяжка форма гіперурикемії — синдром Леша — Ніхана, що передається за рецесивним принципом, зчепленим із Х-хромосою. Тому даний синдром проявляється у хлопчиків у вигляді церебральних паралічів, порушення інтелекту, він пов'язаний із порушенням функції гіпоксантин-гуанін-фосфорибозилтрансферази, що забезпечує перетворення гіпоксантину і гуаніну на ІМФ і ГМФ, внаслідок чого ці азотисті основи не використовуються для синтезу нуклеотидів, а перетворюються на сечову кислоту.

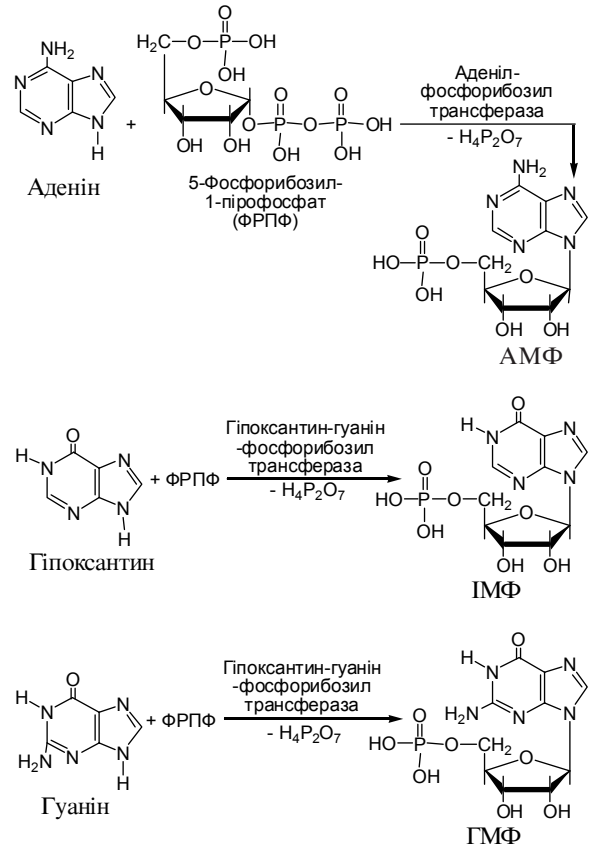


Рис. 12.6. Шлях регенерації пуринових нуклеотидів

Спочатку під дією цитоплазматичної карбамоїлфосфатсинтетази із CO₂ і глутаміну утворюється карбамоїлфосфат. Потім у клітинах відбувається взаємодія аспартату і карбамоїлфосфату під впливом аспартаткарбамоїлтрансферази з негайною циклізацією шляхом елімінації води.

Дигідрооротат окиснюється флавопротеїном за участю НАД⁺, у результаті чого утворюється оротова кислота, яка з'єднується з фосфорибозил-1-пірофосфатом, а згодом — оротидин-5-фосфат, піддаючись декарбоксілюванню, перетво-

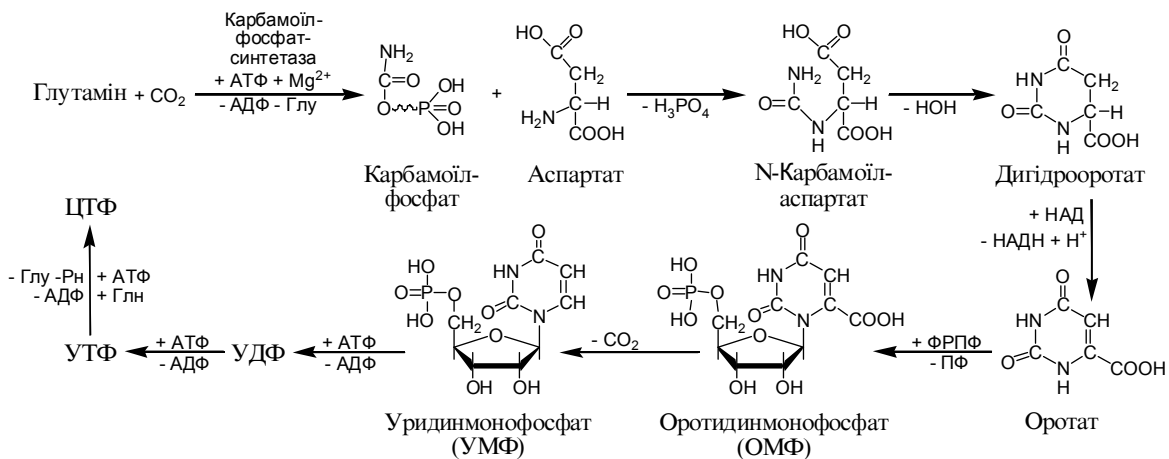


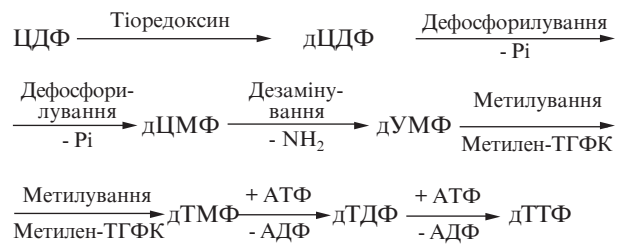
Рис. 12.7. Біосинтез піримідинових нуклеотидів

рюється на уридин-5-фосфат. Дворазове фосфорилування за участю АТФ приводить до утворення УТФ (рис. 12.8).

Цитозинові нуклеотиди утворюються з УТФ шляхом амінування за участю АТФ. Донором азоту служить амідна група глутаміну. Так, ЦТФ є негативним модулятором аспартаткарбамоїлтрансферази і за принципом зворотного зв'язку інгібує синтез піримідинових нуклеотидів; ЦТФ дефосфорилується з утворенням ЦДФ, що служить головним попередником дЦДФ і ТДФ.

Утворення дезоксирибонуклеотидів

Рибонуклеозиддифосфати перетворюються на дезоксирибонуклеозиддифосфати за участю НАДФН флавопротеїну тіоредоксину (який існує в окисненій і відновленій формах) і рибонуклеотидредуктази. Донором водню в реакції утворення дезоксирибонуклеотиду служить низькомолекулярний білок тіоредоксин (SH)₂.



Тіоредоксин містить дві вільні SH-групи, які легко окиснюються, перетворюючись на S-S-форму, для відновлення якої є ФАДвмісний фермент тіоредоксинредуктаза, що потребує для своєї редукції наявності НАДФН + H⁺.

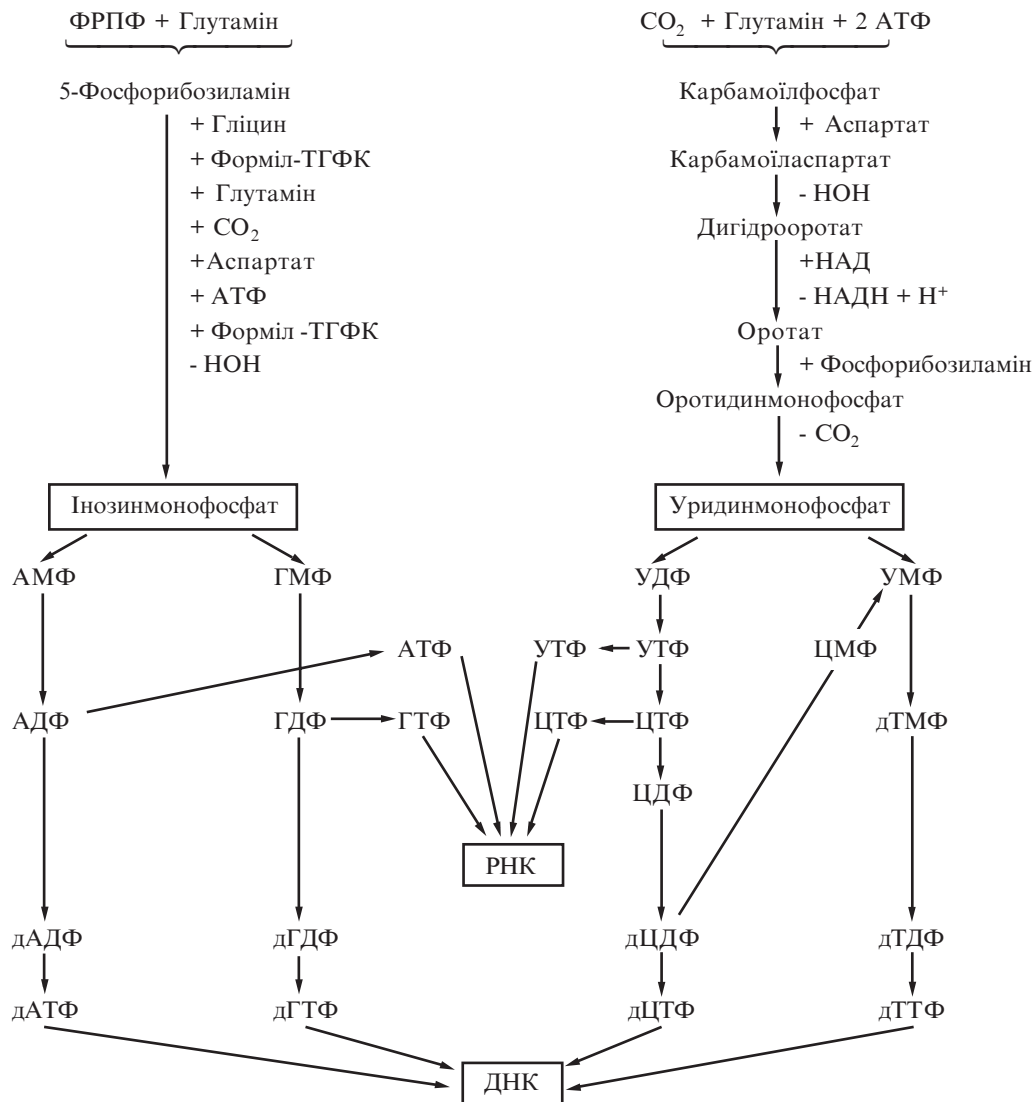
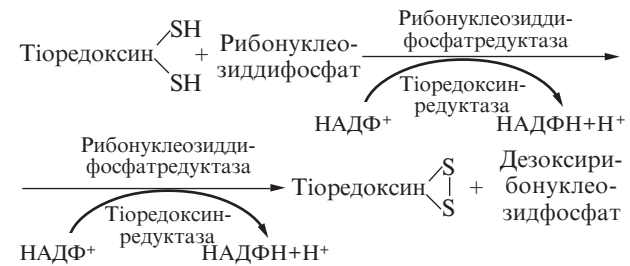
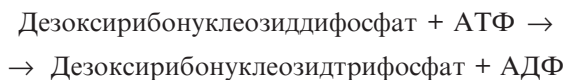


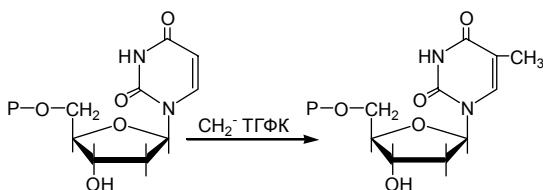
Рис. 12.8. Взаємоперетворення нуклеотидів і їх участь у синтезі нуклеїнових кислот

Дезоксирибонуклеозиддифосфати за участю кіназ перетворюються на дезоксирибонуклеозидтрифосфати:

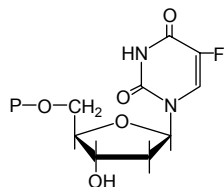


Біосинтез тимідилових нуклеотидів

Тимідилова кислота (дТМФ) утворюється з дезоксиуридиллової кислоти (дУМФ) за допомогою тимідилатсинтази. У цій реакції донором одновуглецевого фрагмента служить $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -метилен- H_4 -фолат, що перетворюється на дигідрофолат (H_2 -фолат).

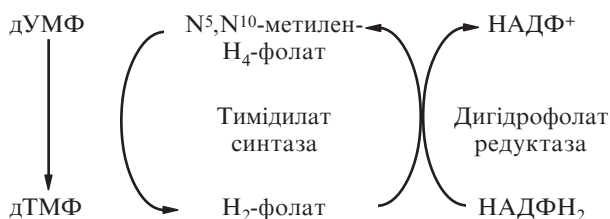


Інгібітори синтезу дезоксирибонуклеотидів унеможливають реплікацію ДНК і поділ клітини. На цьому засновано застосування інгібіторів тимідилатсинтази — 5-фтордезоксиуридину, що у клітинах перетворюється на 5-фтордезоксиуридинмонофосфат. Ця речовина є структурним аналогом тимідилової кислоти, інгібує тимідилатсинтазу, блокуючи тим самим синтез ДНК.



5-Фтордезоксиуридинмонофосфат

Інша мішень дії інгібіторів синтезу дТМФ — регенерація метилен- H_4 -фолату.



Деякі структурні аналоги фолієвої кислоти (аміноптерин, метатрексат) інгібують дигідрофолатредуктазу, блокуючи тим самим синтез дТМФ і ДНК.

Регуляція синтезу піримідинових нуклеотидів

1. На етапі утворення карбамоїлфосфату відбувається інгібування надлишком УТФ і ак-

тивація ФРПФ. Цей шлях є основним в організмі людини. Аlostеричним інгібітором ферменту є кінцеві продукти синтезу: УТФ, ЦТФ. Фосфорибозил-1-пірофосфат (ФРПФ) і АТФ збільшують активність ферменту, що є одним із механізмів забезпечення координування синтезу пуринів і піримідинів.

2. Ще один рівень контролю здійснюється за допомогою ОМФ-декарбоксілази, для якої УМФ і меншою мірою ЦМФ є інгібіторами. На етапі утворення карбамоїласпартату з аспартату і карбамоїлфосфату негативним аlostеричним ефектором є ЦТФ і позитивним модулятором — АТФ.

3. Пригнічення синтезу дТМФ:

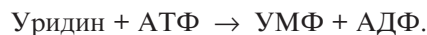
а) структурні аналоги дУМФ (5-фторурацил) конкурентно зв'язуються з тимідилатсинтазою і перешкоджають утворенню тимідилових нуклеотидів і ДНК у цілому;

б) структурні аналоги птерину (аміноптерин, метотрексат) конкурентно пригнічують функцію дигідрофолатредуктази, яка відновлює фолієву кислоту, необхідну для утворення метилен-ТГФК і перетворення дУМФ на дТМФ.

Порушення метаболізму піримідинів

Оротацидурія — виділення з сечею великих кількостей оротової кислоти. Відома спадкова оротацидурія, при якій виділяється до 1,5 г оротової кислоти за добу — це в 1000 разів більше, ніж у нормі. Хвороба пов'язана з недостатністю ферментів, які каталізують дві останні реакції синтезу УМФ (оротатфосфорибозилтрансферази й оротидилфосфатдекарбоксілази). У результаті виникає недостатність піримідинових нуклеотидів, необхідних для синтезу нуклеїнових кислот («піримідиновий голод»), а оротова кислота нагромаджується. При охолодженні організму таких хворих у них утворюється осад кристалів оротової кислоти.

Нагромадженню оротової кислоти сприяє відсутність регульовальної дії ЦМФ, аlostеричного інгібітора першої реакції синтезу, оскільки концентрація в тканинах ЦМФ й інших піримідинових нуклеотидів низька. Тому синтез оротової кислоти відбувається з більшою швидкістю, ніж у нормі. За відсутності лікування спадкова оротацидурія призводить до розвитку необоротного різкого відставання розумового і фізичного розвитку. Для лікування цього захворювання застосовують уридин, що забезпечує утворення УМФ:



Утворений УМФ включається в механізм інгібування першої реакції біосинтезу УМФ, а також усуває «піримідиновий голод». Лікування повинне тривати все життя. Оротацидурія може спричинити лікарський препарат алопуринол при лікуванні подагри, що приєднується до 5-фосфорибозил-1-пірофосфату (ФРПФ). Утворений нуклеотид інгібує оротидилатдекарбоксілазу, спричинюючи цим оротацидурію й оротидурію.

12.3. ФЕРМЕНТИ ТА МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РЕПЛІКАЦІЇ ДНК. ТРАНСКРИПЦІЯ — БІОСИНТЕЗ РНК

Створення і передача генетичної інформації є провідними ланками стабільності спадкових ознак. Розрізняють три етапи реалізації генетичної інформації.

I етап — реплікація (або копіювання) ДНК — утворення дочірніх молекул ДНК за правилом комплементарності, первинна структура яких ідентична материнській ДНК (*напівконсервативний метод*). Реплікація є основою таких процесів, як *рекомбінація, транспозиція і репарація*.

II етап — транскрипція — синтез молекули РНК на матриці ДНК за правилом комплементарності, тобто відбувається переписування генетичної інформації, закладеної в нуклеотидній послідовності ділянки одного з ланцюгів ДНК, у нуклеотидну послідовність мРНК.

III етап — трансляція — переклад генетичної інформації, закладеної в нуклеотидній послідовності мРНК, на амінокислотну послідовність білка, синтезованого на рибосомі. Потік генетичної інформації, позначений як *експресія генів*, включає II етап — процес транскрипції й III етап — процес трансляції.

Ядерний хроматин і хромосоми еукаріот

В ядрі еукаріот міститься майже вся ДНК клітини, яка має лінійну структуру. Перші етапи синтезу здійснюються в *ядерці*, яке знаходиться всередині ядра. В іншій частині ядра міститься *хроматин*, названий так за його здатність набувати характерного забарвлення. Хроматин складається з ДНК (близько 35 %), РНК (близько 2 %) і деяких специфічних білків (близько 60 %). У хроматині ДНК міцно зв'язана з *гістонами* — білками, функція яких полягає в щільній упаковці ДНК в ядрі. Завдяки цьому 46 молекул ДНК диплоїдного геному людини загальною довжиною близько 2 м, які містять сумарно $6 \cdot 10^9$ пар основ, можуть розміститися в ядрі діаметром 10 мкм. По дві молекули кожного з гістонів H2 α , H2 β , H3 та H4 утворюють октамер, обгорнутий сегментом ДНК довжиною 146 пар основ, які являють собою 1,8 витка спіралі поверх білкової структури. Ця частинка діаметром 7 нм називається *нуклеосомаю*. Нуклеосома — це структурна одиниця хроматину, яка виконує, головним чином, функцію щільної упаковки.

Ділянка ДНК, яка безпосередньо не контактує з *гістоновим октамером*, взаємодіє з гістоном H1. Цей білок закриває приблизно 20 пар основ і забезпечує формування суперспіральної структури — *соленоїда* — діаметром 30 нм. У проміжках між поділами клітин хроматин розподіляється випадковим чином по всьому ядру, а безпосередньо перед поділом збирається у гранулярні тільця — *хромосоми*. Коли хроматин конденсується з утворенням метафазної хромосоми, соленоїдні структури утворюють петлі діаметром 200 нм, які містять ДНК довжиною 80 000 пар основ. Петлі зв'язані з білковим остовом — *ядерним*

остовом, приблизно 20 петель утворюють міні-диски. Велика кількість *міні-дисків* складається в стопку, утворюючи хромосома. Внаслідок цього ДНК виявляється скрученою настільки щільно, що навіть найменша хромосома людини містить близько 50 млн пар нуклеотидів.

Група *негістонових білків* включає *структурні ядерні білки*, велику кількість *ферментів і факторів транскрипції*, пов'язаних із певними ділянками ДНК, які здійснюють регуляцію експресії генів.

Під час інтерфази більша частка хроматину неконденсована. Морфологічно розрізняють *еухроматин* і *гетерохроматин* — більш конденсований, ніж еухроматин. Еухроматин відповідає ділянкам хромосом з активною транскрипцією. Характеристика хромосомного набору видоспецифічна, тобто властива тільки одному виду рослин чи тварин. Сукупність кількісних (кількість і розмір) і якісних (форма) ознак хромосомного набору соматичної клітини називають *каріотипом*. Кількість хромосом у каріотипі більшості видів живих організмів парна. Це пояснюється тим, що в соматичних клітинах знаходяться дві однакові за формою і розміром хромосоми: одна — з батьківського організму, друга — з материнського. Хромосоми, однакові за формою та розміром, та ті, що несуть однакові гени, називають *гомологічними*. Хромосомний набір соматичної клітини, в якій кожна хромосома має свою пару, носить назву подвійного (*диплоїдного*) і позначається 2n.

Ковалентна модифікація гістонів

Гістони виявлені в хроматині всіх соматичних клітин еукаріотів (крім прокаріотів), завдяки високому вмісту основних амінокислот (аргініну та лізіну) виявляють лужні властивості. При pH=7 бокові групи залишків аргініну та лізіну протоновані й несуть позитивний заряд. Гістони з'єднуються з негативно зарядженою дволанцюговою ДНК з утворенням ДНК-гістонового комплексу, стабілізованого силами електростатичного притягання.

Гістони в октамері мають рухливий N-кінцевий фрагмент із 20 амінокислот, який виступає з нуклеосоми і є важливим для підтримання структури хроматину і контролю за генною експресією. Вони блокують транскрипцію (репресія), тобто не дають використовувати ділянки ДНК як матрицю для копіювання. Дерепресія транскрипції можлива, якщо ослабити зв'язок гістонів із ДНК за допомогою модифікації гістонів, яка змінює їх заряд і конфігурацію. Так, формування хромосом пов'язано з *фосфорилуванням гістонів*, а посилення транскрипції — з *ацетилюванням* залишків лізіну.

Ацетилювання гістонів — це процес, який починається в цитоплазмі внаслідок ацетилювання серину з N-кінця гістону H4 і завершується в ядрі, де ацетилюються переважно бокові радикали залишків лізіну. Зрештою ацетилювання приводить до зменшення позитивного заряду гістонів і розпушення комплексів гістон-ДНК.

Фосфорилювання-дефосфорилювання гістонів здійснюється в цитоплазмі та ядрі (гідроксильні групи серину у треоніну гістонів H1, H3).

Негістонові білки підлягають ковалентній модифікації значно більшою мірою, ніж гістони. **Ацетильні, фосфорні, метильні, глікозильні, АДФ-рибозильні радикали** з'єднуються з боковими ланцюгами амінокислотних залишків у поліпептидних ланцюгах. Протягом різних фаз клітинного циклу закономірності ковалентної модифікації гістонів і негістонових білків можуть бути різними.

Синтез ДНК і S-фаза клітинного циклу

У тваринних клітинах, у тому числі в клітинах людини, реплікація ДНК-геному здійснюється у певний період **клітинного** (мітотичного) **циклу**, який називають **синтетичним**, або **S-фазою**. Зазвичай вона відокремлена від мітотичної фази несинтетичними періодами G₁ (від англ. *gap* — проміжок) і G₂, які знаходяться до та після S-фази. У тваринних клітин інтервал між мітозами (клітинний цикл) дорівнює приблизно 24 год. За цей час клітина проходить чотири фази життєвого циклу:

— **G₁-фазу** початкового росту, де відбувається синтез мРНК, білків та інших компонентів клітини. У деяких клітин у клітинному циклі може бути відсутня G₁-фаза. Клітини, які пройшли диференціацію і більше не поділяються, постійно знаходяться у **фазі спокою G₀**. За умов стимуляції мітогенезу (факторами росту, онкогенними вірусами) спочиваючі клітини можуть повернутися до стану, який властивий G₁. Якщо такі клітини пройдуть **критичну точку**, вони вступають до S-фази;

— **S-фазу** — подвоєння молекул ДНК (реплікацію);

— **G₂-фазу**, яка є кінцевим етапом підготовки клітини до поділу;

— **M-фазу** клітинного поділу (поділ хромосом, клітин).

Сукупність фаз G₁, G₀, S та G₂ носить назву **інтерфазу**. У клітинному циклі інтерфаза змінюється на суттєво коротшу фазу мітозу.

Біохімічні механізми контролю за вступом клітини до мітозу

Регуляція клітинного циклу здійснюється за допомогою ковалентної модифікації (фосфорилювання/дефосфорилювання) регуляторних білків, які беруть участь у **мітозі**, наприклад, вхідного до складу хроматину **гістону H₁**, **ламіну** (компонента цитоскелета), **факторів транскрипції**, **білків мітотичного веретена** і деяких ферментів. Фосфорилювання цих білків запускає процес **мітозу**.

Ключовим білком, який регулює вступ клітини до мітозу (G₂/M-перехід), є **серин-треонін-протеїнкіназа**, яка включає регуляторну субодиницю — **циклін** і каталітичну субодиницю — **циклін-залежну кіназу cdk** (від англ. *cyclin dependent kinase*). Молекула будь-якої cdk складається

тільки з однієї субодиниці, яка сама по собі неактивна. Для активації cdk потрібне зв'язування з нею спеціального білка — **цикліну**. Термін «циклін» відображає той факт, що концентрація **циклінів** у клітині протягом клітинного циклу змінюється **циклічно**.

Після завершення мітозу регуляторна субодиниця **циклін** взаємодіє з убіквітином — низькомолекулярним пептидом, який є універсальним лігандом і «помічає» білки, які підлягають подальшому розщепленню.

Контроль клітинного циклу

У ході клітинного циклу відбувається **самоконтроль власного стану**. Контролю піддається стан спадкового матеріалу — хромосом. Залежно від результатів, обирається один із трьох варіантів:

— **перехід** до наступної стадії циклу;

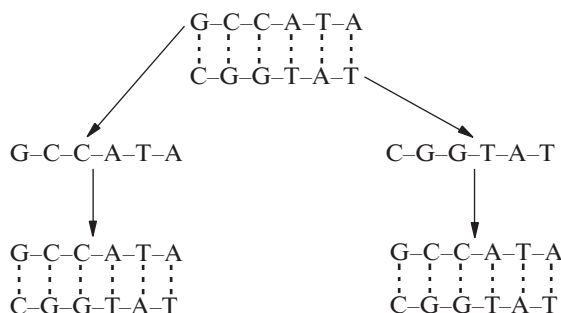
— більш-менш тривала **затримка** на поточній стадії — для виправлення виявлених дефектів, якщо це можливо;

— запуск механізму **апоптозу**, якщо виявлені порушення невиправні.

У нормі протягом ембріогенезу і розвитку відбувається швидка проліферація клітин. Вони можуть втрачати свою властивість контролювати клітинний цикл, що призводить до нерегульованого росту клітин, тобто до раку. Гени, чії продукти беруть участь у регуляції клітинної проліферації, називають **протоонкогенами**. Мутація цих генів призводить до підвищення неконтрольованої проліферації клітин, отже, протоонкоген може стати онкогеном.

Реплікація ДНК

Відповідно до гіпотези Уотсона — Кріка, кожен із ланцюгів подвійної спіралі ДНК є матрицею для реплікації комплементарних дочірніх ланцюгів. Структура подвійної спіралі дозволяє представити простий механізм реплікації ДНК: подвійна спіраль спочатку розкручується, ланцюги розходяться, а потім кожна одноланцюгова половина молекули ДНК добудовується до цілої, дволанцюгової молекули. Найвні нуклеотидні ланцюги є матрицею для синтезу нових ланцюгів; у результаті виходять дві дволанцюгові молекули ДНК, повністю ідентичні вихідній молекулі. Такий спосіб реплікації дістав назву **напівконсервативного**.



Відзначимо найважливіші особливості реакції.

1. Як субстрати використовуються трифосфати дезоксирибонуклеозидів (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ). У ході реакції від кожного з них відщеплюється пірофосфатний залишок.

2. Реакція йде тільки в присутності вже готової ДНК, що виконує роль матриці. Синтез нового ланцюга ДНК відбувається в напрямку $5' \rightarrow 3'$, тобто ДНК-полімераза послідовно приєднує нуклеотиди до $3'$ -ОН групи одного з ланцюгів «запалу» (або ланцюга РНК). Розрізняють етапи: ініціацію, елонгацію, термінацію.

3. У молекулі ДНК нуклеотидні залишки утворюють пари $A=T$ і $G=C$, у реакції витрачаються однакові кількості дАТФ і дТТФ (стехіометричний коефіцієнт m) і однакові кількості дГТФ і дЦТФ (стехіометричний коефіцієнт n).

4. Джерелом енергії в реакції полімеризації мононуклеотидів є енергія, що утворюється при розщепленні пірофосфату за участю пірофосфатази.

5. Необхідна наявність специфічних ферментів: ДНК-залежної РНК-полімерази (праймази), ДНК-полімераз, ДНК-лігази, хеліказ, гіраз, рибонуклеази Н, а також специфічних білків (вони перешкоджають ренатурації, тобто повторному об'єднанню материнських ланцюгів). Весь комплекс ферментів і факторів реплікації називається ДНК-репліказною системою (реплісомою). Особливістю ДНК-репліказної системи є те, що ДНК-полімераза не може синтезувати повністю новий ланцюг ДНК, а може тільки приєднувати дезоксинуклеозидтрифосфати до вже існуючого ланцюга (рис. 12.9).

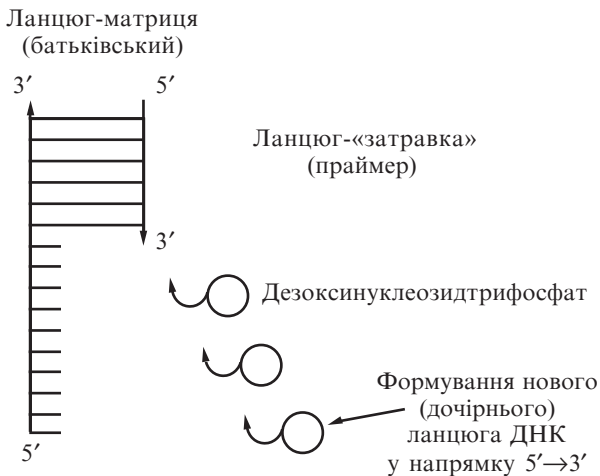


Рис. 12.9. Синтез нового (дочірнього) ланцюга ДНК

Новий («дочірній») ланцюг ДНК утворюється від $3'$ -ОН групи нуклеотидного ланцюга «запалу» (прайма) — це ланцюг РНК, що складається з 10–60 нуклеотидів, комплементарний ланцюгу ДНК. Синтез праймера здійснюється за допомогою ферменту ДНК-залежної РНК-полімерази (праймази).

Ферменти реплікації ДНК у прокаріотів

ДНК-полімераза I каталізує відщеплення праймера і добудовує невеликі фрагменти ланцюга на місцях праймерів.

ДНК-полімераза II бере участь у репарації («ремонтних роботах»), тобто виправляє помилки в ланцюгах ДНК.

ДНК-полімераза III має $5' \rightarrow 3'$ полімеразну і $3' \rightarrow 5'$ нуклеазну активності, тобто синтезує головну частину дочірніх ланцюгів ДНК.

Синтез ДНК на матриці ДНК

ДНК є молекулами з подвійною спіраллю, ланцюги яких антипаралельні, тому реплікації повинен передувати поділ ланцюгів материнської дволанцюгової ДНК.

1. Розкручування подвійної спіралі й утримання двох ланцюгів на деякій відстані один від одного здійснюється за допомогою кількох ферментів і білків:

— ферменти топоізомерази й особливо ДНК-гіраза прокаріотів (від англ. *gyration* — обертання) забезпечують у ланцюгах ДНК розриви водневих зв'язків між полінуклеотидними ланцюгами, що передують їхньому подальшому розкручуванню;

— ферменти хелікази (від англ. *helix* — спіраль) розплітають короткі ділянки ДНК, утворюючи реплікаційну вилку (від англ. *replication* — копіювання, *fork* — вилка) — місце розплітання подвійної спіралі ДНК для утворення нових дочірніх ланцюгів;

— білки, які зв'язують окремі ланцюги ДНК, — SSB-білки (від англ. *single strand binding, proteins*), що протидіють їхньому повторному об'єднанню (ренатурації).

Для розкручування ДНК потрібна енергія. На поділ кожної пари основ витрачається енергія гідролізу двох молекул АТФ.

2. Ланцюги у дволанцюговій ДНК антипаралельні (один ланцюг $5' \rightarrow 3'$, другий — $3' \rightarrow 5'$), отже, ріст дочірніх ланцюгів також повинен відбуватися в протилежних напрямках ($3' \rightarrow 5'$ і $5' \rightarrow 3'$ відповідно). ДНК-полімерази можуть синтезувати полідезоксирибонуклеотидний ланцюг у напрямку $5' \rightarrow 3'$. Тому синтез двох дочірніх ланцюгів ДНК здійснюється за різними механізмами:

— лідируючий (від англ. *leading* — головний) ланцюг утворюється шляхом безперервного нарощування нуклеотидної послідовності в напрямку $5' \rightarrow 3'$ за допомогою ДНК-полімерази III;

— відстаючий ланцюг (від англ. *lagging* — відстаючий) утворюється з окремих фрагментів Оказакі за допомогою ДНК-полімерази III, кожний з яких починається з відповідного праймера і закінчується перед початком наступного РНК-прайма. Після формування фрагментів Оказакі ДНК-полімераза I вирізає РНК-праймер і на його місці синтезує фрагменти ДНК. Розриви між окремими фрагментами Оказакі з'єднуються ДНК-лігазами.

Етапи синтезу дочірніх ДНК на матриці РНК

1. *Ініціація синтезу ДНК.* Синтез праймерів РНК (містять від 10 до 20 нуклеотидів).

2. *Елонгація синтезу ДНК* здійснюється за допомогою різних механізмів на лідируючому і відстаючому ланцюгах:

а) на лідируючому ланцюзі синтезується ланцюг ДНК від РНК-праймера до реплікаційної вилки ДНК-полімеразою III;

б) на відстаючому ланцюзі спочатку синтезуються окремі фрагменти Оказакі, кожний з яких починається з відповідного РНК-праймера і закінчується перед початком наступного РНК-праймера за допомогою ДНК-полімерази III;

в) після формування фрагментів Оказакі ДНК-полімераза I вирізає праймери і заміщає їх фрагментами ДНК;

г) розриви між окремими фрагментами Оказакі зшиваються ДНК-лігазою. Рибонуклеаза Н бере участь у гідролізі РНК запалу.

3. *Термінація синтезу ДНК*, тобто його завершення, настає, коли вичерпується ДНК-матриця і трансферазні реакції припиняються. Точність реплікації ДНК надзвичайно висока, можлива одна помилка на 10^{10} трансферазних реакцій, однак вона зазвичай легко виправляється за рахунок процесів репарації.

Особливості реплікації ДНК в еукаріотів

Реплікація ДНК у хромосомах і мітохондріях еукаріотів відбувається теж напівконсервативним способом, однак має деякі особливості. Швидкість руху реплікаційної вилки в еукаріотів (приблизно 50 нуклеотидів за секунду) майже в 10 разів нижче, ніж в *E. coli*.

Множинність пунктів «початку» реплікації ДНК є загальним правилом для всіх клітин еукаріотів. У клітинах ссавців виявлені ті самі ферменти реплікації ДНК (розщеплюючі білки, РНК-полімераза, ДНК-полімераза, рибонуклеаза Н, ДНК-лігази). Однак ці ферменти відрізняються за молекулярною структурою і властивостями від ферментів прокариотів. ДНК-полімерази ядер (α , β , γ , ϵ) і мітохондрій (γ -типу) мають $5' \rightarrow 3'$ полімеразну активність. Найактивніша з них ДНК-полімераза α . Вона, вочевидь, виконує ту ж функцію при реплікації, що й ДНК-полімераза III прокариот. Полімерази β і ϵ беруть участь у репарації ядерної ДНК.

Як і у прокариотів, у реплікаційній вилці один із ланцюгів — лідируючий, а другий — відстаючий. Лідируючий ланцюг синтезується безперервно, а відстаючий — фрагментами Оказакі. Ініціація починається з утворення РНК-праймера (запалу).

Біосинтез ДНК на матриці РНК

Багато РНК-вмісних онкогенних вірусів (вірус Раушера і саркоми Рауса, вірус ВІЛ-інфекції) містять РНК-залежну-ДНК-полімеразу (ревертазу). Вона каталізує біосинтез молекули

ДНК на матриці РНК. Цей фермент зустрічається в пухлинних клітинах (наприклад лейкозних), а також у проліферуючих тканинах (наприклад ембріональних). До складу ревертази входять іони Zn^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , які активують цей фермент.

Етапи синтезу

1. Ревертаза синтезує на вірусній РНК комплементарний ланцюг ДНК, що призводить до формування гібридної молекули.

2. Руйнування вихідної вірусної РНК під дією РНК-ази в комплексі гібридної молекули.

3. На синтезованій ДНК як на матриці комплементарно синтезується нова ДНК.

Дослідження механізму синтезу ДНК на матриці РНК дозволяє розкрити багато закономірностей пухлинного росту і вірусних інфекцій, а також вказує на можливість передачі спадкової інформації від РНК на ДНК, всупереч основному постулату (потік інформації йде тільки в одному напрямку).

Механізм функціонування вірусу СНІДу

Найпростіші віруси мають у своєму складі тільки одну молекулу нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) і оболонку з молекул білка. У вірусах не відбуваються процеси обміну речовин, вони здійснюються тільки в клітині-хазяїні, це паразитичні нуклеїнові кислоти. Віруси, які при своєму розмноженні ушкоджують клітини хазяїна, є збудниками захворювань і вважаються патогенними. До захворювань вірусної етіології зараховують синдром набутого імунodefіциту (СНІД), сказ, поліомієліт, кір, краснуху, віспу, гепатит, грип.

Вірус імунodefіциту людини (ВІЛ) є збудником захворювання, яке зветься синдром набутого імунodefіциту. Геном ВІЛ складається з двох молекул одониткової РНК. Вірус має двошаровий капсид (оболонка вірусу зветься капсид, а структура в цілому — нуклеокапсид) і оточений білоквмісною мембраною. Головним чином, ВІЛ інфікує Т-хелпери, що може призвести до виходу з ладу імунної системи.

При інфекції мембрана вірусу зливається з плазматичною мембраною клітини-мішені та ядро нуклеокапсида потрапляє до цитоплазми. Вірусна РНК спочатку утворює гібрид РНК/ДНК, а потім за рахунок реплікації ДНК утворюється подвійна спіраль ДНК. Обидві реакції каталізуються зворотною транскриптазою вірусу (ревертазою). Подвійна спіраль ДНК інтегрується до геному клітини, де може залишатися в неактивному стані. При її активації спочатку за допомогою ферментів клітини-хазяїна транскрибується фрагмент РНК, що відповідає вірусному геному. При цьому здійснюється біосинтез мРНК, що кодує попередників вірусних білків. Потім білки вбудовуються до плазматичної мембрани клітини і там піддаються протеолітичній модифікації. Цикл закінчується відокремленням утворених вірусних частинок.

Група РНК-вмісних вірусів, до яких належить і ВІЛ, зветься ретровірусами, тому що їхній життєвий цикл починається з синтезу ДНК на РНК-матриці, тобто із процесу, зворотного звичайній транскрипції, коли як матриця використовується ДНК.

Транскрипція — біосинтез РНК на матриці ДНК

Біосинтез РНК на матриці ДНК відбиває етап транскрипції в передачі генетичної інформації. На ДНК синтезуються інформаційні (матричні), рибосомні та транспортні РНК. Встановлено, що більше 90 % матриці ДНК використовується для синтезу мРНК і менше 10 % — для синтезу р-РНК і тРНК. Слід підкреслити, що на одному ланцюзі може бути синтезовано багато молекул РНК, тому що для цього використовуються гени, які являють собою окремі фрагменти ДНК. Якщо врахувати, що геном клітини людини складається з $3,5 \cdot 10^9$ пар основ, які формують $1,5 \cdot 10^6$ пар генів, а в організмі налічується близько 100 000 різновидів молекул білка, то можна прийняти, що не всі гени в геномі є матрицею для синтезу РНК. Існують гени-оператори та гени-регулятори, що виконують регуляторну функцію в транскрипції, однак у ланцюзі ДНК перебувають і так звані нетранскрибовані ділянки, роль яких у функціонуванні генетичного апарату невідома.

Біосинтез РНК на матриці ДНК принципово потребує тих самих умов, що і матричний синтез ДНК.

1. Субстратами служать трифосфати рибонуклеозидів (АТФ, ГТФ, ЦТФ і УТФ). Синтез здійснюється в напрямку $5' \rightarrow 3'$, кожен новий нуклеотид приєднується до 3-ОН-групи зростаючої РНК.

2. Ділянка ДНК, що підлягає транскрипції, повинна бути розщеплена, бо тільки один ланцюг ДНК служить матрицею для синтезу РНК. Елементарну одиницю транскрипції у прокаріотів і еукаріотів, тобто відрізок ДНК, що піддається транскрипції, називають транскриптом. Іноді транскрипти прокаріотів називають оперонами.

3. Оскільки у молекулі РНК нуклеотидні залишки утворюють пари $A=U$ і $G=C$, у реакції витрачаються однакові кількості АТФ і УТФ, ГТФ і ЦТФ.

4. Джерелом енергії в реакції полімеризації мононуклеотидів служить енергія, що утворюється при розщепленні пірофосфату за участю пірофосфатази.

5. Необхідна наявність специфічних ферментів транскрипції: РНК-полімераза або транскриптаза.

Взаємодія РНК-полімерази з ДНК-матрицею

Окремі ділянки транскриптів виконують різні функції. Одна група ділянок належить до інформативних, друга — до неінформативних. Інформативними є структурні гени (цистриони), що несуть інформацію про структуру поліпептид-

ного ланцюга. Ділянки в структурних генах, які містять інформацію, називаються екзонами, а неінформативні — інтронами. Можливо, інтрони виконують додаткову регуляторну функцію для екзонів.

Початкова ділянка транскрипту, з якого починається транскрипція, називається промото-ром. До нього приєднуються білки, що полегшують початок транскрипції, і ферменти транскрипції — РНК-полімераза. Оператор — це ділянка ДНК, що зв'язує білки-регулятори транскрипції (у прокаріотів — це репресор).

До оператора (прокаріоти) або до акцепторної зони (еукаріоти) прилягають структурні цистрони, або гени, що містять ділянки інтронів та екзонів, які переміщуються (рис. 12.10).

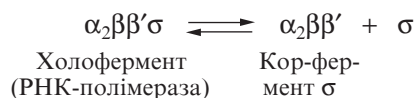


Рис. 12.10. Схема функціональної організації транскрипту

У кінці транскрипту існує послідовність нуклеотидів, що є своєрідним сигналом про закінчення транскрипції — термінатор; РНК, що утворюється при транскрипції, називається транскриптом (це комплементарна копія транскрипту від промотору до термінатора).

РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів

РНК-полімераза прокаріотів (*E. coli*) складається з 5 субодиниць $\alpha_2\beta\beta'\sigma$. Це — холофермент. Чотири з них ($\alpha_2\beta\beta'$) утворюють агрегат — кор-фермент (від англ. *core* — серцевина, ядро), який каталізує утворення фосфодієфірних зв'язків між нуклеотидами в РНК. П'ята субодиниця, названа σ -фактором, або σ -субодиницею (σ — сигма), легко відокремлюється від кор-ферменту:



Вона обирає стартову точку транскрипції на ланцюзі ДНК, що називають промото-ром. Потім до σ -фактора приєднується кор-фермент і починається транскрипція; α -субодиниця, можливо, виконує функцію ініціації біосинтезу РНК; β -суб-

одиниці здійснюють основну каталітичну функцію (зв'язування субстратів і елонгація синтезу).

Крім того, відкрито ряд білків, що беруть участь у механізмі синтезу РНК у клітині — спеціальний фактор термінації — р-фактор (ро-фактор).

В еукаріот є три РНК-полімерази: I, II, III. Це білки, що складаються з кількох субодиниць і відрізняються за специфічністю транскрипції.

РНК-полімераза I відповідає за синтез тільки р-РНК.

РНК-полімераза II — основний фермент, що каталізує синтез ядерних РНК (пре-мРНК), які є попередниками мРНК.

РНК-полімераза III каталізує переважно синтез транспортних РНК (тРНК).

В еукаріот роботу РНК-полімерази забезпечує велика кількість регуляторних білків (факторів транскрипції).

Взаємодія РНК-полімерази з промотором

Зв'язування РНК-полімерази з ДНК-матрицею відбувається в специфічних ділянках — промоторах — за допомогою σ -субодиниці РНК-полімерази. Промотор — це ділянка ДНК, яка містить інформацію, що повідомляє РНК-полімеразі, де зв'язуватися, як щільно зв'язуватися і як часто ініціювати синтез РНК-ланцюга.

РНК-полімераза може утворювати нестійкий комплекс із ДНК-матрицею в будь-якій частині ДНК, що досить швидко дисоціює — це неспецифічний комплекс I, що ковзає по ДНК, досягаючи ділянки промотору. Потім РНК-полімераза формує стабільний комплекс із промотором. Спочатку утворюється комплекс промотору — так званий закритий комплекс промотору. Наступний етап включає конформаційні зміни в полімеразі, що приводить до «розплавлення» ДНК і розриву водневих зв'язків — це «відкритий комплекс промотору».

Етапи синтезу РНК на матриці ДНК (прокаріоти)

1. *Ініціація*. РНК-полімераза (σ + кор-фермент) зв'язується з промотором, утворюється «відкритий комплекс промотору», в якому відбувається поділ ланцюгів ДНК («плавлення»). Цей процес звичайно здійснюється за 1–2 с. Початок синтезу РНК здійснюється за допомогою α -субодиниці РНК-полімерази.

2. *Елонгація*, тобто утворення полірибонуклеотидного ланцюга за допомогою α - і β -субодиниць, відбувається в напрямку 5'→3' антипаралельно матричному ланцюгу ДНК. Коли в процесі елонгації утворюється новий ланцюг РНК із 10 нуклеотидів, то σ -субодиниця дисоціює, кор-фермент, що залишився, продовжує полімеризацію до термінуючих ділянок, при цьому він рухається по ДНК-матриці (транслокація РНК-полімерази) (від лат. *trans* — через, *locus* — локальний), приєднуючи черговий нуклеотид, комплементарний тому дезоксирибонуклеотиду

ДНК, що у цей момент перебуває в ділянці активного центру РНК-полімерази.

3. *Термінація* (від лат. *termination* — закінчення). У ділянці ДНК, де закінчується ген, є послідовність нуклеотидів (термінуючий кодон), що читається в прямому та зворотному напрямку однаково. Цей термінуючий кодон зветься паліндромом (від грецьк. *паліндром* — біжи назад). Ділянка РНК, що утворюється на такій «паліндромній» послідовності, має вигляд «шпильки» з кінцевою УУУ-послідовністю. Утворення такої послідовності в РНК призводить до дисоціації комплексу ДНК-фермент-РНК за допомогою білка-термінатора — р-фактора, що взаємодіє з полімеразним комплексом.

4. *Дозрівання РНК* (процесинг). Більшість РНК не можуть бути отримані у функціонально активній формі в результаті синтезу на матриці ДНК. При транскрипції утворюються попередники тРНК, р-РНК і мРНК. Потім у ядрі відбувається посттранскрипційна доробка (дозрівання, процесинг) цих попередників, і виходять функціонально активні рибонуклеїнові кислоти. Ці типи змін для транспортних і рибосомних РНК у прокаріот та еукаріот дуже схожі. Дозрівання мРНК має деякі особливості. Попередник мРНК — гетерогенна ядерна РНК (пре-мРНК, або гя-РНК). Посттранскрипційне дозрівання мРНК (процесинг) складається з трьох основних етапів:

— вирізання неінформативних ділянок із пре-мРНК;

— зрощування «розірваних» інформативних ділянок — сплайсинг (від англ. *splicing* — з'єднувати, сплітати);

— модифікація 5'- і 3'-кінцевих ділянок РНК:

а) кепування — хімічна модифікація 5'-кінцевої послідовності мРНК (від англ. *cap* — шапка);

б) поліаденілювання — хімічна модифікація 3'-кінцевої послідовності мРНК за допомогою приєднання поліаденілової послідовності.

Вирізання неінформативних ділянок пре-мРНК здійснюється за допомогою рибонуклеаз (екзо- й ендонуклеаз). Вони гідролізують фосфодієфірні зв'язки, починаючи з 5'-кінця, і залишають від пре-мРНК необхідну частину мРНК (екзони). Екзони, що залишилися, зрощуються в єдиний ланцюг за допомогою спеціальних РНК-лігаз. Далі тут же в ядрі відбувається модифікація 5'- і 3'-кінців новоутвореної мРНК.

Хімічний зміст «кепування» полягає в приєднанні залишку 7-метилгуанозину до 5'-кінця молекули мРНК і метилювання двох кінцевих нуклеотидів. 5'-Кеп, з'єднуючись зі специфічним білком, бере участь у зв'язуванні мРНК із рибосоною, сприяючи ініціації синтезу білка.

На 3'-кінці в більшій частині молекул мРНК утворюються поліаденілові послідовності довжиною 100–200 нуклеотидних залишків (полі-А-мРНК). Поліаденілювання полягає в послідовному ферментативному приєднанні залишків АМФ і фрагментів ААУАА до 3'-кінця мРНК.

Відомо, що «кеп» додається ще в ядрі, а поліаденілювання перебігає або в ядрі, або в цитоплазмі.

На відміну від прокариот, в еукариот є ядерна мембрана, через яку необхідно доставити готові РНК у цитоплазму, де відбувається синтез білка. Всі зрілі РНК транспортуються з ядра в цитоплазму в комплексі з білком-інформофероном, що додатково захищає їх від руйнування і сприяє переносу до рибосом, де і відбувається збірка білка з амінокислот, або трансляція.

Висновки

- ДНК реплікується напівконсервативним шляхом, кожна дочірня подвійна спіраль складається з одного материнського й одного новоутвореного ланцюга. Ланцюг росте у напрямку $5' \rightarrow 3'$.

- Для реплікації необхідно утворення реплікаційної вилки. Фермент хеліказа розплітає матрицю; білки, що зв'язують ДНК, утримують ланцюги ДНК у розплетеному стані. Розплітання ланцюгів сприяє обертання молекули ДНК за допомогою ДНК-гірази.

- Один ланцюг ДНК (лідуючий) реплікується безперервно у напрямку $5' \rightarrow 3'$, другий (відстаючий) реплікується з утворенням коротких фрагментів, які називаються фрагментами Оказаки. Вони синтезуються у напрямку, протилежному напрямку руху реплікативної вилки.

- Утворення лідуючого ланцюга і кожного фрагмента Оказаки починається з синтезу праймазою короткої комплементарної ділянки РНК, яка виконує функції запалу (праймер). Далі на $3'$ -кінці цього РНК-запалу за допомогою ДНК-полімерази III синтезується дочірня ДНК.

- Клітини прокариот містять три ДНК-полімерази. ДНК-полімераза I каталізує відщеплення праймера та заповнює вільні місця комплементарної ДНК. ДНК-полімераза II виправляє помилки в ланцюгах ДНК. Головний фермент біосинтезу дочірньої ДНК — це ДНК-полімераза III.

- Реплікація ДНК в еукариот відбувається також напівконсервативним шляхом, але швидкість просування реплікаційної вилки в еукариот майже у 10 разів нижча за таку в *E. coli*. Для неї характерна наявність багатьох точок «початку» реплікації ДНК. У реплікаційній вилці є лідуючий та відстаючий ланцюги. Ініціація починається з праймера.

- ДНК-полімераза ядер (α , β , γ , ϵ) та мітохондрій (γ -типу) має $5' \rightarrow 3'$ полімеразну активність. ДНК-полімераза α виконує ту саму функцію, що й ДНК-полімераза III прокариот. Полімерази β та ϵ беруть участь у репарації ядерної ДНК.

- Пухлинні клітини (лейкозні), проліферуючі тканини (ембріональні), РНК-вмісні онкогенні віруси містять фермент ревертазу. Вона синтезує на вірусній РНК комплементарний ланцюг ДНК. Дослідження механізму синтезу ДНК на матриці РНК дозволяє розкрити багато закономірностей пухлинного росту та вірусних інфекцій.

- Транскрипція — це біосинтез РНК на матриці ДНК, синтезуються інформаційні, рибосомні та транспортні РНК у вигляді попередників. В

ядрі відбувається їхнє посттрансляційне дозрівання, або процесинг.

- Відрізок ДНК, який піддався транскрипції, — це транскриптон, у прокариот його називають опероном. До інформативних відрізків транскрипту належать структурні цистрони, або гени, які несуть інформацію про структуру поліпептидного ланцюга.

- Процес транскрипції каталізується РНК-полімеразою, яка складається з 5 субодиниць; σ -фактор полімерази потрібен для розпізнавання промотору — сигналу початку ініціалізації.

- У тваринних клітинах, інфікованих онкогенними РНК-вмісними вірусами, утворюються РНК-залежні ДНК-полімерази. Ці ферменти транскрибують вірусну РНК з утворенням ДНК. Таким чином, гени, які зумовлюють розвиток раку (онкогени), можуть залучатися до геному клітини.

- Антибіотики, що блокують ДНК-матрицю, перекичують інформацію про РНК, яка синтезується, гальмують активність РНК-полімераз і таким чином інгібують транскрипцію.

- Інтеркалятори — це інгібітори біосинтезу білка на рівні реплікації. Вони утворюють ковалентні зв'язки між комплементарними ланцюгами і перешкоджають їхньому розкручуванню.

- Еукариотичні мРНК утворюються з гетерогенних ядерних РНК (гяРНК). Модифікація їх здійснюється за допомогою поліаденілювання $3'$ -кінця та кепування $5'$ -кінця.

12.4. БІОСИНТЕЗ БІЛКА В РИБОСОМАХ. ЕТАПИ І МЕХАНІЗМ ТРАНСЛЯЦІЇ, РЕГУЛЯЦІЯ ТРАНСЛЯЦІЇ. АНТИБІОТИКИ — ІНГІБІТОРИ ТРАНСКРИПЦІЇ І ТРАНСЛЯЦІЇ

Білки перебувають у процесі постійного розщеплення і синтезу. Найшвидше оновлюються білки крові, печінки, слизової оболонки кишечника і підшлункової залози. За добу в людини синтезується в середньому 1,3 г білка на 1 кг маси тіла. Білки в організмі людини оновлюються приблизно протягом 24 тиж. Процес трансляції означає переклад «чотирилітерної мови нуклеїнових кислот на двадцятилітерну мову білків». Іншими словами, трансляція зводиться до синтезу білка в рибосомах. У цьому процесі тільки послідовність розташування нуклеотидів у мРНК визначає первинну структуру білка.

Генетичний код

Біосинтез білків (трансляція) відрізняється від інших типів матричних біосинтезів — реплікації та транскрипції. Механізм використання матриці при біосинтезі білків інший, ніж у випадку синтезу ДНК або РНК. Якщо реплікацію і транскрипцію можна порівняти просто з переписуван-

ням тексту, то трансляція — це дешифрування, декодування інформації про амінокислотну послідовність, записаної (закодованої) за допомогою нуклеотидної послідовності. Спосіб шифрування в нуклеїнових кислотах інформації про первинну структуру білків дістав назву біологічного коду (його називають також генетичним, нуклеотидним, амінокислотним кодом).

Одне з перших питань, що виникає при з'ясуванні структури біологічного коду, — це питання про кодове число, тобто про кількість нуклеотидних залишків, що кодують включення в білок однієї амінокислоти. Очевидно, що кодове число не може дорівнювати 1, тому що в цьому випадку за допомогою чотирьох нуклеотидів можна було б закодувати тільки чотири амінокислоти. При кодовому числі 2 кількість різних нуклеотидних пар дорівнюватиме числу перестановок із чотирьох елементів по 2, тобто $4^2 = 16$, що теж не досить для кодування всіх амінокислот. Кількість різних нуклеотидів при кодовому числі 3 дорівнює $4^3 = 64$. Це більше ніж утричі перевищує мінімальне число, необхідне для кодування 20 амінокислот. Експериментально доведено, що в біологічному коді кодове число дорівнює трьом: трійку нуклеотидних залишків (триплет), що кодують включення однієї амінокислоти, називають кодоном. Генетичний код має такі властивості.

1. *Триплетність* — кожній амінокислоті відповідає трійка нуклеотидів. Із 64 триплетів 61 використовується для кодування амінокислот, а три — УАА, УАГ, УГА — позначають кінець матриці: на цих триплетях обривається подальше нарощування пептидного ланцюга — термінуючі триплети.

2. *Неперекриваність* — кожний із триплетів генетичного тексту незалежний один від одного. Однак є дані, що код іноді може перекриватися.

3. *Виродженість коду* — тобто одна кислота може кодуватися двома або більшою кількістю триплетів. Причина виродженості коду полягає в тому, що головне суттєве навантаження несуть два перших нуклеотиди в триплеті, а третій не такий важливий. Звідси правило виродженості коду: якщо два кодони мають два однакових перших нуклеотиди, а їх треті нуклеотиди належать до одного класу (пуринового або піримідинового), то вони кодують одну і ту саму амінокислоту.

Однак із цього правила є два винятки: це кодон АУА, що повинен відповідати метіоніну, а кодон УГА, що є термінуючим, тоді як повинен відповідати триптофану. Виродженість коду має, вочевидь, пристосувальне значення.

4. *Специфічність* — кожній амінокислоті відповідають тільки певні кодони, які не можуть бути використані для іншої амінокислоти.

5. *Колінеарність* — відповідність лінійної послідовності кодонів мРНК і амінокислот у білку.

6. *Універсальність коду* для всіх живих організмів. Останнім часом принцип універсальності коду похитнувся у зв'язку з тим, що в мітохондріях власний генетичний код відрізняється

від відомого раніше. У ньому кодон УГА відповідає триптофану, а АУА — метіоніну, як того вимагає правило виродженості коду. Можливо, на початку еволюції в усіх найпростіших організмів був такий самий код, як і у мітохондрій, а потім він зазнав незначних відхилень.

Рибосомна білоксинтезуюча система

Біосинтез білка (трансляція) відбувається в цитоплазмі завдяки нуклеопротеїновим частинкам — рибосомам. Рибосоми складаються з двох субодиниць, кожна з яких побудована з рибосомної РНК (рРНК) і багатьох білків. Рибосоми та їх субодиниці звичайно класифікують за коефіцієнтами седиментації. Так, коефіцієнт седиментації повної еукаріотичної рибосоми дорівнює близько 80 одиниць Сведберга (80 S), а коефіцієнт седиментації її субодиниць (білки та РНК) — 40 S і 60 S.

Субодиниці рибосом клітин еукаріот містять чотири різні р-РНК і більше 70 різних білків в обох субодиницях, причому більша субодиниця (60 S) має три різні р-РНК: 28 S (4700 нуклеотидів), 5,8 S (160 нуклеотидів) і 5 S (120 нуклеотидів) — і близько 50 білків. Мала субодиниця містить усього одну молекулу 18 S р-РНК і близько 30 білків.

Рибосомні РНК утворюються із загального попередника всіх типів клітинних РНК, які синтезуються на матриці ДНК у ядрі. Рибосомні білки мають цитоплазматичне походження, потім вони транспортуються в ядерець, де і відбувається спонтанне утворення рибосомних субодиниць шляхом об'єднання білків із відповідною РНК. Утворені субодиниці транспортуються через пори ядерної мембрани назад у цитоплазму, де група рибосом разом із мРНК утворюють полісоми або полірибосоми, які беруть безпосередню участь у синтезі білка. Це пояснюється тим, що одна молекула мРНК може транслюватися водночас кількома рибосомами.

Аміноацил-тРНК-синтетази

У будь-яких клітинах живих організмів існують специфічні ферменти, які каталізують активування амінокислот і зв'язування останніх із певною тРНК — аміноацил-тРНК-синтетази. Ці ферменти мають абсолютну специфічність дії, оскільки вони розпізнають тільки одну яку-небудь α -амінокислоту і одну тРНК. Для тих амінокислот, для яких відкрито дві й більше тРНК, відповідна аміноацил-тРНК-синтетаза каталізує аміноацилювання всіх цих тРНК. Вважається, що в молекулі кожної аміноацил-тРНК-синтетази є принаймні 3 центри зв'язування: для амінокислоти, мРНК і АТФ, ферменти досить чутливі також до аналогів амінокислот, які інгібують активування відповідних кислот.

Транспортні РНК

На частку транспортних РНК припадає близько 10–15 % від загальної кількості клітинної РНК. Відомо більше 60 різних тРНК. Для кожної амінокислоти в клітині є як мінімум одна специфічна тРНК. Для деяких амінокислот їх відкрито більше однієї: для серину, лейцину й аргініну — 6 різних тРНК, для аланіну, гліцину і треоніну — по 4 різних тРНК. Молекулярна маса найбільшій тРНК коливається від 24 000 до 29 000. Вони містять від 75 до 85 нуклеотидів, у тому числі 8 і більше з них є модифікованими основами. Амінокислоти приєднуються до всіх тРНК адениловою кислотою (АМФ) шляхом утворення фосфодієфірного зв'язку.

Майже всі тРНК мають не тільки вельми подібні функції, але й дуже схожу тривимірну структуру, що спочатку була названа конформацією конюшиного листа. У молекулі тРНК відкриті спіралізовані ділянки, незвичайні водневі зв'язки і гідрофобні взаємодії у неспіралізованих ділянках.

Доведено, що тРНК має псевдоуридилову петлю, утворену з нуклеотидів, які містять псевдоуридин (ΨС), і дигідроуридилову петлю. На 3'-ОН-кінці міститься однакова для всіх тРНК послідовність триплету ЦЦА-ОН, до якої за допомогою ефірного зв'язку приєднується специфічна амінокислота.

Зв'язування, головним чином, відбувається через 3'-ОН-групу кінцевого аденилового нуклеотиду, хоча отримано докази можливості попереднього приєднання амінокислоти і через 2'-ОН-групу.

Роль окремих ділянок тРНК недостатньо вивчена. Псевдоуридилова петля вочевидь забезпечує зв'язування аміноацил-тРНК із рибосоною, а дигідроуридилова петля необхідна як сайт для розпізнавання специфічним ферментом — аміноацил-тРНК-синтетазою. Склад додаткової петлі варіює в різних типах молекул тРНК, її призначення невідомо.

Антикодонова петля складається з 7 нуклеотидів; три з них займають центральне положення і формують антикодон, який є високоспецифічним і комплементарним до відповідного кодону мРНК. Адапторна функція молекул тРНК поля-

гає у зв'язуванні кожної молекули тРНК зі своєю специфічною амінокислотою. Функцію розпізнавання, тобто посередника між тРНК та амінокислотою, вочевидь виконує молекула ферменту.

Матрична РНК

Роль матричної РНК (мРНК) полягає в переносі інформації від ДНК у ядрі (де вона синтезується під дією ДНК-залежної РНК-полімерази) до цитоплазми, де вона з'єднується з рибосомами і використовується як матриця, на якій здійснюється синтез білка. Послідовність нуклеотидів мРНК реалізується в специфічній послідовності амінокислот синтезованого поліпептидного ланцюга. Отже, ДНК передає інформацію на мРНК, що синтезується в ядрі й потім надходить у цитоплазму, де мРНК виконує матричну функцію в синтезі специфічної білкової молекули.

Етапи і механізми трансляції

При трансляції генетичний текст мРНК переводиться в лінійну послідовність амінокислот поліпептидного ланцюга білка. Розпізнавання (рекогніція) амінокислот транспортною РНК і утворення аміноацил-тРНК відбувається в цитозолі, а біосинтез білка — на рибосомах. Етапи біосинтезу білка наведено в табл. 12.1.

Розглянемо головні етапи синтезу білка докладніше.

1. *Активация амінокислот.* На цьому етапі, що перебігає в цитозолі, кожна з 20 амінокислот ковалентно приєднується до певної тРНК, використовуючи для цього енергію АТФ. Ці реакції каталізують аміноацил-тРНК-синтетази, які потребують присутності іонів Mg^{2+} .

2. *Ініціація.* Початок трансляції — найбільш повільний процес; мРНК, що містить інформацію про поліпептид, зв'язується з малою субодиноцею рибосоми (у неробочому стані субодиноці рибосоми роз'єднані). Місце приєднання до субодиноці розташоване на 5'-кінці РНК (синтез поліпептиду йде в напрямку 5'→3'). У межах малої субодиноці містяться тільки два кодони

Таблиця 12.1

Компоненти, необхідні для здійснення п'яти головних етапів синтезу білка

Етап	Необхідні компоненти
1. Активация амінокислот	20 амінокислот; 20 аміноацил-тРНК-синтетаз; 20 або більше тРНК; АТФ; Mg^{2+}
2. Ініціація 30 S та 50 S субодиноці рибосом	мРНК; формілметіонін-тРНК; ГТФ; ініціюючий кодон у мРНК (АУГ; ГУГ); фактори ініціації IF-1, IF-2, IF-3
3. Елонгація	Функціональна рибосома (ініціюючий комплекс); аміноацил-тРНК із відповідним антикодоном; фактори елонгації EF-Tu, EF-Ts, EF-G; пептидилтрансфераза; Mg^{2+}
4. Термінація та вивільнення	Термінуючий кодон на мРНК (УАА; УАГ; УГА); фактори вивільнення RF-1, RF-2, RF-3, АТФ
5. Скручування (фолдинг) і процесинг	Специфічні ферменти і кофактори, які видаляють ініціюючі залишки і спеціальні послідовності, додавання протеолітичного процесингу, модифікуючі кінцеві залишки. Укладання білка у тривимірному просторі

мРНК. Першим кодоном мРНК із 5'-кінця є АУГ (AUG) або ГУГ (GUG). Ці кодони називаються ініціюючими, тому що саме з них починається трансляція в рибосомах. Цим кодоном відповідає антикодон метіоніл-тРНК. В еукаріотів є дві різні метіоніл-тРНК. Одна з них завжди бере участь в ініціації, а друга — використовується в процесі елонгації. У прокариотів синтез білка починається з формілметіоніл-тРНК, де NH₂-група захищена формільною групою. Здійсненню процесу ініціації, що потребує участі гуанозинтрифосфату (ГТФ), сприяють три специфічних білки, наявні у цитозолі, які називаються факторами ініціації (IF-1, IF-2, IF-3) (табл. 12.2). Вони полегшують зв'язування мРНК із малою субодиноцею і ГТФ. До цього первинного комплексу приєднується велика субодиноця, після чого фактори ініціації видаляються з рибосом. Необхідна енергія для з'єднання субодиноць надходить за рахунок гідролізу ГТФ.

3. *Елонгація.* Синтез поліпептиду завжди починається з N-кінця і закінчується C-кінцем. Нарощування поліпептиду на одну амінокислоту здійснюється в три кроки:

— зв'язування аміноацил-тРНК з А-ділянкою. У рибосомі є дві ділянки зв'язування аміноацил-тРНК: аміноацил- (або А-ділянка) і пептидил- (або Р-ділянка). Ініціююча МеттРНК (або f-меттРНК) може зв'язуватися тільки з Р-ділянкою;

— утворення нового пептидного зв'язку між амінокислотами, чиї тРНК розташовані в А- і Р-сайтах рибосоми, відбувається за допомогою пептидилтрансферази. Цей процес здійснюється в результаті переносу ініціюючого метіонінового (формілметіонінового) залишку від тРНК, що його переносить, до аміногрупи нової амінокислоти, яка щойно потрапила до А-ділянки;

— транслокація (або перенос мРНК на один триплет). Рибосома переміщається вздовж мРНК у напрямку до її 3'-кінця на відстань в один кодон. Оскільки дипептидил-тРНК, як і раніше, за-

лишається зв'язаною з другим кодоном мРНК, рух рибосоми призводить до переміщення дипептидил-тРНК із А-ділянки до Р-ділянки, через що попередня, уже вільна тРНК відокремлюється від Р-ділянки та іде до цитозолу.

Для здійснення елонгації необхідні фактори елонгації (EF-Tu, EF-Ts й EF-G), а також 2 молекули ГТФ, що використовуються при зв'язуванні другої амінокислоти та при транслокації (див. табл. 12.2).

Тепер рибосома разом із дипептидил-тРНК і мРНК готова до наступного циклу елонгації, тобто до приєднання третього амінокислотного залишку. Здійснюється це точно так, як приєднання другого залишку. Елонгація триває, доки весь текст мРНК не буде прочитаний.

4. *Термінація* — це закінчення трансляції. Про термінацію синтезу поліпептиду сигналізує один із трьох термінуючих кодонів мРНК, розташований безпосередньо за кодоном останньої амінокислоти. Термінуючі триплети UAA (УАА), UAG (УАГ), UGA (УГА) не кодують ніякої амінокислоти. Їх називають беззмистовними (нонсенс-триплетами).

У клітині мРНК для синтезу білка використовує не одну, а кілька рибосом. Такий комплекс мРНК із кількох (від 4 до 20) рибосом називається полірибосомою. Завдяки утворенню полірибосом немає потреби у великій кількості копій мРНК. Водночас синтез білка перебігає швидше, ніж при використанні тільки однієї рибосоми. За секунду поліпептидний ланцюг подовжується на одну амінокислоту, а в інтенсивну фазу росту клітин швидкість синтезу наростає до 20 амінокислот за секунду. Після відділення мРНК від рибосоми вона одразу гідролізується цитоплазматичними рибонуклеазами, тобто існує для одноразового користування. Тому для біосинтезу тих самих білків необхідно знову створювати мРНК.

Посттрансляційна модифікація білка

Під час трансляції білок починає укладатися в тривимірну структуру, якої він остаточно набуває після відділення синтезованого білка від рибосом (фолдинг білка). Частина білків синтезується у вигляді попередників, які піддаються обмеженому протеолізу в цитоплазмі клітини. Очевидно, що обробку протеазами проходить більшість білків, тобто відбувається їхнє своєрідне дозрівання (проферменти, попередники гормонів).

Значно більшу питому вагу має посттрансляційна хімічна модифікація білків:

— модифікація N- і C-кінців — видалення N-кінцевих формілметіоніну (у прокариот) і метіоніну (в еукаріот);

— ацетилювання N- і C-кінців;

— модифікація гідроксильних, карбоксильних і аміногруп пептидів шляхом їх фосфорилювання, карбоксилування, метилювання, ацетилювання;

— приєднання до пептидів простетичних груп — вуглеводів, коферментів;

Таблиця 12.2

Фактори процесу трансляції

<i>Фактори ініціації</i>
IF-1 — зв'язує ф-меттРНК з малою субодиноцею і приєднує до неї мРНК
IF-2 — об'єднує велику і малу субодиноці рибосом
IF-3 — розпізнає ділянку на мРНК, куди приєднується ф-меттРНК
<i>Фактори елонгації</i>
EF-Tu — зв'язує аміноацил-тРНК і ГТФ
EF-Ts — переміщує ГТФ із EF-Tu
EF-G — сприяє транслокації шляхом зв'язування ГТФ із рибосомою
<i>Фактори термінації</i>
RF-1 — розпізнає термінуючі кодони UAA та UAG
RF-2 — розпізнає термінуючі кодони UAA та UGA
RF-3 — зв'язує ГТФ і стимулює RF-1 та RF-2

— хімічна модифікація амінокислотних залишків.

Менш вивчені реакції фарнезилювання залишків цистеїну ряду білків: білка G, групи білків ядерного матриксу, а також білків gas і протоонкогенів.

Значна частина білків залишається в клітині. Однак частина експортується з неї — це, як правило, ті білки, які синтезуються на рибосомах, зв'язаних із мембранами ендоплазматичного ретикулума. Вже при синтезі зростаючий поліпептидний ланцюг проникає через мембрану і потрапляє у канали ендоплазматичної сітки. У цистернах ендоплазматичного ретикулума білки концентруються. Зберігання і секреція їх відбуваються в апараті Гольджі, де до білка приєднується вуглеводний компонент. Вони транспортуються назовні шляхом екзоцитозу. Для цього потрібна енергія АТФ, тому при дефіциті АТФ білки затримуються в клітині.

Фолдинг білка

У міру росту поліпептидного ланцюга на рибосомі починається укладання білка у тривимірному просторі в напрямку від N- до C-кінця. Після закінчення трансляції починається наступний етап формування білка — фолдинг (від англ. *fold* — складання), тобто згортання пептидного ланцюга у правильну тривимірну структуру. Якщо білок складається з кількох субодиниць, то фолдинг включає також об'єднання їх в єдину макромолекулу. Відбувається це за рахунок переміщення дисульфідних зв'язків, переходу радикалів проліну з однієї конформації до іншої.

Шаперони

Свою назву ці білки отримали через те, що їх синтез зростає при підвищенні температури та інших формах стресу. При цьому вони виконують функцію захисту білків клітини від денатурації. Функцій у шаперонів дуже багато.

Шаперони забезпечують вірний фолдинг новостворених білків за рахунок запобігання агрегації нових білків, «неправильним» внутрішнім взаємодіям.

Шаперони забезпечують контроль за рефолдингом. З різних причин білки, що були відносно давно синтезовані й до того успішно функціонували, можуть втратити свою нативну конформацію, тобто частково або повністю денатурувати, що супроводжується схильністю до агрегації. Такі білки можуть підлягати рефолдингу (або ренатурації) з активною участю шаперонів. Синтез шаперонів значно посилюється, якщо клітина відносно довго перебуває в умовах стресу.

Шаперони беруть участь у деяких видах внутрішньоклітинного транспорту білків.

Шаперони підтримують ряд білків у певній конформації, у стані нібито незавершеного фолдингу. Приклад цього — локалізований у цитоплазмі білковий рецептор до глюкокортикоїдів.

За відсутності цих гормонів він зв'язаний із комплексом шаперонів. У такому стані рецептор не може проникнути всередину ядра. Після зв'язування глюкокортикоїдів шаперони дисоціюють, фолдинг завершується, рецептор проникає до ядра, переходить у димерну форму та зв'язується з певною ділянкою ДНК.

Пріони як антишаперони

Фолдинг повинен приводити поліпептидний ланцюг з участю фолдаз і шаперонів до найоптимальнішої енергетично та функціонально структури. Але існує група тяжких неврологічних хвороб, зумовлених «неправильним» фолдингом одного, цілком визначеного білка; цей процес закономірно повторюється. Даний білок, якщо він знаходиться в нормальній конформації, називається пріоновим білком. Виявляється він у мозку, функція його наразі невідома. При деяких захворюваннях той самий поліпептид виявляється в іншій конформації, в якій переважають ділянки з β -структурою, яких майже немає у нативній формі, а молекули білка мають підвищену схильність до агрегації. Такий білок називають пріоном. Але найгірше те, що «неправильна» форма білка спричинює перехід у таку ж форму і «правильних» форм. Таким чином, пріони по відношенню до своїх вихідних молекул грають роль антишаперонів. Більше того, процес, очевидно, є автокаталітичним.

Як виникають в організмі перші порції пріону? Іноді, надзвичайно рідко, це відбувається через помилку фолдингу. Деяко частіше зустрічаються мутації відповідного гена, тоді хвороба передається спадково. Але найчастіше вона виникає внаслідок уживання в їжу тих тваринних тканин, в яких містяться пріони. Тому дані білки й названі інфекційними частинками. Їх вирізняє ще одна дуже важлива особливість — стійкість до протеаз. Саме завдяки їй окремим молекулам пріонів вдається проникати у незмінному вигляді з шлунково-кишкового тракту до нервової тканини, де і запускається автокаталітичний процес. Усе це разом робить пріони унікальним інфекційним агентом. У корів пріоновою хворобою є губчата енцефалопатія (або коров'ячий сказ). Уживання людиною м'яса таких корів призводить до хвороби Крейцфельда — Якоба.

Хвороба Альцгеймера. Головним проявом хвороби Альцгеймера є рефолдинг білка мозку людини — β -амілоїду. Старечі бляшки (скупчення фібрил, амілоїду, оточені сіткою деформованих нервових відростків) та нейрофібрилярні пучки містять агрегати β -амілоїду, отриманого шляхом протеолізу попередника — білка амілоїду. У пацієнтів із хворобою Альцгеймера рівень β -амілоїду дуже високий, цей білок піддається конформаційним змінам, із розчинної α -спіралі він перетворюється на β -структуру, схильну до агрегації.

Вплив фізіологічно активних речовин на процеси трансляції

Препарати, що посилюють синтез білка

Препарати, що посилюють синтез білка, належать до анаболічних засобів: гормональних і негормональних. Анаболічні стероїди — препарати гормональної природи, вони діють на рівні транскрипції, є похідними чоловічих статевих гормонів (андрогенів). Анаболічну активність має інсулін, що активує синтез білка на рівні трансляції. До негормональних анаболічних засобів належать попередники нуклеотидів і нуклеїнових кислот. Оротат калію використовується в біосинтезі піримідинових нуклеотидів (оротова кислота — ключова сполука в біосинтезі піримідинових нуклеотидів), інозин або гіпоксантирибозид необхідний для синтезу пуринових нуклеотидів.

Інгібітори синтезу білка

Припинення матричних біосинтезів веде до загибелі клітини. На цьому засноване застосування інгібіторів матричних біосинтезів для лікування інфекційних хвороб і злоякісних пухлин. До таких інгібіторів належить багато антибіотиків. Більшість їх продукуються мікроорганізмами, насамперед із роду актиноміцетів, і певними грибами. Однак існують і синтетичні антимікробні речовини — такі як сульфаніламід та інгібітори гіраз.

Бактеріальні рибосоми менші, ніж рибосоми еукаріот (70 S замість 80 S), вони містять інший, трохи простіший набір РНК і білків. Ця розбіжність широко використовується в клінічній практиці через те, що багато ефективних антибіотиків селективно взаємодіють із білками прокаріотичних рибосом та інгібують бактеріальний синтез білка. При цьому бактерії гинуть або це гальмує їх розвиток. Найкращі антибіотики цього класу не взаємодіють зі специфічними білками еукаріотичних рибосом, отже, нетоксичні для еукаріотичних організмів. Антибіотики, які є інгібіторами процесів трансляції у прокаріотів, використовують як протибактеріальні препарати в терапії інфекційних хвороб. Антибіотики, які інгібують процеси трансляції в еукаріотів, використовують як протипухлинні препарати.

I. Інгібітори біосинтезу білка на рівні реплікації (наприклад, рифампіцин, мітоміцин C) утворюють ковалентні зв'язки між двома комплементарними ланцюгами ДНК і перешкоджають їхньому розкручуванню, отже, інгібують синтез ДНК на матриці ДНК — так званого інтеркалятора. Синтетичні інгібітори гіраз — хінолони — впливають на реплікацію й тим самим пригнічують репродукцію бактерій.

II. Інгібітори транскрипції за механізмом поділяються на три групи:

- а) інгібітори РНК-полімераз;
- б) речовини, які блокують ДНК-матрицю;

в) сполуки, які перекручують інформацію синтезованої РНК.

Прикладом препаратів першої групи є α -аманітин (отрута блідої поганки), інгібуючий РНК-полімерази III (відповідальну за транскрипцію мРНК); антибіотики рифоміцини, що блокують ядерцеву РНК-полімерази I (відповідальну за транскрипцію р-РНК) і зворотну транскриптазу. α -Аманітин використовується при біохімічних дослідженнях, а рифаміцини — як протибактеріальні (протитуберкульозні) і противірусні препарати.

До другої групи належать речовини, що зв'язуються нековалентно з матрицею ДНК, заважаючи працювати РНК-полімеразі — наприклад, актиноміцин D (використовується в біохімічних дослідженнях), а також антибіотики олівоміцин, дастиноміцин і рослинні алкалоїди вінбластин і вінкрістин, які застосовуються в медицині як протипухлинні препарати.

До третьої групи можна зарахувати 5-фторурацил, що включається в мРНК замість природного нуклеотиду (антиметаболіти).

III. Інгібування *трансляції* у бактерій. Багато антибіотиків є специфічними інгібіторами трансляції у мікроорганізмів — без помітного впливу (у терапевтичних дозах) на аналогічний процес у клітинах хазяїна. Безпосереднім об'єктом їх впливу є ті чи інші функціональні центри рибосом у складі малої чи великої субодиниці.

1. Інгібітори ініціації

Антибіотики, які діють у ділянці малої (30 S) субодиниці

Стрептоміцин впливає на частину пептидильного центру, що знаходиться на малій субодиниці. Тим самим він утруднює зв'язування ініціаторної aa-тРНК (форміл-метіоніл-тРНК — fmet), тобто інгібуює ініціацію синтезу білка.

Якщо ініціація все ж таки відбулася, то все одно у присутності стрептоміцину пептидил-тРНК слабо зчеплена з малою субодиницею рибосом. Це робить рибосомний комплекс недостатньо міцним, що нерідко спричинює його передчасний розпад.

Інший відомий антибіотик — тетрациклін — впливає на А-центр (амінокислотний центр) 30 S субодиниці. Завдяки цьому інгібуються зв'язування наступної aa-тРНК.

2. Інгібітори елонгації

Антибіотики, які діють у ділянці великої субодиниці

Левоміцетин (або хлорамфенікол) інгібуює активність пептидилтрансферазного центру. Еритроміцин впливає на ту ділянку великої субодиниці, яка відповідає за транслокацію. Внаслідок його активності нова пептидил-тРНК (яка утворилася після пептидилтрансферазної реакції) залишається в А-центрі (не пересувається до П-центру) і перешкоджає зв'язуванню наступної aa-тРНК.

Всі ці ефекти мають селективний характер: в еукаріотичних рибосом вони відсутні. Але це не означає повної нешкідливості антибіотиків для

організму пацієнта — вони можуть здійснювати багато побічних ефектів іншими способами.

IV. Інгібування *трансляції* в еукаріот

Циклогексимід діє так само, як і левоміцетин, тобто блокує пептидилтрансферазний центр. Об'єктом дії є рибосома 80 S. Інший антибіотик — пуроміцин — є структурним аналогом аа-тРНК, містить ароматичну амінокислоту, пов'язану з похідним аденозину. Тому він займає А-центр рибосоми — як бактеріальної, так і еукаріотичної. Далі в пептидилтрансферазній реакції на пуроміцин переноситься пептид, але оскільки тут немає справжньої тРНК, то продукт реакції (пептидилпуроміцин) не піддається транслокації до П-центру, а просто залишає рибосому. Таким чином, пуроміцин обриває елонгацію пептидного ланцюга та звільнює пептидилпуроміцин.

Біохімічний механізм противірусної дії інтерферонів

Інтерферони — це глікопротеїни, що продукуються в клітинах тварин, які були інфіковані деякими вірусами. Особливо ефективно індукують утворення інтерферонів віруси з дволанцюговою РНК — перш за все, реовіруси. Інтерферони зв'язуються зі специфічними рецепторами клітинної мембрани — це запускає різні сигнальні шляхи. Один із цих шляхів ініціюється при утворенні на клітинній поверхні комплексу інтерферону з вірусною РНК і спричинює такі кінцеві ефекти:

- стимуляцію розпаду мРНК у клітинах;
- гальмування трансляції.

Тим самим різко обмежується синтез білків — як власних білків клітини, так і вірусних. Тобто, ціною пригнічення клітинної активності й, можливо, навіть загибелі клітини попереджається багаторазове збільшення кількості вірусних частинок. Очевидно тому реовіруси (які найефективніше індукують інтерферони) практично не спричинюють захворювань людини.

Стимуляція розпаду мРНК. Комплекс інтерферон-РНК (сам або через посередника) активує олігонуклеотидсинтетазу — фермент, який каталізує синтез олігоаденілату, що активує ендонуклеазу, здатну руйнувати мРНК.

Гальмування трансляції. Комплекс інтерферон-РНК підвищує активність протеїнази, яка модифікує певні фактори ініціації шляхом їх фосфорилювання.

Таким чином, трансляція блокується від самого початку, тобто створюється дефіцит головних компонентів ініціаторного комплексу — ініціюючої аа-тРНК (для зв'язування якої з рибосомою необхідний фактор EF-2) та мРНК.

Висновки

- Біологічний код — це спосіб шифрування інформації про первинну структуру білків.
- Кодове число — це кількість нуклеотидних залишків, які кодують включення амінокислоти до складу білка. У біологічному коді кодове число дорівнює трьом.

Кількість різних нуклеотидів при кодовому числі 3 дорівнює 64. Із 64 триплетів 61 використовується для кодування амінокислот, а три (УАА, УАГ та УГА) позначають кінець матриці (термінуючі кодони).

- Кодон — це триплет (три нуклеотидних залишки), що кодує включення однієї амінокислоти. Триплети генетичного коду незалежні один від одного, іноді код перекривається.

- Генетичний код вироджений, тобто кожна амінокислота (окрім триптофану та метіоніну) кодується більш ніж одним кодоном. Якщо два кодони містять два однакових перших нуклеотиди, а їх треті нуклеотиди належать до одного класу (пуринового або піримідинового), то вони кодують одну і ту ж саму амінокислоту. Кодони зчитуються у напрямку 5'→3'.

Генетичний код є специфічним, універсальним і колінеарним.

- Синтез білка з активованих амінокислот перебігає з участю рибосом. Амінокислоти активуються в цитоплазмі аміноацил-тРНК-синтетазами у присутності АТФ. Для кожної амінокислоти є специфічні тРНК більш ніж одного типу.

- тРНК має псевдоуридилову петлю. На 3'-ОН-кінці міститься однакова для всіх тРНК послідовність — триплет ЦЦА-ОН, до якого приєднується специфічна амінокислота.

Антикодонова петля тРНК складається з 7 нуклеотидів, три з яких займають центральне місце і формують антикодон. Він є специфічним і комплементарним до відповідного кодону мРНК.

- Рибосоми містять ферменти та інші білки, які забезпечують взаємодію між мРНК й аа-тРНК, утворення пептидного зв'язку та відокремлення готового білка. Процес утворення пептидного ланцюга можна розділити на 3 стадії: ініціація, елонгація та термінація.

- Полірибосоми (полісоми) — це скупчення рибосом, з'єднаних однією мРНК. Кожна окрема рибосома в полісомі здатна синтезувати повний поліпептидний ланцюг, їй не потрібна присутність інших рибосом. Однак утворення груп рибосом підвищує ефективність використання мРНК через те, що на ній може водночас синтезуватися кілька поліпептидних ланцюгів.

- Консервація мРНК відбувається шляхом зв'язування її зі спеціальними білками цитоплазми. Такий комплекс білка з мРНК називається інформосомою.

- Частина білків синтезується у вигляді попередників. Деякі білки піддаються обмеженому протеолізу. Значно більшу питому вагу має посттрансляційна модифікація білків, яка включає ацетилювання, приєднання простетичних груп, хімічну модифікацію гідроксильних, карбоксильних і аміногруп.

- У ході трансляції білок починає укладатись у тривимірну структуру, якої він остаточно набуває після відокремлення синтезованого білка від рибосоми.

Процес скручування пептидного ланцюга у просторі (фолдинг) здійснюється в кілька стадій за допомогою ферментів фолдингу (фолдаз) і шаперонів.

- Існує група тяжких неврологічних хвороб, зумовлених порушенням просторової структури білка (хвороба Крейнцифелда — Якоба, хвороба Альцгеймера).

- Механізм регуляції біосинтезу білка здійснюється на рівні трансляції за допомогою ковалентної модифікації білкових факторів за участю аденілатциклазної системи.

- Антибіотики, що інгібують процеси трансляції у прокаріот, використовують як антибактеріальні препарати у терапії інфекційних хвороб. Антибіотики, які інгібують процеси трансляції в еукаріот, використовують як протипухлинні препарати.

- Інтерферони утворюють комплекс із вірусною РНК і спричинюють розпад мРНК та гальмування трансляції.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Нуклеїнові кислоти. Загальна характеристика ДНК і РНК, їх біологічне значення в збереженні та передачі генетичної інформації.

2. Особливості первинної структури ДНК і РНК. Зв'язки, що утворюють первинну структуру нуклеїнових кислот.

3. Вторинна структура ДНК, роль водневих зв'язків в її утворенні (правила Чаргафа, модель Уотсона — Кріка), антипаралельність ланцюгів.

4. Третинна структура ДНК. Фізико-хімічні властивості ДНК: взаємодія ДНК із катіонними лігандами, утворення нуклеосом.

5. Молекулярна організація ядерного хроматину еукаріотів: нуклеосомна організація; гістони та негістонові білки.

6. Будова, властивості й біологічні функції РНК. Типи РНК: мРНК, тРНК, рРНК. Особливості структурної організації різних типів РНК.

7. Нуклеопротеїни: будова, біологічні функції.

8. Біохімічний склад, будова і функції біологічних мембран.

9. Компартменталізація біохімічних процесів у клітинах.

10. Біосинтез пуринових нуклеотидів: схема реакцій синтезу ІМФ, утворення АМФ і ГМФ, механізми регуляції.

11. Біосинтез піримідинових нуклеотидів: схема реакцій, регуляція синтезу.

12. Біосинтез дезоксирибонуклеотидів. Утворення тимідилових нуклеотидів, інгібітори біосинтезу дТМФ як протипухлинні засоби.

13. Катаболізм пуринових нуклеотидів. Спадкові порушення обміну сечової кислоти.

14. Схема катаболізму піримідинових нуклеотидів.

15. Реплікація ДНК: біологічне значення, напівконсервативний механізм реплікації.

16. Послідовність етапів і ферменти реплікації ДНК у прокаріотів й еукаріотів.

17. Транскрипція РНК: РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів, сигнали транскрипції (промоторні, ініціаторні й термінаторні ділянки геному).

18. Процесинг — посттранскрипційна модифікація новосинтезованих мРНК.

19. Генетичний (біологічний) код. Триплетна структура коду, його властивості.

20. Транспортні тРНК. Активація амінокислот. Аміноацил-тРНК-синтетази.

21. Етапи і механізми трансляції (біосинтезу білка) в рибосомах: ініціація, елонгація, термінація.

Глава 13. ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ГЕНЕТИКИ

13.1. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ У ПРОКАРІОТІВ ТА ЕУКАРІОТІВ

Існує два напрямки регуляції інтенсивності біосинтезу білка: прискорення біосинтезу білка або індукція і гальмування (уповільнення) — репресія. Теорію регуляції синтезу білка розробили французькі вчені Ф. Жакоб і Ж. Моно (теорія оперона). Відповідно до цієї теорії, у біосинтезі білка беруть участь три типи генів:

- 1) структурні гени;
- 2) ген-оператор (або оператор);
- 3) ген-регулятор.

Структурні гени (цистроли) визначають первинну структуру синтезованого білка. Саме ці гени в ланцюзі ДНК служать матрицею для синтезу мРНК, яка потім з'єднується з рибосомами і є матрицею для біосинтезу білка.

Поруч із цистронами перебуває ще одна ділянка ДНК — оператор. Він не містить генетич-

ної інформації, а лише сприймає регуляторні впливи репресора. При цьому оператор включає і виключає той або інший цистрон (або цистрони), від якого залежить синтез відповідного білка. Координований одним оператором одиночний цистрон (або група цистронів) разом із оператором утворюють оперон.

У свою чергу, діяльність оператора перебуває під контролем ділянки ланцюга ДНК, що дістала назву ген-регулятор. Оскільки цистрони, які входять до складу оперона, і ген-регулятор перебувають у різних ділянках ланцюга ДНК, зв'язок між ними здійснюється за допомогою речовини-посередника — білка, названого репресором. Синтез репресора відбувається на матриці мРНК, синтезований на гені-регуляторі. Репресор може перебувати в клітині в активній і неактивній формах. Активна форма репресора має спорідненість до оператора й оборотно з'єднується з ним у комплекс. Утворення такого комплек-

су приводить до блокування синтезу мРНК на цистронах, отже, і синтезу білка.

Речовини, за допомогою яких активний репресор перетворюється на неактивний, називаються індукторами або ефекторами, а речовини, за допомогою яких неактивний репресор перетворюється на активний, називаються корепресорами.

Регуляція синтезу білка шляхом індукції відбувається в такий спосіб. Активна форма репресора з'єднується з індуктором, у результаті чого утворюється неактивний репресор, який втрачає здатність зв'язуватися з геном-оператором, що, таким чином, виходить із-під контролю гена-регулятора. Ген-оператор запускає синтез мРНК на цистронах ДНК, отже, біосинтез білка.

Крім цього, регуляція біосинтезу білка здійснюється шляхом репресії. При цьому неактивний репресор з'єднується з корепресором, перетворюючись на активний репресор, який з'єднується з геном-оператором. Це призводить до блокування синтезу мРНК, отже, і синтезу білка. Корепресорами можуть бути кінцеві продукти синтетичної ферментативної реакції. При нагромадженні в клітині продуктів дії системи ферментів вони зв'язуються з неактивним репресором, перетворюючи його на активну форму, а останній блокує синтез тих ферментів, у результаті дії яких відбулося нагромадження кінцевих продуктів.

Розглянуті механізми регуляції біосинтезу білка на рівні транскрипції не вичерпують усіх можливих ланок такої регуляції. У вищих організмів регуляція може здійснюватися на рівні трансляції, однак ці механізми досліджені поки що недостатньо.

13.2. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ МУТАЦІЙ. РЕПАРАЦІЯ ДНК. РЕКОМБІНАНТНІ ДНК

Точне копіювання ДНК на матриці ДНК, РНК на матриці ДНК створює молекулярну основу однієї з фундаментальних властивостей життя — спадковості. Протилежна властивість — мінливість — настільки ж істотна, оскільки поряд зі спадковістю забезпечує можливість природного добору і біологічної еволюції. З мінливістю пов'язані такі явища, як гетерогенність популяції людини, існування спадкових хвороб і т. ін. Молекулярну основу мінливості становлять наслідуювані нерепаровані зміни первинної структури ДНК — мутації. Вони виникають унаслідок помилок синтезу ДНК у процесі реплікації (при синтезі ДНК на матриці ДНК) або в результаті помилок при репарації ушкоджень ДНК, спричинених різними зовнішніми факторами (хімічні речовини, ультрафіолетове й іонізуюче випромінювання). Інший механізм мінливості становлять рекомбінації — обмін ділянками ДНК між гомологічними хромосомами при статевому розмноженні. Мутації бувають спонтанними і спричиненими різними факторами. Спонтанні мутації дуже рідкі. При реплікації вони становлять 1 по-

милковий нуклеотид на 10^6 – 10^9 нуклеотидів, при транскрипції — на 10^5 – 10^6 і при трансляції — на 10^4 нуклеотидів.

Фактори, що викликають мутації, називаються мутагенними (природні й чужорідні).

До природних мутагенів належать пероксидні сполуки, альдегіди, вільні радикали, до чужорідних мутагенів — хімічні речовини (алкілюючі сполуки, азотиста кислота, окисники); фізичні фактори (іонізуючі випромінювання); біологічні фактори (наприклад, віруси, здатні утворювати в клітині ферменти, що ушкоджують її ДНК).

Іонізуючі випромінювання спричинюють розриви нуклеотидних ланцюгів ДНК і різноманітні зміни азотистих основ, хімічні речовини — дезамінування основ, відщеплення основ, утворення ковалентних зв'язків між ланцюгами ДНК.

Найчастіше спостерігається гідролітичне відщеплення пуринових основ (депуринізація ДНК). З меншою швидкістю відбуваються дезамінування цитозину і депіримідинізація.

У клітині існує система репарації ДНК — ферментативні механізми, які виявляють і виправляють ушкодження ДНК. Якщо відбулося ушкодження азотистих основ (наприклад, їх дезамінування), то вони виявляються і видаляються ДНК-глікозидазами. Ці ферменти гідролітично розщеплюють глікозидні зв'язки між ушкодженою азотистою основою і дезоксирибозою, у результаті чого на молекулі ДНК утворюється апуринова або апіримідинова ділянка, тобто пентозофосфатний ланцюг без азотистих основ.

Ступінь виразності мутації може бути різною. Мутації може піддаватися:

- один-єдиний нуклеотид ДНК — точкові мутації;
- більш протяжний фрагмент ланцюга ДНК, цілі гени, хромосоми — хромосомні аномалії;
- весь геном — поліплоїдія.

Точкові мутації або ті мутації, що захоплюють порівняно невеликі відрізки гена і цілих генів, називаються генними мутаціями. Вони ведуть або до припинення синтезу білка, що кодується ушкодженим геном, або до синтезу зміненого, «неправильного» білка. Заміна нуклеотиду, що призводить до зміни змісту кодону, дістала назву *міссенс-мутація*. Якщо в результаті заміни утворюється один із термінуючих кодонів УАА, УАГ, УГА (*нонсенс-мутація*), то синтез поліпептидного ланцюга обривається на цьому кодоні й виходить незавершений білок. Мутація може бути пов'язана зі вставкою додаткових нуклеотидів або втратою окремих нуклеотидів (*делеція*). Делеції та вставки додаткових нуклеотидів (одного, двох, але не трьох) призводять до зміни зчитування всіх наступних кодонів — це мутація зі «зрушенням». Внаслідок такої мутації синтезується білок із «безглуздою» послідовністю амінокислот, не пристосований для виконання своєї функції. Якщо ж втрачені три нуклеотиди (або їх кількість кратна трьом), то зрушення рамки немає, але синтезується білок, укорочений на одну (або менше) амінокислоту. Вставка трьох нуклеотидів (або кількості, кратної трьом) призво-

дять до синтезу білка, подовженого на одну (або більше) амінокислоту.

Біологічні наслідки мутацій

Мутації можуть бути нейтральними, корисними або шкідливими. При нейтральних мутаціях заміна амінокислотного залишку в білку не позначається на його функції. Ці амінокислоти подібні між собою за властивостями, розмірами бічного ланцюга, зарядом, гідрофобністю (еквівалентна заміна).

Біологічно корисна мутація — це мутація, при якій властивості білків змінюються таким чином, що організм одержує переваги для виживання.

Найчастіше мутації бувають шкідливими. При цьому, як зазначалося раніше, припиняється синтез білка або синтезується «неправильний» білок (наприклад, при серпоподібноклітинній анемії).

Поліморфізм білків. У результаті мутації та рекомбінацій у різних організмів виникають варіанти різних генів або варіанти того самого гена. Варіанти генів, що утворюються в окремих організмах, можуть поступово поширюватися в популяції в результаті їх успадкування. Так формується генотипічна неоднорідність (гетерогенність) популяції, що веде і до фенотипічної неоднорідності. На молекулярному рівні найбільш вивчений такий наслідок генотипічної гетерогенності, як поліморфізм білків. Це існування різних форм білків, які виконують однакові або дуже подібні функції (ізобілки). Найбільш вивчений поліморфізм ферментів (тобто наявність ізоферментів), оскільки їх легше виявити, ніж інші білки, за реакцією, яку вони каталізують.

Місце, що займає ген у хромосомі (або молекулі ДНК), називається генним локусом. Варіанти одного гена в гомологічних хромосомах, що займають у них гомологічні локуси (тобто однакове місце в одномірному просторі ниток ДНК), називаються алелями. У популяції може бути безліч алелів одного гена, тоді як у окремого індивіда — тільки два, оскільки клітини людини диплоїдні (у гаплоїдних статевих клітинах — тільки один алель). Гомологічні хромосоми статевих клітин у процесі мейозу (профаза 1) можуть обмінюватись алелями або їхніми частинами (рекомбінація). Якщо при рекомбінації обмінюються не цілком алельні гени, а ділянки ДНК меншої довжини, то такий обмін може призводити до появи нових, раніше не існуючих у популяції алелів, а не просто нових сполучень колишніх алелів. Після злиття гамет у диплоїдному наборі зиготи виходять різні сполучення алелів — як таких, що вже існували в популяції, так і щойно виниклих у процесі мейозу в парі гамет, які утворили дану зиготу. Диплоїдна клітина гомозиготна за даним геном, якщо алелі (гомологічні локуси) однакові, і гетерозиготна, якщо вони різні. Існування в популяції двох або більшої кількості алелів одного гена і відповідних білків дістало назву алеломорфізм.

Отже, ізобілки — це множинні молекулярні форми білка (поліморфізм білка), що виявляють-

ся в межах організмів одного біологічного виду як результат наявності більш ніж одного структурного гена в генофонді виду. Множинні гени можуть бути представлені як множинні алелі або як множинні генні локуси.

Приклади поліморфізму білків. Гемоглобін А ($2\alpha 2\beta$), F ($2\alpha 2\gamma$) є в еритроцитах майже всіх людей. Гени цих білків не алельні — вони займають різні локуси. Але в крові деяких людей виявляються (здебільшого рідко) інші гемоглобіни, що є продуктами алельних генів. Наприклад, відомо багато алельних варіантів гемоглобіну А. Один із них — це HbS, що відрізняється від HbA лише однією амінокислотою в шостому положенні β -ланцюга (β -6-Glu>Val). Оскільки HbS гірше зв'язується з киснем і має гіршу розчинність, ніж HbA, то розвивається анемія, а еритроцити мають форму не диска, а серпа, звідки і виникла назва хвороби — серпоподібноклітинна анемія. Ця хвороба поширена у місцевостях, де існує ендемічна малярія. Пояснюється це тим, що цикл розвитку малярійного плазмодія пов'язаний з еритроцитами, але в ушкоджених еритроцитах він не розвивається.

Генетичні порушення і навколишнє середовище

Мутагени навколишнього середовища дуже численні, що призводить до постійного нагромадження в наступних поколіннях спадкових хвороб. Високу мутагенну активність мають радіоактивне й ультрафіолетове (УФ) випромінювання. У світі народжується до 15 000 дітей із генетичними дефектами тільки через випробування ядерної зброї в атмосфері. Висока мутагенна активність цих фізичних факторів пояснюється вільнорадикальною деструкцією азотистих основ ДНК й утворенням їхніх аналогів зі зміненою хімічною структурою. Найпоширенішою мутацією, що відбувається під дією УФ-опромінення, є утворення ковалентних зв'язків («зшивка») між сусідніми залишками тиміну в ДНК. Утворені димери тиміну вже не можуть виконувати функцію матриці при реплікації.

Забруднення навколишнього середовища різними хімічними відходами промислових підприємств, хімічними засобами захисту рослин негативно позначається на генетичній програмі всіх живих організмів. Деякі харчові добавки (консерванти, смакові речовини) виявилися мутагенними.

Найпоширенішими мутагенами є:

— аналоги азотистих основ (5-бромурацил, 2-амінопурин);

— дезамінуючі — азотиста кислота, нітрити, нітрозаміни (харчові домішки, добрива);

— алкілюючі — сполуки, які алкілюють (метилуючі) звичайні азотисті основи.

Велика кількість алкілюючих агентів має протипухлинну активність, їх використовують у клінічній та експериментальній онкології.

Лікарські засоби слід перевіряти на мутагенну активність. Особливо небезпечним є застосування хімічних речовин у період вагітності, ос-

кільки, проникаючи через плаценту, вони можуть спричинити вади ембріонального розвитку, каліцтва (подібна дія препаратів називається тератогенною — здатною спричинити каліцтва).

Механізми репарації ДНК

У клітинах є ферменти, які виправляють ушкоджені ділянки ДНК — здійснюють репарацію. Виправлення ушкоджених ділянок одного з ланцюгів ДНК можна розглядати як обмежену реплікацію. Один із процесів репарації здійснюється внаслідок дії ферменту ДНК-фотолази, що, використовуючи видиме світло, одержує енергію для здійснення реакції розщеплення димеру до мономерів. При цьому відновлюються водневі зв'язки між тиміном і аденіном у комплементарних полінуклеотидних ланцюгах ДНК. У процесі репарації функція ДНК відновлюється приблизно на 90–95 %.

Інший процес репарації, що не залежить від наявності світла, дістав назву темної (або ексцизної) репарації (від лат. *excisio* — вирізання). У цьому випадку специфічна ендонуклеаза розпізнає порушення та надрізає ланцюг ДНК поблизу тиміну, що містить тиміновий димер. ДНК-полімераза I або II заповнює ділянку тимідиловими нуклеотидами. Фермент ДНК-лігаза утворює фосфодієфірний зв'язок між новосинтезованими фрагментами й залишком ДНК.

Якщо ж ушкодження охоплюють обидва ланцюги ДНК, то вони не можуть бути ліквідовані системою репарації, оскільки синтез полінуклеотидного ланцюга на місці помилки в ланцюзі ДНК припускає наявність матриці. Таким чином, система репарації підвищує стабільність носія спадкової інформації — ДНК.

Деякі спадкові захворювання людини пов'язані з дефектами в репарації порушень ДНК (наприклад пігментна ксеродерма). Хворі на ксеродерму надзвичайно чутливі до сонячного світла, у них часто розвивається рак шкіри. Доведено, що в одних хворих це захворювання шкіри пов'язане з інактивациєю УФ-ендонуклеази, а в інших — клітини не можуть репарувати ДНК, які мають одноланцюгові розриви, через відсутність ДНК-полімерази I.

Онкогени

Клітини організму діляться, доки не виникають контакти з сусідніми клітинами, після чого поділ зупиняється. Таке явище відоме як контактне гальмування. Винятком є ембріональні клітини, епітелій кишечника, клітини кісткового мозку (кровотворна система) і пухлинні клітини. Неконтрольована проліферація вважається найважливішою відмінною ознакою пухлинних клітин.

Онкогенами називають гени, що викликають розвиток пухлин. Клітинні онкогени (так звані

протоонкогени) є майже точними копіями (гомологами) вірусних онкогенів. Білки, які кодуються такими генами, беруть участь у регуляції процесів росту і диференціювання, особливо клітинної проліферації. Контроль за функціонуванням цих генів здійснюється генами-онкосупресорами (антионкогенами).

Ініціація — ушкодження ДНК в окремій клітині, з якого розпочинається майже кожна пухлина. Цей генетичний дефект може бути спричинений канцерогенами: канцерогенними речовинами, фізичними факторами (УФ-опроміненням, рентгенівськими променями), онкогенними вірусами. Однак для ініціації пухлини важливі не лише ушкодження протоонкогенів. До ініціації пухлини може призвести й ушкодження антионкогена (гена-онкосупресора).

Промачія пухлини — це переважно розмноження змінених клітин, що утворилися, під дією факторів, ініціюючих пухлини. Цей процес може тривати роками.

Прогресія пухлини — це процеси розмноження малігнізованих клітин, інвазії та метастазування, що веде до появи злоякісної пухлини.

Для клінічної ідентифікації пухлин важливо мати у своєму розпорядженні пухлинні маркери. Звичайно це білки, які продукуються пухлинною клітиною або синтезуються іншими клітинами, що взаємодіють із пухлинними: α -фетопротеїн; раково-ембріональний антиген (РЕА).

Цитостатики

Пухлина складається з клітин, що трансформуються, які внаслідок мутації ростуть безконтрольно. Більшість клітин, що трансформуються, розпізнаються й усуваються імунною системою. Ослаблення захисних сил організму спричинює швидкий розвиток пухлини. Можна спробувати зупинити ріст пухлини методами фізіо- або хіміотерапії. Застосовувані з цією метою речовини зветься цитостатиками. Більшість цитостатиків прямо або побічно пригнічують подвоєння ДНК у S-фазі клітинного циклу. Алкілюючі та інтеркалюючі агенти взаємодіють із молекулами ДНК, блокуючи реплікацію і транскрипцію. Антиметаболіти пригнічують синтез попередників ДНК.

Регуляція біосинтезу білка

Білки, які синтезуються з постійною швидкістю, називаються конститутивними, а ті, швидкість синтезу яких різко змінюється залежно від різних умов, — адаптивними. Стимуляція біосинтезу білків, що супроводжується збільшенням їхньої кількості, називається індукцією, а пригнічення синтезу білків — репресією.

Особливості молекулярної організації й експресії геному в еукаріотів

У контролі генної експресії в еукаріотів, крім механізмів, характерних для прокаріотів, беруть участь такі специфічні молекулярні процеси:

1. На рівні структурної організації геному — рекомбінація й ампліфікація генів. У вищих організмах генетичні рекомбінації є важливим елементом статевого дозрівання. У ході утворення заплідненої зиготи з яйцеклітини та сперматозоїда материнська й батьківська хромосоми обмінюються відповідними гомологічними ділянками, що є молекулярно-генетичним механізмом передачі потоками фенотипічних властивостей обох батьків. Рекомбінації включають процеси «розрізування» молекул реципієнтних ДНК за допомогою специфічних ДНК-аз і включення в молекули ДНК полінуклеотидних послідовностей, які називаються транспозонами (від англ. *transpose* — переміщати). Здатність транспозонів вбудовуватися в молекули інших ДНК залежить від присутності на кінцях транспозонів певних нуклеотидних фрагментів — інсерційних послідовностей (від англ. *insert* — вставляти, включати); наступне зшивання фрагментів ДНК-лігазами завершує процес рекомбінації (переносу гена) (рис. 13.1).

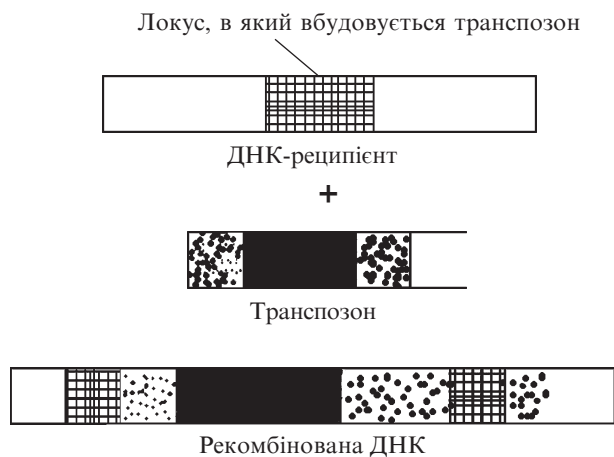


Рис. 13.1. Вбудовування транспозона в ДНК-реципієнт

Ампліфікація генів — процес збільшення кількості копій відповідних генів. Основою ампліфікації є багаторазова ініціація синтезу ДНК (реплікація) у одній і тій самій реплікаційній ділянці. Прикладами ампліфікації генів у вищих організмів є: ампліфікація генів металотіонеїну — білка, що зв'язує токсичні для організму іони важких металів (ртуті, міді, цинку й кадмію); ампліфікація гена дигідрофолатредуктази — ферменту, що у синтезі пуринів і тиміну перетворює фолієву кислоту на її коферментні форми. Явище ампліфікації генів використовується в методі ланцюгової полімеразної реакції, що дозволяє одержати в чистому виді й у достатній кількості ДНК для проведення досліджень. Цей метод використовується в ДНК-діагностиці (діагностиці спадкових захворювань, виявленні вірусів, у тому числі ВІЛ).

2. На рівні транскрипції — посилення або ослаблення транскрипції (енхансери, атенуатори, сайленсери), посттранскрипційної модифікації мРНК. Гени вищих організмів мають розвинену систему сигналів транскрипції, які не тільки вказують місце початку синтезу (промотор), але й регулюють його активність. До специфічних послідовностей ДНК, які підвищують або ослаблюють рівень транскрипції, належать енхансери (підвищують рівень транскрипції), атенуатори (знижують рівень транскрипції), сайленсери (інгібують процес транскрипції). Активуюча дія енхансерів здійснюється за допомогою регуляторних білків, які взаємодіють із ДНК. Наприклад, комплекси стероїдних гормонів зі специфічними білками-рецепторами взаємодіють із певними енхансерами ділянки геному, активуючи транскрипцію ДНК із певних генів.

3. На рівні трансляції основним механізмом регуляції є ковалентна модифікація білкових факторів трансляції шляхом оборотного фосфорилування-дефосфорилування.

Інгібітори трансляції

Процеси трансляції є мішенню для великої кількості фізіологічно активних сполук (лікарських засобів і токсинів). Інгібіторами біосинтезу білка на різних етапах трансляції в прокариотів і еукариотів є антибіотики.

Інгібітори ініціації: стрептоміцин (порушує правильне зчитування мРНК), ауринтрикарбонова кислота (прокариоти). На процеси ініціації трансляції в еукариотів впливають інтерферони — білки, які синтезуються в організмі в лімфоїдній та інших тканинах. Інтерферони мають властивості противірусних антибіотиків і природних протипухлинних речовин. Механізм противірусної дії інтерферонів здійснюється за рахунок фосфорилування фактора ініціації ІФ-2, що може існувати в дефосфорильованій (активній) і фосфорильованій (неактивній) формах.

Інгібітори елонгації: аміцетин, хлорамфенікол, тетрациклін, левоміцетин (прокариоти), пуроміцин (прокариоти, еукариоти). Розвиток багатьох вірусних інфекцій пов'язаний з інгібуванням синтезу РНК і білків клітини-хазяїна, що призводить до синтезу вірусних нуклеїнових кислот і білків.

Прикладом може бути патогенез дифтерії. Клітини збудника *Corinebacterium diphtheriae* виділяють токсин білкової природи, що під дією протеолітичних ферментів клітин хазяїна розпадається на два фрагменти. Одним із фрагментів є фермент АДФ-рибозилтрансфераза, що каталізує перенос АДФ-рибозилу на фактор елонгації ЕФ-2. Другий фрагмент необхідний для переносу АДФ-рибозилтрансферази через мембрану клітини. У результаті трансляція припиняється, тому що змінений фактор елонгації ЕФ-2 не може брати участь у транслокації рибосоми. Цим і пояснюється дія токсину.

Інгібітори термінації: анізоміцин, хлорамфенікол, еритроміцин, лінкоміцин, стрептоміцин (прокаріоти).

Генна інженерія

Генна інженерія — це напрямок у молекулярній генетиці з розробки методів конструювання потрібних генів і впровадження їх у клітину хазяїна з метою зміни її генетичних властивостей. Технологія рекомбінантних ДНК, або генна інженерія, здійснила революцію в біології й вплинула на клінічну медицину.

Нині розроблена стратегія вивчення молекулярної природи деяких захворювань, таких як спадкова гіперхолестеролемія, муковісцидоз, таласемія, серпоподібно-клітинна анемія. За допомогою методів генної інженерії можна одержувати білки людини в кількостях, достатніх для терапевтичних цілей (інсулін, гормон росту, активатор плазміногену). Генна інженерія відкрила нові можливості одержання білкових вакцин (білки вірусу гепатиту В) і білкових препаратів для діагностичних цілей (СНІД й ін.). Технологія рекомбінантних ДНК виявилася ефективною для рішення діагностичних завдань і при встановленні ступеня ризику розвитку деяких захворювань. З'явилася принципова можливість здійснення генної терапії таких захворювань, як серпоподібно-клітинна анемія, таласемія, недостатність аденозиндезамінази та ін.

Методи генної інженерії включають такі основні стадії:

— одержання фрагмента ДНК (потрібного гена);

— з'єднання цього гена з так званою векторною молекулою, яка здатна доправити ген до клітин хазяїна й тим забезпечити реплікацію чужорідного гена;

— введення отриманої гібридної ДНК у клітину реципієнта;

— добір клітин, де розмножується (клонується) введений чужорідний ген;

— одержання потрібного гена.

Необхідні гени отримують хімічним або ферментативним способом. Хімічний синтез гена можна здійснити, якщо відома його послідовність нуклеотидів. При ферментативному методі мРНК (із тканин або синтезовану хімічним шляхом) використовують як матрицю для ферментативного синтезу комплементарної ДНК (кДНК) за допомогою ревертази (синтез ДНК на матриці РНК), при цьому утворюється один ланцюг ДНК, а потім за допомогою ДНК-полімерази добудовується другий ланцюг кДНК.

Одержання гібридної ДНК

Гібридну ДНК одержують шляхом розрізання молекули вектора (як вектор застосовуються плазміди, фаги, віруси) і з'єднання її з потрібним геном за допомогою ДНК-лігази.

Ендонуклеази рестрикції (рестриктази) каталізують специфічне розщеплення дволанцюгової ДНК за паліндромною послідовністю, тобто коротким сегментом ДНК, у якому обидва ланцюги при зчитуванні в напрямку 5'→3' мають однакову послідовність. Рестриктази розпізнають 4–7-членні (паліндромні) послідовності, утворюючи розриви в певних місцях. Відома велика кількість рестриктаз. Для їхнього позначення користуються скороченими назвами мікроорганізмів, які їх продукують.

Перенос гібридної ДНК і клонування генів.

Після одержання гібридної ДНК її вносять до середовища, де перебувають клітини-реципієнти. Відбираються клітини, у яких відбувається транскрипція й трансляція, індикатором функціонування пересаженого гена є відповідний білок. Значна частина цих білків виділяється в позаклітинне середовище, їх легко можна одержати, осадивши клітини центрифугуванням. Подібними методами було здійснене пересадження багатьох генів, у тому числі генів інсуліну, соматотропіну, овальбуміну. Це відкриває можливість промислового одержання лікарських препаратів генно-інженерним методом.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Посттрансляційна модифікація пептидних ланцюгів. Регуляція трансляції.

2. Інгібітори транскрипції та трансляції у прокаріотів і еукаріотів: антибіотики й інтерферони — їх застосування в медицині. Дифтерійний токсин.

3. Регуляція експресії генів прокаріотів: регуляторні та структурні ділянки лактозного (Lac-) оперона (регуляторний ген, промотор, оператор).

4. Мутації: геномні, хромосомні, генні. Механізми дії мутагенів. Роль індукованих мутацій у виникненні ензимопатій і спадкових хвороб людини.

5. Біологічне значення та механізми репарації ДНК. Репарація УФ-індукованих генних мутацій: пігментна ксеродерма.

6. Генна інженерія: конструювання рекомбінантних ДНК; клонування генів; генно-інженерний синтез ферментів, гормонів, інтерферонів та ін.

14.1. МОЛЕКУЛЯРНО-КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ ПЕПТИДНИХ ГОРМОНІВ І БІОГЕННИХ АМІНІВ

Нейроендокринні механізми підтримання гомеостазу

Фундаментальними властивостями організму людини є здатність до саморегуляції. Регуляторні механізми спрямовані на підтримання гомеостазу (динамічної сталості внутрішнього середовища організму).

Однак для організму також характерні зміни деяких параметрів:

1. Онтогенез — експресія генів у певній послідовності, що призводить до зміни метаболізму, морфології та функціонального стану органів.

2. Циклічні зміни — біоритми (статевий цикл, активність ферментів, вміст гормонів, метаболізм).

3. Зміна фізіологічної активності — рухової, нервової системи, органів чуття.

4. Адаптивні зміни організму, спричинені зовнішніми факторами (теплопродукція, гіпоксична еритремія).

5. Реакція на пошкодуючі агенти зовнішнього середовища (індукція синтезу антитіл, гідроксилаз, запальна реакція).

Системи регуляції організму забезпечують оптимальний режим функціонування й оптимальну реакцію на зміну зовнішніх умов, тобто підтримку гомеостазу.

Існують три рівні регуляції для підтримки гомеостазу:

1. Внутрішньоклітинний механізм:
 - а) активація чи інгібування ферментів;
 - б) індукція чи репресія синтезу білків-ферментів;
 - в) зміна швидкості трансмембранного транспорту.

Виконання специфічних функцій складного організму потребує координації метаболізму між органами, що забезпечується ендокринною і нервовою системами.

2. Гормональна регуляція. Гормон, діючи на клітини-мішені, впливає на метаболізм у них через внутрішньоклітинні механізми.

3. Нервова система з рецепторами сигналів внутрішнього і зовнішнього середовища. Сигнал деполаризує нервове волокно, перетворюючись на нервовий імпульс, який спричинює вивільнення медіатора в синапсі. Медіатори змінюють метаболізм у клітинах.

Утворення і виділення гормонів у гіпоталамусі й гіпофізі взаємозалежні. Гіпоталамус одержує від ЦНС сигнали, які перетворюються на хімічні сигнали ліберинів. Ліберини вивільняються з аксонів нервових клітин гіпоталамуса, які

закінчуються в гіпофізі, і стимулюють виділення тропних гормонів клітинами гіпофіза. У передній і середній частці гіпофіза (аденогіпофіз) утворюються тропні гормони, задня частка (нейрогіпофіз) тільки секретує нейрогормони (вазопресин і окситоцин), які утворюються в ядрах гіпоталамуса і транспортуються білком-транспортером (нейрофізином) (рис. 14.1).

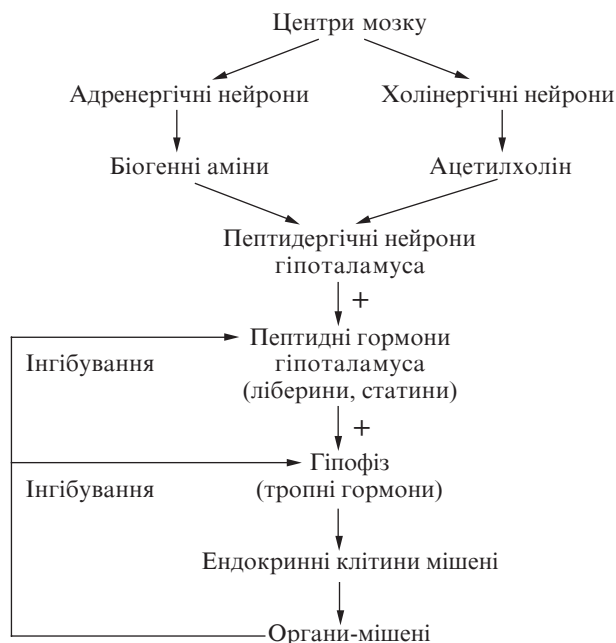


Рис. 14.1. Нейроендокринні механізми підтримки гомеостазу

Таким чином, структури ЦНС виконують гормонпродукуючу і регуляторну функцію. Існують ліберини — олігопептиди, які стимулюють вироблення гормонів передньої частки гіпофіза (тропні гормони), а статини — загальмовують. Нині відомо 7 ліберинів і 3 статини. Якщо припустити, що кількість ліберинів відповідає кількості тропних гормонів, а кількість статинів відповідає кількості ліберинів, то не виявлена ще велика група ліберинів і статинів (табл. 14.1).

У мозку продукуються олігопептиди, що впливають на людські емоції, поведінкові реакції. Відомі ендорфіни, які мають виражений анальгезивний ефект, що в 30 разів перевищує ефект морфіну. Якби ми навчилися викликати секрецію ендорфінів, то операції можна було б проводити без знеболювання, оскільки анальгезивні засоби, які вводять для знеболювання, дуже токсичні, існує небезпека їх передозування через те, що ці речовини мають вузький діапазон між терапевтичною і токсичною дозою. Олігопептиди викликають страх, лють, діють на периферичні ендокринні залози, багато внутрішніх органів.

Таблиця 14.1

Гормони гіпоталамуса і гіпофіза

Гормони гіпоталамуса	Гормони гіпофіза
Кортиколиберин	Кортикотропін (адренкортикотропін — АКТГ)
Тиреолиберин	Тиреотропін (тиреотропний гормон — ТТГ)
Люлиберин	Лютропін (лютеїнізуючий гормон — ЛГ)
Фоліліберин	Фолітропін (ФСГ)
Соматоліберин Соматостатин	Соматотропін (соматотропний гормон — СТГ, гормон росту — ГР)
Пролактоліберин Пролактостатин	Пролактин
Меланоліберин Меланостатин	Меланотропін

Другий поверх ієрархії — це тропні гормони гіпофіза. Вони стимулюють вироблення гормонів периферичних залоз (соматотропін, меланотропін, тиреотропін, кортикотропін, фолітропін, лютропін, пролактин, ліпотропін й ін.) (рис. 14.2).

Вироблення фолітропіну і лютропіну — аж ніяк не прерогатива жіночого організму. Обидві сполуки синтезуються й у жіночому, й у чолові-

чому організмі. Якщо у жінок фолітропін забезпечує дозрівання фолікулів, то у чоловіків — розвиток сперматогенного епітелію. Лютропін забезпечує не тільки дозрівання жовтого тіла, але й вироблення тестостерону (андрогенів), і тому необхідний як жінкам, так і чоловікам. Естрогени й андрогени є в крові кожного чоловіка і кожної жінки, тільки зсув в одному випадку відбувається у бік андрогенів, а в іншому — естрогенів, що впливає на розвиток вторинних статевих ознак.

Класифікація гормонів залежно від відстані їхньої дії та хімічної природи

Гормони — біологічно активні сполуки, що визначають функціонування цілісного організму, мікроструктуру, метаболізм органів і тканин.

Гормони ендокринних залоз діють на клітини, розташовані далеко від місця виділення цих гормонів. Наприклад, гормони інсулін і адреналін синтезуються і виділяються в кров спеціалізованими ендокринними залозами.

Деякі гормони можуть синтезуватися різними органами і тканинами.

Авткринні гормони впливають на ті клітини, які їх продукують. Автокринним гормоном є інтерлейкін-2, що стимулює проліферацію Т-клітин.

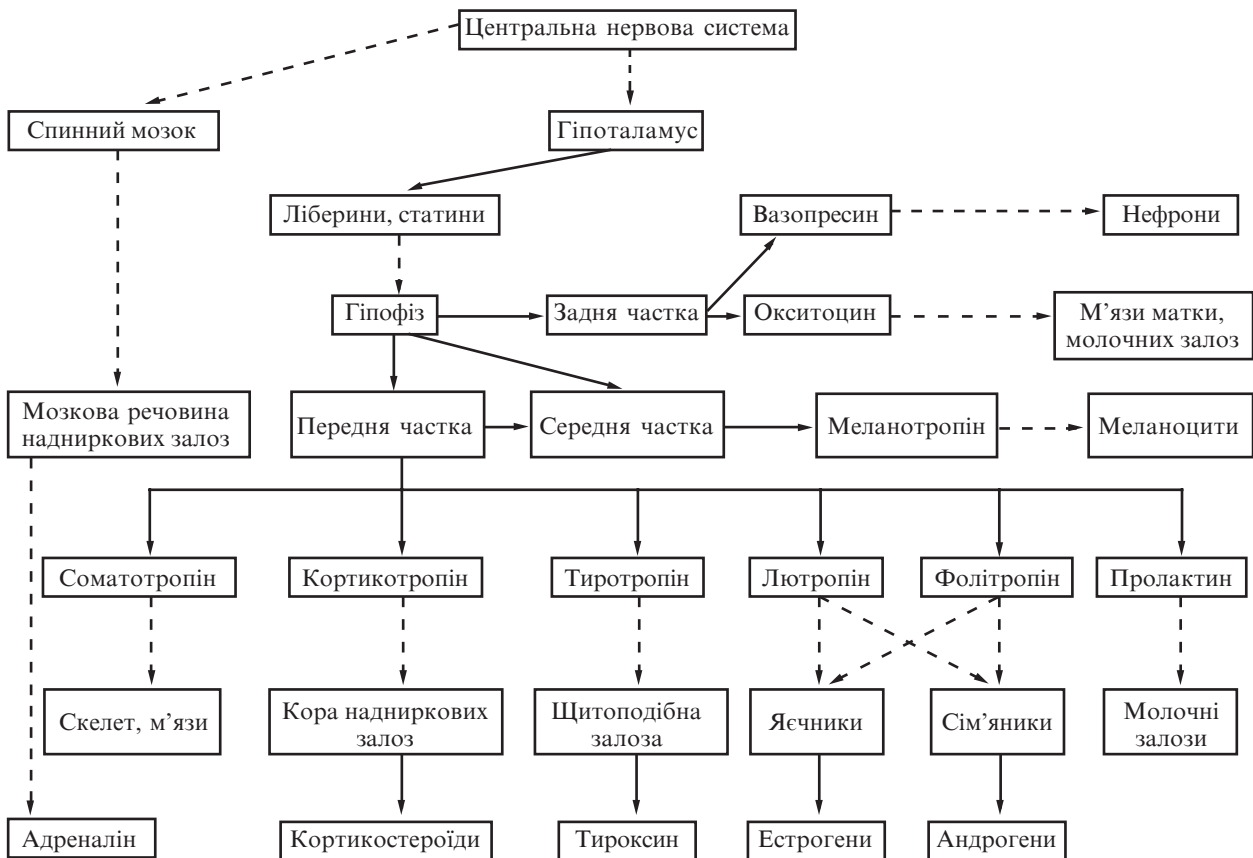


Рис. 14.2. Ієрархія гормонів

Примітка: суцільні стрілки означають синтез гормону; пунктирні — вплив на органи-мішені.

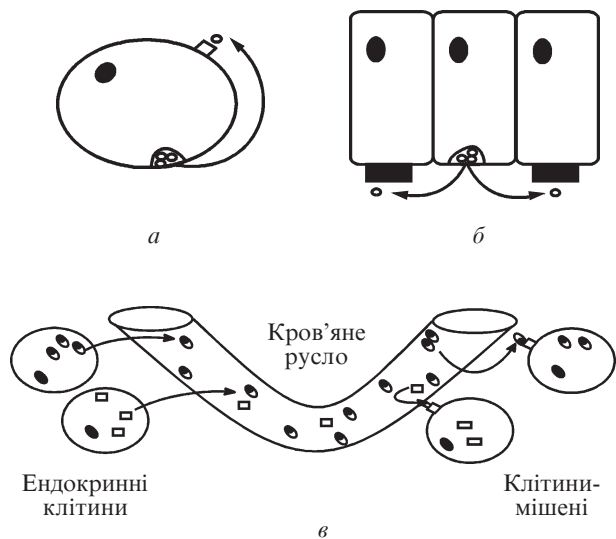


Рис. 14.3. Класифікація гормонів залежно від відстані їхньої дії:

а — аутокринні гормони; б — паракринні гормони; в — ендокринні гормони

Паракринні гормони впливають тільки на клітини, розташовані поблизу. Приклади паракринних гормонів — простагландини і білкові фактори росту (рис. 14.3).

Аутокринні і паракринні гормони — це тканинні гормони. Із них найбільш вивчені ейкозаноїди, калікреїн-кінінова, ренін-ангіотензинова системи. Останніми роками з'явилися повідомлення про те, що в кожному органі виявлені клітини або групи клітин, які чинять гормоноподобну дію.

Класифікація гормонів відповідно до хімічної природи

- Гормони білкової природи:
 - білки — інсулін, соматотропін (поліпептиди);
 - глікопротеїни — тиреотропін, лютропін, фолітропін, хоріонічний гонадотропін людини;
 - пептиди — вазопресин, окситоцин (задня частка гіпофіза), кортикотропін;
 - продукти білкового обміну — адреналін (мозковий шар надниркових залоз), тироксин (щитоподібна залоза).
- Гормони ліпідної природи:
 - стероїдні — гормони кори надниркових залоз, андрогени (чоловічі статеві гормони), естрогени (жіночі статеві гормони);

— ейкозаноїди — продукти обміну ненасичених жирних кислот (табл. 14.2).

Механізм передачі гормонального сигналу

Рецептори стероїдних гормонів і тироксину знаходяться в цитозолі клітини і в ядрі. Гормон проникає в клітину, з'єднується з рецептором і транспортується в ядро. Таким чином, стероїдні гормони і тироксин змінюють метаболізм, впливаючи на транскрипцію, підвищують кількість мРНК, рРНК. Ці РНК контролюють синтез ферментів. Специфічність дії гормонів на органи визначається наявністю або відсутністю рецепторів у клітині.

Рецептори гормонів білкової природи складаються з семи доменів і знаходяться на зовнішній поверхні плазматичної мембрани, усередину клітини гормони не потрапляють. Вторинним посередником у реалізації гормонального ефекту всередині клітини-мішені є цАМФ, цГМФ, іони Ca^{2+} , фосфатидилінозитолова система (рис. 14.4).

Рецептори гормонів білкової природи

Рецептори гормонів і медіаторів нервової системи білкової природи знаходяться на зовнішній поверхні мембрани. Їх можна поділити на два класи:

- Рецептори, сполучені безпосередньо з молекулою ефектора (тип А і В).
- Рецептори, сполучені з ефектором за допомогою посередника (вторинного месенджера, тип С і D) (табл. 14.3, рис. 14.5).

Тип А (іонотронні)

У результаті взаємодії рецептора з гормоном чи медіатором відбувається відкриття на плазматичних мембранах іонних каналів і генерується надзвичайно швидкий потік іонів (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^-). Цей потік іонів спричинює зміну мембранного потенціалу чи концентрації іонів усередині клітини. Приклади: холінергічні нікотинові рецептори, ГАМК-рецептори.

Тип В (метаботронні)

Взаємодія рецептора, який має каталітичну активність, із гормоном, таким як інсулін, викликає активацію тирозинкінази (рецептор інсуліну), яка сприяє переносу залишку фосфорної кислоти від АТФ на $-OH$ -групу тирозину в складі рецептора і потім — на білок-мішень.

Таблиця 14.2

Властивості гормонів ліпідної та білкової природи

Типи гормонів	Розчинність	Транспортні білки	Тривалість життя в плазмі	Рецептори	Медіатори
Ліпідної природи	Ліпофільні	Так	Години, дні	Внутрішньоклітинні	Комплекс рецептор-гормон
Білкової природи	Гідрофільні	Ні	Хвилини	На плазматичних мембранах	цАМФ, цГМФ, Ca^{2+} , фосфоінозитолі

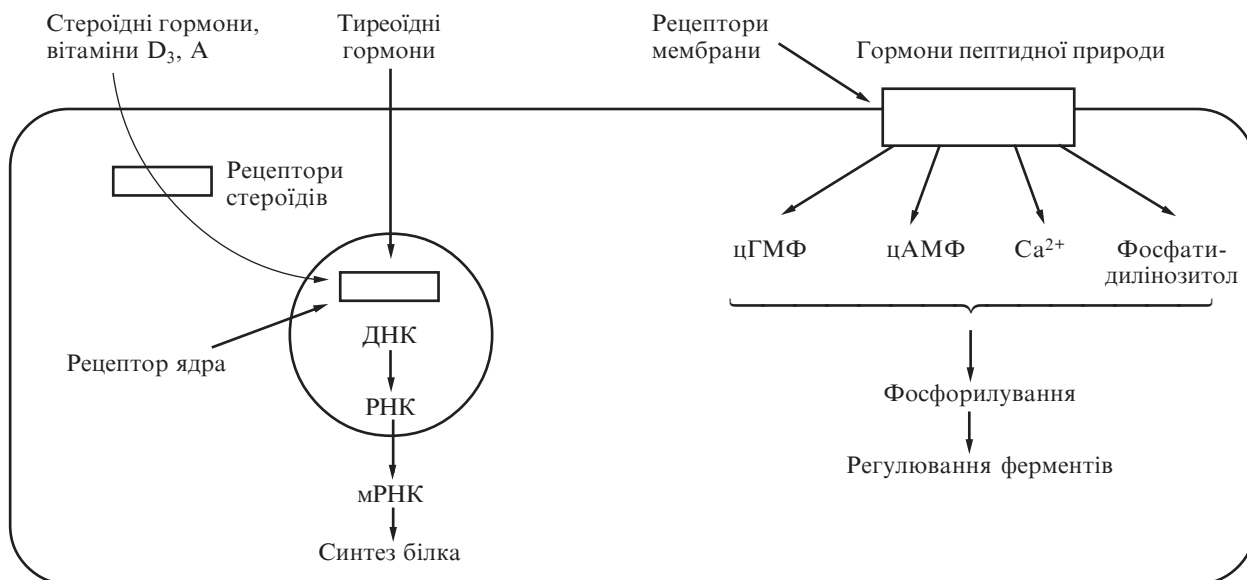


Рис. 14.4. Механізми гормональної регуляції

Таблиця 14.3

Рецептори гормонів на плазматичній мембрані

Рецептори, сполучені безпосередньо з молекулами ефектора		Рецептори, сполучені з ефекторами за допомогою вторинного месенджера (посередника)	
A. Відкривають іонні канали Іонотропні Приклади: холінергічні й нікотинові рецептори; ГАМК-рецептори	B. Рецептори з каталітичною активністю Метаботропні Приклади: інсулінові рецептори	C. Рецептори, зв'язані з аденілатциклазою Метаботропні Приклади: α - і β -адрено-рецептори; глюкагон і адреналін	D. Рецептори, сполучені з фосфатидилінозитолом Метаботропні Приклади: α -адрено-рецептори; гормон росту

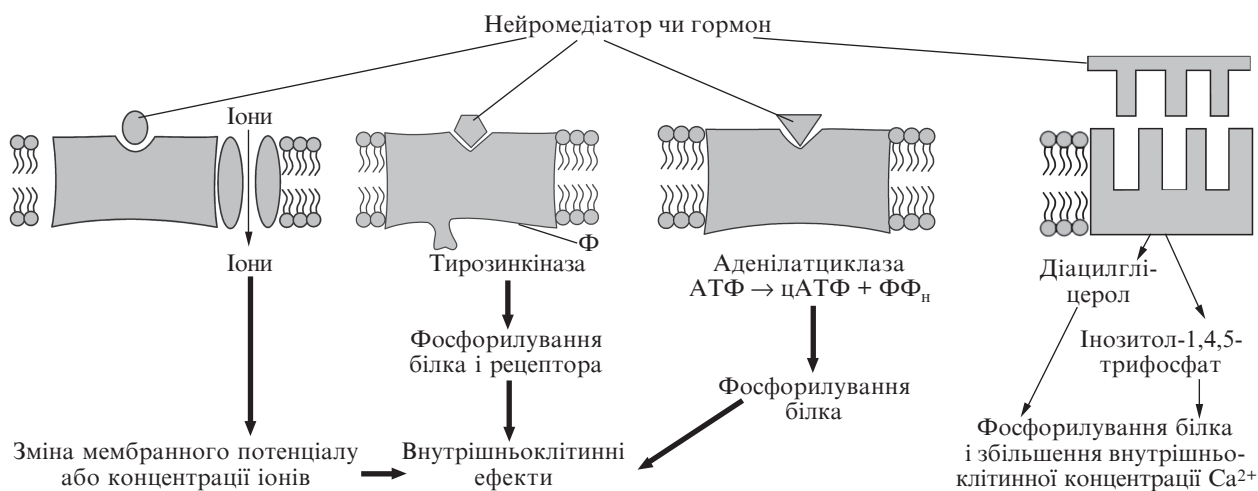


Рис. 14.5. Рецептори гормонів і медіаторів нервової системи білкової природи

Тип C (метаботропні)

Рецептори, зв'язані з аденілатциклазою, при взаємодії з фізіологічно активною сполукою викликають активацію ефекторів клітини за допомогою G-білка, при цьому збільшується чи зменшується активність аденілатциклази. Ці рецеп-

тори є глікопротеїнами, мають позаклітинну лігандзв'язуючу ділянку, 7 трансмембранных спіральних сегментів. N-кінець поліпептидного ланцюга рецептора знаходиться в позаклітинному просторі, С-кінець занурений у цитозоль. Внутрішньоклітинна ділянка взаємодіє з G-

білком — білком-трансдуктором (від англ. *transduction* — перенесення).

Тип D (кальцій/фосфатидилінозитолова система)

Багато рецепторів, зв'язуючись із гормоном чи медіатором, активують мембранозв'язану фосфодіестеразу — фосфоліпазу С. Активована фосфоліпаза С розщеплює фосфатидилінозитол 4,5-дифосфат (похідне фосфоліпідів мембран), при цьому виділяється інозитол-1,4,5-трифосфат і 1,2-діацилгліцерол. Ці сполуки є вторинними месенджерами і виявляють синергічну дію.

1. Інозитол 1,4,5-трифосфат зв'язується з рецептором на ендоплазматичному ретикулумі, що призводить до швидкого виходу іонів кальцію з внутрішньоклітинних запасів. Збільшення концентрації іонів кальцію робить можливим утворення комплексу Са-кальмодулін із чотирма іонами Ca^{2+} , який активує молекули білків. Інозитол-1,4,5-трифосфат при цьому швидко дефосфорилується до інозитол-1,4-дисфосфату та інозитол-1-фосфату, останні неактивні як вторинні месенджери (рис. 14.6).

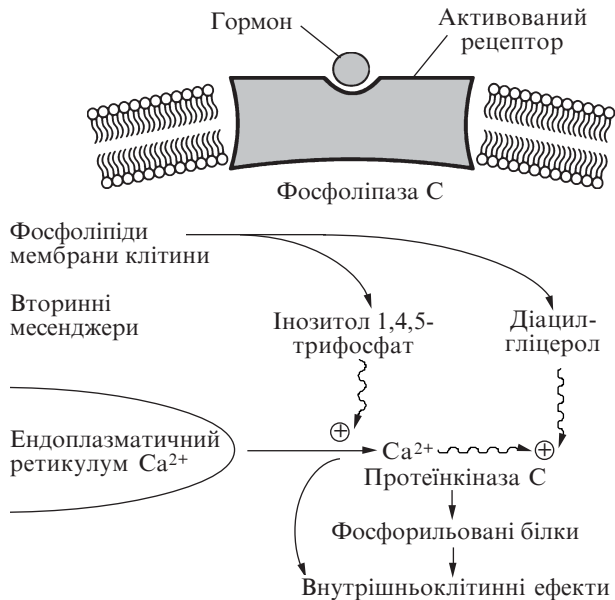


Рис. 14.6. Кальцій/фосфатидилінозитолова система

2. 1,2-діацилгліцерол активує протеїнкіназу С — фермент, який фосфорилує білки. Протеїнкіназі С необхідні іони кальцію для максимальної активності, а також фосфоліпід — фосфатидилсерин.

3. Синергізм між месенджерами. Два вторинних месенджери — 1,2-діацилгліцерол й інозитол-1,4,5-трифосфат — діють в одному напрямку, посилюючи фосфорилування білків. Приклади клітинних функцій, які залежать від функціонування фосфо-інозитолового каскаду:

1. Глікогеноліз у гепатоцитах.
2. Скорочення м'язів.
3. Агрегація тромбоцитів і вивільнення ними серотоніну.

4. Секреція інсуліну острівцевими клітинами підшлункової залози.

5. Секреція адреналіну.

6. Секреція гістаміну мастоцитами.

Механізм регуляції метаболізму за допомогою іонів Ca^{2+}

Внутрішньоклітинний вміст іонів Ca^{2+} дорівнює 10^{-7} ммоль/л, тоді як поза клітиною — 10^{-3} ммоль/л. Іони Ca^{2+} надходять із зовнішнього середовища по «кальцієвих каналах» у мембрані. Потік Ca^{2+} регулюється Ca^{2+} -АТФазою мембрани клітини, яка за рахунок енергії АТФ відкачує Ca^{2+} з цитоплазми у зовнішнє середовище (при обміні на іони Na^{+}). Всередині клітини іони Ca^{2+} депонуються в матриксі мітохондрій, а в м'язовій тканині — у саркоплазматичному ретикулумі. Кальцій надходить із зовнішнього середовища або внутрішньоклітинних депо під дією різних стимулів, взаємодіє з Ca^{2+} -зв'язуючим білком цитоплазми *кальмодуліном*.

Одним із внутрішньоклітинних месенджерів гормонального сигналу є іони кальцію, які, крім модифікації ферментативної активності, беруть участь у виконанні деяких фізіологічних функцій клітини (ріст, поділ, згортання крові, передача нервового імпульсу, контрактильна функція). Передача гормонального сигналу і включення ефektorних систем відбувається завдяки створенню іонних потоків через плазматичну і внутрішньоклітинні мембрани.

Одним із шляхів нагромадження іонів кальцію в клітині є відкриття кальцієвих каналів на плазматичних мембранах за допомогою іонотропних рецепторів, на які діють медіатори нервової системи.

Другим шляхом нагромадження кальцію в цитоплазмі клітин є мобілізація кальцію із внутрішньоклітинних структур (мітохондрій, ендоплазматичного ретикулума) за допомогою фосфатидилінозитолової системи.

У результаті підвищується функціональна активність і модифікується спрямованість метаболізму в клітині. При цьому концентрація іонів кальцію в ній підвищується в сотні разів. Для повернення клітини у вихідний стан необхідно «перекачати» надлишок іонів кальцію всередину ендоплазматичного ретикулума або за межі клітини проти градієнта концентрації. Відбувається цей енергозалежний процес за участю Са-АТФази. Установлена структура Са-АТФази саркоплазматичного ретикулума, що має 3 фрагменти. Перший фрагмент, володіючи АТФазною активністю, гідролізує АТФ і забезпечує енергією перенос іонів кальцію. Другий фрагмент пронизує товщину мембрани саркоплазматичного ретикулума і формує «канал» для транспорту кальцію. Третій фрагмент розташований з внутрішньої сторони мембрани і виконує роль «заглушки», перешкоджаючи зворотному потоку іонів.

У цитоплазмі клітин-мішеней існує білок кальмодулін, який при підвищенні концентрації іонів Кальцію зв'язується з 4 іонами Кальцію, змінює конформацію і набуває здатності активувати

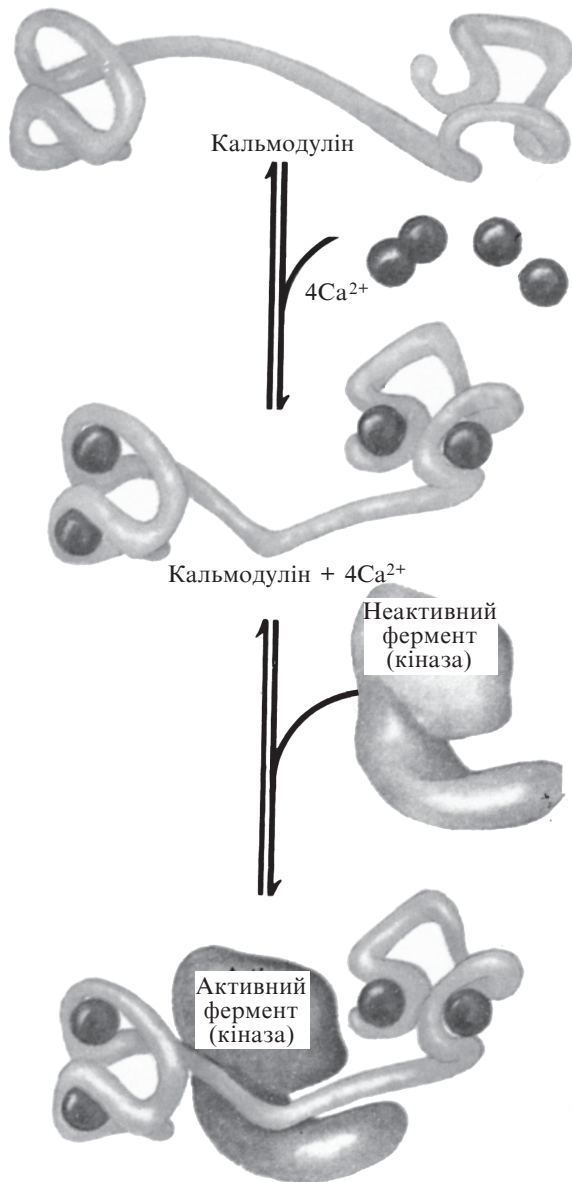


Рис. 14.7. Комплекс 4Ca^{2+} -кальмодулін

групу кальмодулінзалежних протеїнкіназ, які фосфорилують ряд ферментних білків, модифікуючи їхню активність (рис. 14.7).

Вторинні месенджери

Найбільш розповсюдженими вторинними месенджерами є цАМФ та фосфатидилінозитол. цАМФ є посередником у передачі гормонального сигналу в клітині, він утворюється з АТФ під дією активної форми аденілатциклази. Сигнал від рецептора гормону на аденілатциклазу переноситься через G-білок, вбудований у мембрани, що має ГТФазну активність. Комплекс G-білок із ГТФ активує аденілатциклазу, а комплекс G-білок із ГДФ не має такої дії. Збільшення внутрішньоклітинної концентрації вторинних месенджерів досягається:

- активацією аденілатциклази;
- активацією гуанілатциклази;

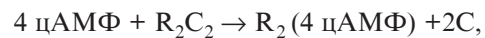
в) активацією фосфоліпази С із залученням фосфоінізитидної системи і мобілізацією внутрішньоклітинного Са;

г) надходженням Са із позаклітинного середовища через іонні канали.

Трансформація гормонального сигналу в біохімічні реакції клітин відбувається через протеїнкінази: цАМФ-залежні; цГМФ-залежні; Са/кальмодулінзалежні; Са/фосфоліпідзалежні; тирозинзалежні протеїнкінази.

цАМФ

цАМФ активує протеїнкінази, які існують у двох формах (активній і неактивній). Неактивна форма складається з 2 субодиниць (каталітичної та рецепторної). R_2C_2 -комплекс не виявляє ферментативної активності. цАМФ з'єднується з рецепторною субодиницею і відокремлює її від каталітичної субодиниці:



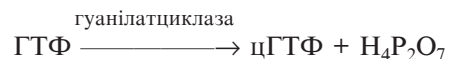
де С — каталітична субодиниця; R — регуляторна субодиниця.

Протеїнкінази каталізують фосфорилування відповідних ферментів, переводячи тим самим їх у неактивний чи активний стан.



цГМФ

цГМФ функціонує як «вторинний месенджер» у кишечнику, серці, мозку, судинах і нирках. У кишечнику і нирках його дія приводить до зміни транспорту іонів й збереження води. У гладкому та серцевому м'язі цГМФ викликає розслаблення (релаксацію), у мозковій тканині може брати участь у її розвитку, а для зрілого мозку — у функціонуванні. Принаймні два ізоферменти гуанілатциклази продукують цГМФ із ГТФ. Ця реакція аналогічна реакції, яка каталізується аденілатциклазою.



Один з ізоферментів — інтегральний білок плазматичної мембрани із доменом рецептора на зовнішній поверхні мембрани і доменом цГМФ на цитозольній стороні — має три ділянки: рецепторну, внутрішньомембранну, каталітичну. Цей ізофермент гуанілатциклази активується зв'язуванням із гормоном — передсердним натрійуретичним фактором, який виділяється клітинами передсердя серця, коли збільшується на-

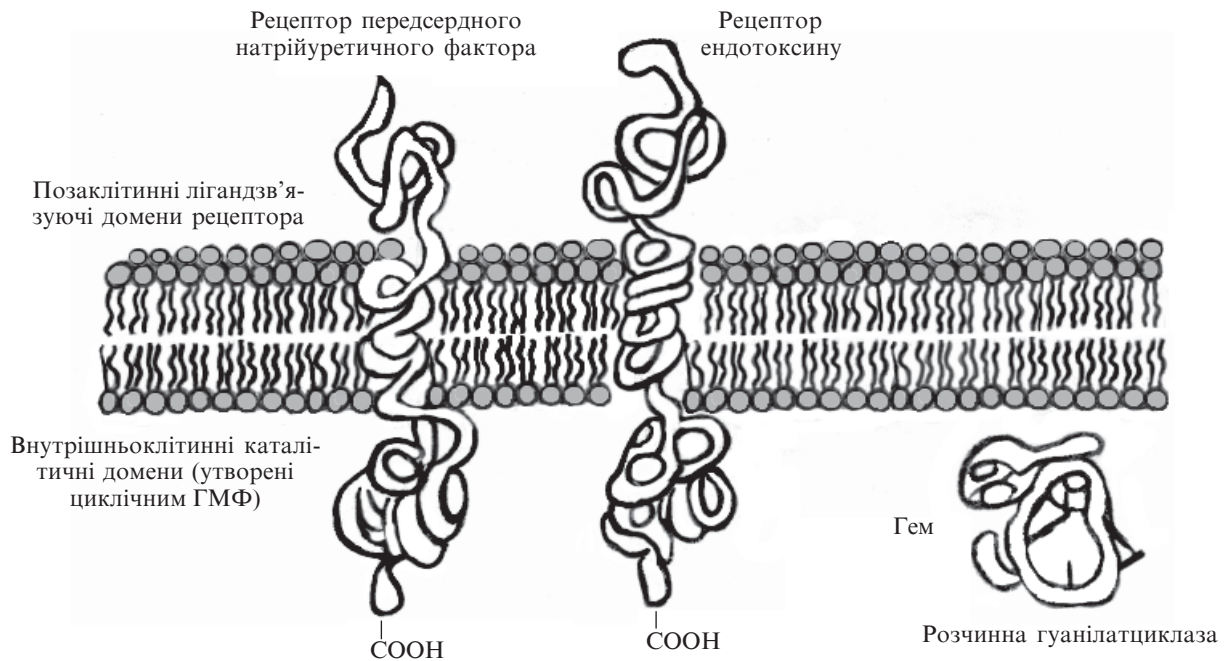


Рис. 14.8. Два типи гуанілатциклаз (ізоформ), що беруть участь у сигнальній трансдукції

повнення передсердя кров'ю (blood volume stretches the atrium). Принесений кров'ю передсердний натрійуретичний фактор активує гуанілатциклазу в клітинах нирок. Підвищення цГМФ збільшує виділення нирками Na^+ і, відповідно, води. Втрата води знижує кров'яний тиск. Гладкі м'язи судин також мають рецептор натрійуретичного фактора — гуанілатциклазу. У результаті зв'язування з рецептором натрійуретичного фактора відбувається розслаблення судин, через що тиск крові знижується.

Подібний рецептор гуанілатциклази в плазматичній мембрані епітеліальних клітин кишечника активується термостабільним бактеріаль-

ним ендотоксином (невеликий пептид), що продукується *E. coli*. У результаті збільшення концентрації цГМФ призводить до зменшення реабсорбції води епітелієм кишечника, ця дія токсину спричинює діарею (рис. 14.8).

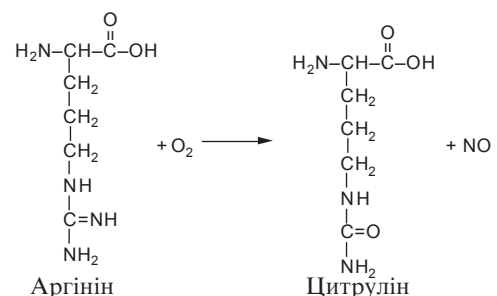
Другий і явно відмінний ізофермент гуанілатциклази — цитозольний білок, який щільно асоціюється з гемом (розчинний білок). Цей фермент активується природною сполукою — оксидом азоту NO (II) і судинорозширювальними нітропохідними сполуками, такими як нітрогліцерин і нітропрусид (використовуються в лікуванні хвороб серця).

Судинорозширювальні нітропохідні спонтанно розщеплюються, утворюючи NO (рис. 14.9).

В організмі людини NO (II) утворюється з аргініну за допомогою Ca^{2+} -залежної оксидази зі змішаними функціями — NO -синтази, яка присутня у багатьох тканинах:



Рис. 14.9. Утворення і розпад оксиду азоту



NO дифундує з цих клітин у сусідні, де зв'язується з гемом гуанілатциклази й активує фермент, який продукує цГМФ. У серці цГМФ знижує силу серцевих скорочень за рахунок стимулювання іонних насосів, які забезпечують низь-

ку концентрацію Ca^{2+} у цитозолі. Це розслаблення серцевого м'яза аналогічне дії нітрогліцерину, який використовується для полегшення стенокардії, болю, спричиненого скороченням серця, позбавленого O_2 через блокування коронарних артерій.

Участь оксиду азоту в функціях органів і тканин

1. Посилення релаксації та діастолічного розтягнення шлуночків, підвищення хронотропної та ізотропної відповіді.

2. Релаксація стравоходу, шлунка, дванадцятипалої кишки, посилення перистальтики кишечника, надходження жовчі, захист слизової шлунка.

3. Синтез NO в ендотелії легеневих судин, епітелії верхніх дихальних шляхів, бронходилатація.

4. Регуляція ниркової гемодинаміки і гломерулярної фільтрації, інгібування транспорту Na і збільшення його екскреції.

5. Зниження адгезії та агрегації тромбоцитів, лейкоцитів, факторів росту, антимітогенна й антипроліферативна дія.

Оксид азоту (NO) — нестабільна сполука короткочасної дії — протягом кількох секунд після утворення; потім NO піддається окисненню до нітрату або нітриту. Оскільки перетворення нітрогліцерину в NO відбувається повільно, то нітрогліцерин спричинює тривале (продлонговане) розслаблення серцевого м'яза.

Вважають, що більшість ефектів цГМФ пов'язана з цГМФ-залежною протеїнкіназою — так званою протеїнкіназою G.

G-білок

Яке значення G-білка в клітинній активності? Перетворення ГТФ на ГДФ відбувається під дією ферменту — ГТФази, яка гідролізує ГТФ. Скорочено «білок, зв'язуючий гуанілові нуклеотиди» стали називати просто G-білок. Він складається з трьох субодиниць: α , β , γ . У стані спокою ці субодиниці утворюють комплекс, а ГДФ пов'язаний з α -субодиницею. Після того, як первинний месенджер (гормон чи медіатор) приєднується до рецептора, конформація останнього змінюється, він, у свою чергу, зв'язує G-білок. У результаті цієї взаємодії α -субодиниця вивільняє ГДФ. Тепер ГТФ, концентрація якого в клітинах вища, змінює форму α -субодиниці й активує її. Активована і зв'язана з ГТФ α -субодиниця відокремлюється від β - і γ -субодиниць і шляхом дифузії переміщується по внутрішній поверхні плазматичної мембрани, поки не зв'яжеться з ефектором (аденілатциклазою). Зазвичай через кілька секунд α -субодиниця гідролізує ГТФ до ГДФ і тим самим виключається (рис. 14.10, табл. 14.4).

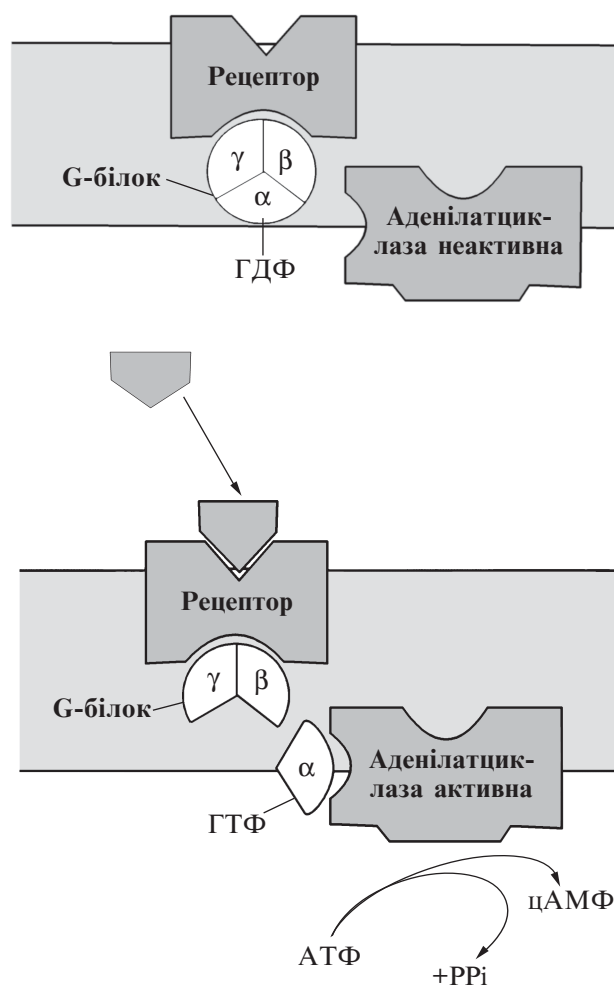


Рис. 14.10. G-Комплекс цАМФ аденілатциклаза

Таким чином, ефекторні системи клітин представлені величезною кількістю протеїнкіназ, які модифікують метаболізм у клітинах шляхом АТФ-залежного фосфорилювання ферментних білків. Існує кілька груп протеїнкіназ:

1. цАМФ-залежні протеїнкінази. До гормонів, що активують аденілатциклазу (діють через G_s -білок), належать адреналін, глюкагон, вазопресин і практично всі тропні гормони гіпофіза. До гормонів, що інгібують аденілатциклазу (діють через G_i -білок), належать ангіотензин, ацетилхолін, опіюїдні пептиди, соматостатин.

2. цГМФ-залежні протеїнкінази.
3. Ca^{2+} /кальмодулінзалежні протеїнкінази.
4. Ca^{2+} /фосфоліпідзалежні протеїнкінази.
5. Тирозинзалежні протеїнкінази.

Перші 4 групи протеїнкіназ фосфорилюють залишки серину або треоніну, що входять у структуру ферментних білків, а тирозинзалежні протеїнкінази фосфорилюють залишки тирозину. Характерною рисою дії тирозинзалежних протеїнкіназ є те, що вони не потребують вторинних посередників, а самі зв'язуються з гормоном на зовнішній поверхні мембран, пронизують товщу мембрани і фосфорилюють ферментні білки за

Приклади фізіологічних ефекторів за участю G-білків

Гормон	Тип клітин-мішеней	G-білок	Ефектор	Ефект
Адреналін, глюкагон	Клітини печінки	Gs	Аденілатциклаза	Розщеплення глікогену
Адреналін, глюкагон	Жирова клітина	Gs	Аденілатциклаза	Розщеплення жирів
Лютропін	Клітини яєчників	Gs	Аденілатциклаза	Посилення синтезу естрогенів і прогестерону
Вазопресин	Клітини нирок	Gs	Аденілатциклаза	Затримка води нирками
Ангіотензин	Гладкі м'язи судин	Gq	Фосфоліпаза С	М'язові скорочення, підвищення кров'яного тиску
Ацетилхолін	Клітини серцевого м'яза	Gi	Калієві канали	Уповільнення і ослаблення серцевих скорочень
Енкефаліни, ендорфіни, опіоїди	Нейрони головного мозку	Gi/G ₀	Ca- і K-канали, аденілатциклаза	М'язові скорочення, підвищення кров'яного тиску

Примітки. **Gs**-білки — стимулюючі, які активують аденілатциклазу; **Gi**-білки — інгібуючі, які інгібують аденілатциклазу; **Gq**-білки, які активують фосфоліпазу С.

участю фрагмента, що виходить у цитоплазму клітин. Типовим лігандом для цієї групи протеїнкіназ є інсулін.

14.2. МОЛЕКУЛЯРНО-КЛІТИННІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ СТЕРОЇДНИХ І ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ

На відміну від гормонів білково-пептидної природи і похідних амінокислот, рецептори яких розташовані на мембранах клітин-мішеней, рецептори стероїдних і тиреоїдних гормонів локалізовані в цитоплазмі і ядрі клітин. Внаслідок своєї ліпофільності, ці гормони проникають через плазматичну мембрану клітини в цитоплазму і зв'язуються зі специфічними рецепторами, утворюючи гормон-рецепторні комплекси, які транспортують гормони до певних субклітинних структур. Гормони цитоплазматичного механізму дії впливають, головним чином, на генетичний апарат клітини, тобто цей комплекс транспортується в ядро клітини, де гормон зв'язується з певними сайтами ДНК і підсилює або гальмує синтез певних мРНК, що забезпечують синтез ферментних білків *de novo*. Цитоплазматичні рецептори складаються з: а) домену, що з'єднується з гормоном; б) домену, що з'єднується з певними ділянками ДНК; в) домену, що з'єднується з додатковими регуляторами транскрипції; г) Zn-вмісних доменів — «цинкових пальців», які виступають як регулятори транскрипції й мають вигляд випинань ділянок поліпептидного ланцюга рецепторного білка, сформованих за рахунок зв'язування іонів Цинку з амінокислотами.

Активований гормон-рецепторний комплекс переміщається в ядро, зв'язується зі специфічними

ділянками ДНК, у результаті чого активуються специфічні гени і транскрипція матричних РНК, які на рибосомах забезпечують синтез певних ферментних білків, що реалізують гормональний ефект шляхом модифікації метаболізму. Оскільки в реалізацію ефекту гормонів цитоплазматичного механізму дії залучається біосинтез білка, то прояв цього ефекту за часом триваліший, ніж у гормонів, що зв'язуються з метаболітними рецепторами, і значно поступається гормонам, що зв'язуються з іонотропними рецепторами. Більшість гормонів діють за мембранним механізмом. Лише стероїдні гормони й тироксин мають яскраво виражений цитоплазматичний механізм дії (див. рис. 14.4).

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Гормони: загальна характеристика; роль гормонів та інших біорегуляторів у системі міжклітинної інтеграції функцій організму людини.

2. Класифікація гормонів і біорегуляторів: відповідність структури та механізмів дії гормонів.

3. Реакція клітин-мішеней на дію гормонів. Мембранні (іонотропні, метаболітні) та цитозольні рецептори.

4. Біохімічні системи внутрішньоклітинної передачі гормональних сигналів: G-білки, вторинні посередники (цАМФ, Ca²⁺/кальмодулін, ІФ₃, DAG).

5. Молекулярно-клітинні механізми дії стероїдних і тиреоїдних гормонів.

15.1. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ ТА КЛІТИННИХ ФУНКЦІЙ: ГОРМОНИ ГІПОТАЛАМО-ГІПОФІЗАРНОЇ СИСТЕМИ, ПІДШЛУНКОВОЇ І ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗ

В ієрархії гормональних систем гіпоталамус спричинює регуляторний вплив на функцію гіпофіза за рахунок системи нейропептидів (ліберинів і статинів). Важливу роль у продукції гормонів гіпофіза і нейропептидів відіграє проопіомеланокортин — білок із молекулярною масою 29 000 Да, який є попередником багатьох гормонів. Відбувається це шляхом протеолізу під впливом специфічних протеаз, які гідролізують пептидні зв'язки молекули проопіомеланокортину між певними залишками амінокислот, внаслідок чого утворюються ті чи інші гормони гіпофіза. Родина пептидів проопіомеланокортину (ПОМК) складається з пептидів, які діють або як гормони (кортикотропін, ліпотропін, меланотропін), або як нейромедіатори чи нейромодулятори; ПОМК синтезує приблизно 5 % клітин передньої частки гіпофіза і всі клітини проміжної частки. Регуляція синтезу і секреції ПОМК у цих відділах різна. Різні пептидні гормони можуть бути виділені з того самого попередника за допомогою протеолітичного процесингу. Сегменти прогормону відщеплюються і піддаються посттрансляційній модифікації шляхом глікозування, ацетилювання і фосфорилування. Подальше розщеплення ПОМК у передній і проміжній частках гіпофіза відбувається на ділянці між АКТГ (адренотропний гормон) і β-ЛТГ (β-ліпотропний гормон) (рис. 15.1).

Механізм дії та функції гормонів гіпофіза

За хімічною будовою *тиреотропін, фолітропін, лютропін, гонадотропін людини (плацента)* є глікопротеїнами. Вони складаються з двох субодиниць: α і β. α-Субодиниці в них однакові, а β-субодиниці розрізняються, визначаючи специфічність гормонів. Інші гормони (кортикотропін, пролактин, гормон росту) є простими білками, що мають один поліпептидний ланцюг, а вазопресин і окситоцин — це циклічні октапептиди.

Усі тропні гормони впливають на функції периферичних залоз або безпосередньо на периферичні тканини після зв'язування з їх мембранними рецепторами й активації аденілатциклази або гуанілатциклази. Саме тому гормони гіпофіза називаються тропними гормонами (від грецьк. *tropos* — поворот, напрямок).

Передня частка гіпофіза

Перебуваючи під контролем гормонів гіпоталамуса, вона секретує ряд тропних гормонів.

Кортиколиберин є основним фактором, який регулює вивільнення ПОМК із передньої частки гіпофіза. Він діє через цАМФ-систему, яка вимагає присутності іонів Ca²⁺. Глюкокортикоїди інгібують утворення кортиколиберину та його секрецію.

Міnorні ефекти на секрецію ПОМК передньої частки справляють вазопресин і α-адренергічні агенти, а також через ЦНС — серотонін, ацетихолін і γ-аміномасляна кислота (ГАМК, γ-амінобутират).

Тиреотропін (тиреотропний гормон) — глікопротеїн. Контролює розвиток і функцію щитоподібної залози.

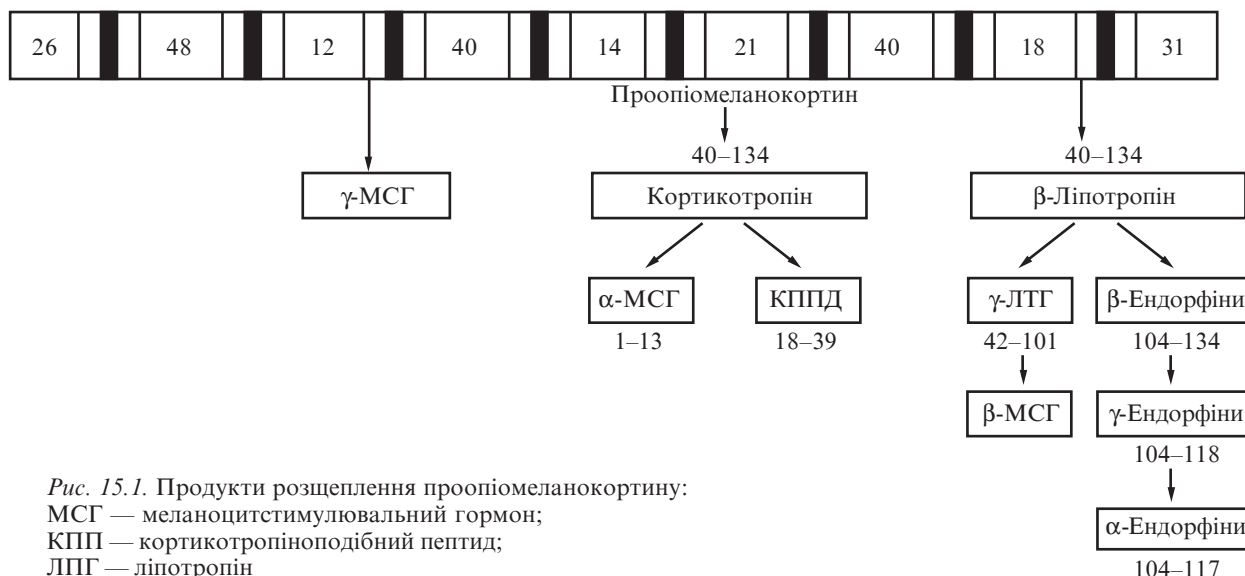


Рис. 15.1. Продукти розщеплення проопіомеланокортину: МСГ — меланоцитстимулювальний гормон; КПП — кортикотропіноподібний пептид; ЛПГ — ліпотропін

1. Сприяє нагромадженню йоду в щитоподібній залозі.

2. Прискорює включення йоду в молекулу тирозину на білковій «подушці» — йодтиреоглобуліні.

3. Активує протеолітичні ферменти, які вивільняють тиреоїдні гормони з йодтиреоглобуліну.

4. Впливає на енергетичний обмін, підсилює нагромадження оксидоредуктаз із SH-групами (адаптація, посилення вільного окиснення). Симптоматика гіперпродукції тиреотропіну подібна дії гормонів щитоподібної залози (дифузійний токсичний зоб). Гіпопродукція тиреотропіну спричинює розвиток тиреотропного (гіпофізарного) карликового росту. Рівень холестеролу при гіпофізарній мікседемі в нормі чи знижений, при мікседемі щитоподібної залози — гіперхолестеролемія.

Фолітропін (фолікулостимулювальний гормон) — глікопротеїн зв'язується зі специфічними рецепторами на плазматичних мембранах клітин-мішеней — фолікулярних клітин яєчників і клітин Сертолі в сім'яниках.

1. Сприяє дозріванню фолікулів у яєчниках у самок, підсилює секрецію естрогенів.

2. Сприяє сперматогенезу в самців за рахунок синтезу андрогензв'язувального білка, який бере участь у транспорті тестостерону, необхідного для сперматогенезу.

Лютотропін (лютеїнізуючий гормон) — глікопротеїн.

1. У самок — зрілий фолікул, забезпечує дозрівання, овуляцію й утворення жовтого тіла, утворення прогестерону клітинами жовтого тіла.

2. У самців — клітини Лейдига, де гормон стимулює утворення тестостерону, сім'яники, де гормон стимулює ріст інтерстиціальних клітин.

Пролактин (лактотропін, лактогенний гормон) — білок.

1. Стимулює розвиток молочних залоз і лактацію.

2. Стимулює ріст внутрішніх органів.

3. Гальмує ефект лютеїнізуючого гормону — овуляцію (зберігає жовте тіло).

4. У жировій тканині активує ліпогенез.

Кортикотропін (адренкортикотропний гормон, поліпептид), орган-мішень — надниркові залози і жирова тканина. Необхідний для формування структури і нормального функціонування кори надниркових залоз, а також синтезу і секреції кортикостероїдів.

1. Підсилює проникнення глюкози в тканину надниркових залоз, що перетворюється на ацетил-КоА, а останній — на холестерол і кортикостероїди.

2. Активує пентозофосфатний шлях, джерело НАДФН + H⁺.

3. Активує ліполіз у жировій тканині.

4. Підвищує рівень холестеролу в корі надниркових залоз.

5. Синтез і секреція кортикотропіну регулюється за принципом негативного зворотного зв'язку за допомогою кортикостероїдів (рис. 15.2):

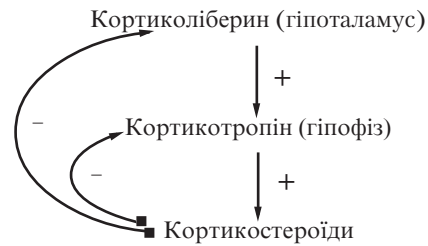


Рис. 15.2. Регуляція синтезу і секреції кортикотропіну за принципом негативного зворотного зв'язку
Примітка. + — активація; – — інгібування.

При гіперпродукції кортикотропіну збільшується утворення глюкокортикоїдів, головним чином кортизолу. Розвивається хвороба Іценко — Кушинга (гіперкортицизм). Гіпопродукція кортикотропіну пов'язана з пухлиною, інфекцією чи інфарктом гіпофіза, спричинює протилежні зрушення.

Соматотропін (гормон росту) — поліпептид. Секреція має пульсуючий характер. Один із найбільших піків продукції відбувається одразу ж після засинання.

1. Спричинює ріст скелета за рахунок трубчастих кісток, затримує їхнє скостеніння. Ріст здійснюється в результаті регуляції обміну білка, кальцію, фосфору.

2. Викликає формування особливостей будови тіла, збільшення ваги за рахунок активації біосинтезу білка, нуклеїнових кислот.

3. Впливає на вуглеводний обмін, сприяє засвоєнню вуглеводів, стимулюючи секрецію інсуліну. Підсилює розщеплення вуглеводів, затримує їхнє перетворення на ліпіди (жири).

4. Сприяє мобілізації жиру з депо й окисненню його в тканинах.

Соматотропін чинить прямий ефект на кісткову тканину, острівці Лангерганса. На жирову тканину, м'язову тканину, хрящі гормон впливає через особливий білковий фактор — соматомедин, який синтезується в печінці. Гіперфункція соматотропіну у дитячому віці викликає посилений ріст — гігантизм, у дорослих — розвиток *акромегалії* (від грецьк. *acros* — крайній, кінцівка, *meas* — великий), характеризується непропорційним інтенсивним ростом окремих частин тіла.

Гіпофункція соматотропіну спричинює розвиток гіпофізарного нанізму (карликовий зріст із порушенням розвитку всіх органів і тканин).

Проміжна частка

Вона містить гормонально активні речовини — похідні пропіомеланокортину. Ця частка бідна на кровеносні судини, гіпоталамо-гіпофізарна портальна система її не досягає, і тому на неї не впливає кортиколиберин. У проміжній частці немає рецепторів глюкокортикоїдів, тому останні не регулюють продукцію ПОМК. Проміжна частка гіпофіза іннервована дофамінергічними волокнами, а також містить серотонінергічні, катехоламінергічні нервові закінчення. Агоністи дофаміну знижують, а антагоністи — підвищують кількість мРНК ПОМК і секрецію пептидів ПОМК. Вивільнення ПОМК у про-

міжній частці стимулюється серотоніном і β -адренергічними агентами.

α -Ліпотропін (ліпотропний гормон, 91 амінокислота)

Ліпотропін активує ліполіз в адипоцитах жирової тканини і мобілізацію жирних кислот (цАМФ-посередник). Вважають, що фізіологічна дія його незначна. Ліпотропін бере участь в утворенні α -, β -, γ -, і δ -ендорфінів, які виконують роль нейромедіаторів, ендогенних знеболювальних факторів і модуляторів важливих психофізичних процесів у пептидергічних структурах головного мозку. Ендорфіни зв'язуються в головному мозку з тими самими рецепторами центральної нервової системи, що й морфінові опіати, вони можуть відігравати роль в ендогенній регуляції чутливості до болю, мають вищу активність, ніж морфін.

Меланоцитостимулюючі гормони (α -, β -, γ -МСГ) — вони стимулюють функціональну активність меланоцитів шкіри, збільшують її пігментацію. Особи з низьким рівнем глюкокортикоїдів (хвороба Аддісона) мають посилену пігментацію шкіри, пов'язану з підвищенням активності МСГ у плазмі.

Задня частка гіпофіза (нейрогіпофіз)

Вона продукує гормони, які регулюють водний баланс (вазопресин) і викид молока з лактуючої молочної залози (окситоцин).

Синтез гормонів здійснюється в гіпоталамусі — по аксонах вони переносяться в гіпофіз. Можливо, у гіпофізі здійснюється дозрівання гормонів, а не тільки їх зберігання. Суть такого механізму полягає, імовірно, у тому, що він дозволяє обминати гематоенцефалічний бар'єр.

Вазопресин (антидіуретичний гормон, АДГ) — пептид.

Контролює водний баланс організму, осмотичний тиск крові. Молекулярний механізм дії вазопресину визначається наявністю двох типів рецепторів (табл. 15.1):

V1 — рецептор, локалізований на мембранах гепатоцитів, тромбоцитів;

V2 — рецептор, локалізований на мембранах епітеліальних клітин трубочок і петель Генлі нефронів.

1. Вазопресин стимулює скорочення гладкої мускулатури судин, що спричинює підвищення кров'яного тиску.

2. Вазопресин активує гіалуронідазу, яка каталізує розщеплення гіалуронової кислоти, через що збільшується проникність клітинних мембран, отже, прискорюється реабсорбція H_2O з первинної сечі й тим самим зменшується діурез, сеча стає більш концентрованою.

При гіперпродукції вазопресину розвиваються набряки (олігоурія, синдром Пархоса), при гіпопродукції — нецукровий діабет (поліурія до 10 л на добу, супроводжується спрагою — полідипсія).

Окситоцин (пептид)

1. Сприяє проникненню іонів Ca^{2+} у клітини. Нагромадження іонів Ca^{2+} підсилює процеси скорочення (матка, бронхи, стінки кишечника, молочна залоза).

2. Блокує активність ацетилхолінестерази, підсилюючи цим збудливість м'язів і силу їх скорочень.

3. Стимулює в ендометрії утворення простагландинів, які активують скорочення гладких м'язів.

У фізіологічних дозах використовується для стимуляції пологової діяльності у жінок.

Гормони щитоподібної залози

У щитоподібній залозі здійснюються синтез і секреція йодотиронінів — тироксину (T_4) і трийодотироніну (T_3). Йодотироніни входять до складу білка тиреоглобуліну, який міститься в колоїді фолікулів щитоподібної залози. Секреція і синтез перебувають під контролем тиреотропіну і перебігають у кілька стадій:

1. Утворення з йодиду «активного» йоду з участю йодопероксидази. Акцептором електронів служить H_2O_2 . Активний йод здатний йодувати тирозин.

2. Йодування тирозину в складі тиреоглобуліну з участю тирозинйодинази. При цьому утворюються монойодтирозин або дийодтирозин.

3. Окисна конденсація моно- і дийодтирозинів з утворенням трийодотироніну і тироксину в молекулі тиреоглобуліну. Процес здійснюється на поверхні тирозинйодинази. Гормони щитоподібної залози зберігаються в складі молекули тиреоглобуліну в колоїдній речовині фолікула.

4. Поглинання тиреоглобуліну з колоїду клітинами епітелію і переміщення його до зовнішньої

Таблиця 15.1

Спрямованість дії вазопресину

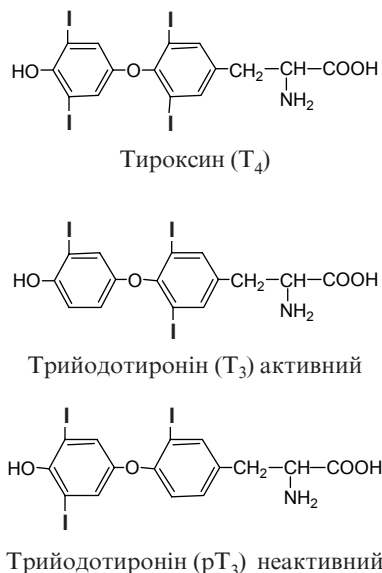
Рецептори	Локалізація дії	Механізм дії	Ефекти
V2	Нирки (дистальна частина нефрону)	Посилення реабсорбції H_2O	Антидіуретична дія
V2	Система згортання крові	Підвищення вмісту в крові антигемофільного глобуліну А	Гемостатична дія
V1	Тромбоцити	Стимуляція агрегації та дегрануляції тромбоцитів	Стимуляція тромбоутворення
V1A	Артеріальні судини	Підвищення тонузу гладких м'язів судин	Вазопресорна дія
V1B	Передня частка гіпофіза	Стимуляція вивільнення кортикотропіну	Стимуляція вивільнення гідрокортизону

поверхні мембрани, оточеної позаклітинною рідиною.

5. Секреція йодотиронінів здійснюється завдяки гідролізу протеазами тиреоглобуліну, з якого вивільняються в кров тироксин (T_4) і трийодотиронін (T_3).

У крові йодотироніни утворюють комплекси з тироксинзв'язувальним глобуліном (75 % циркулюючого гормону), з альбуміном (10 %), з тиреозв'язувальним преальбуміном плазми (15 %), потім транспортуються до периферичних тканин. З білками плазми T_3 зв'язаний приблизно в 3–5 разів слабше, ніж T_4 , тому біологічний ефект T_3 приблизно в 3–5 разів сильніший за T_4 .

Приблизно 99,96 % циркулюючого тироксину пов'язано з білками. У такому стані гормон не має безпосередньо метаболічної активності, але перебуває в рівновазі з 0,04 % вільного гормону. Саме така форма гормону здатна до активності й бере участь у метаболізмі. Велика кількість T_4 зберігається в колоїдній речовині численних фолікулів щитоподібної залози. Хоча тироксин — основний продукт щитоподібної залози, він не є активною формою гормону. Вища спорідненість ядерних рецепторів до T_3 порівняно з T_4 робить T_3 сильнішим гормоном. При нормальному харчуванні й функціонуванні щитоподібної залози близько 15 % циркулюючого T_3 надходить із залози. Більша частина циркулюючого гормону утворюється в результаті періодичного дейодування T_4 . Ферментні системи печінки, нирок та інших тканин контролюють продукцію активного T_3 (залежно від певних умов чи дії лікарських препаратів) або сприяють його переходу в неактивну форму — реверсивний T_3 (rT_3).



Монодейодування зовнішнього кільця молекули тироксину приводить до активації гормону, дейодування внутрішнього кільця — до утворення неактивної форми — rT_3 .

Протеїнзв'язаний тироксин є сховищем гормону в крові. Тільки вільний тироксин і T_3 можуть без перешкод переноситися через мембрану в цитоплазму клітини-мішені, де тироксин ферментативно перетворюється на активніший T_3 . У

клітинному ядрі T_3 зв'язується зі специфічними рецепторами, які належать до сімейства ядерних рецепторів, з'єднаних із хроматином. Ці рецептори неактивні, доки T_3 не дифундує з цитоплазми. Взаємодія T_3 з цим рецептором підвищує швидкість транскрипції РНК, отже, збільшується продукція різних білків (рис. 15.3). Тиреоїдні гормони мають також посттранскрипційні ефекти. Тиреоїдні гормони найсильніше впливають на поділ і диференціювання клітин та енергетичний обмін організму. Зміни в енергетичному обміні зовні виражаються в підвищеному споживанні кисню і продукуванні теплоти. Йодотироніни діють на обмін речовин у двох різних напрямках:

— через ядерні рецептори на хромосоми ядра. Гормони є індукторами синтезу більше 100 різних ферментів. У клітині під дією йодотиронінів зростає кількість мітохондрій, а в багатьох із них збільшуються в розмірах кристи, які містять велику кількість дихальних ланцюгів;

— через активацію йодотиронінами аденілатциклази в тканинах і збільшення вмісту цАМФ, яка активує ліполіз у жировій тканині й глікогеноліз у печінці та м'язах.

Внутрішньоклітинні механізми метаболічних ефектів щитоподібної залози потребують підвищеної активності Na^+/K^+ -АТФази. Посилення активності цього ферменту можливе тільки при високому рівні АТФ, утилізація якої супроводжується утворенням тепла. Підвищена потреба в АТФ забезпечується процесом окисного фосфорилювання в мітохондріях. Йодотироніни роз'єднують дихання і фосфорилювання, через що зростає вільне окиснення і збільшується теплопродукція.

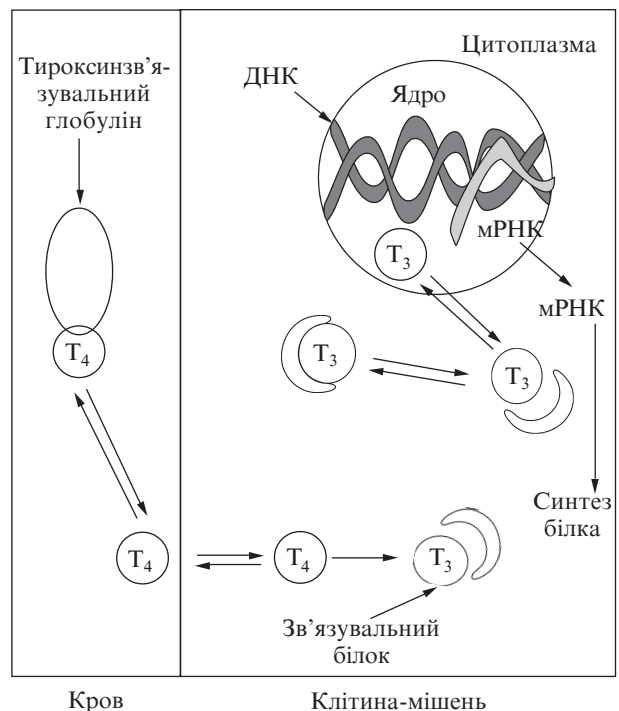


Рис. 15.3. Механізм дії тиреоїдного гормону на клітину-мішень

Порушення функції щитоподібної залози

Гіпертиреоз

Гіпертиреоз може виникнути при:

— надмірній стимуляції залози, як при хворобі Грейвса (базедова хвороба, тиреотоксикоз);

— автономній секреції тироксину, як при токсичній аденомі та токсичному багатовузловому зобі;

— надлишковому прийомі екзогенного гормону.

При надмірному вмісті тиреоїдного гормону зростає потреба клітин у кисні, збільшується продукція тепла і використання метаболітів, що звичайно призводить до зниження маси тіла. Ознаками тиреотоксикозу є схуднення, підвищення температури тіла, інтоксикація недоокисненими продуктами обміну, ураження серцевої та нервової систем.

Надлишкова секреція тирозинстимулювального гормону (ТСГ) дуже рідко стає причиною тиреотоксикозу.

Лікування гіпертиреозу (гіпертироксинемії) залежить від його причини і полягає у призначенні антитиреоїдних препаратів (метимазолу, пропілтіоурацилу), β -блокаторів (пригнічують перетворення T_4 на активну форму T_3), радіоактивного йоду, проведенні хірургічної операції (рис. 15.4).

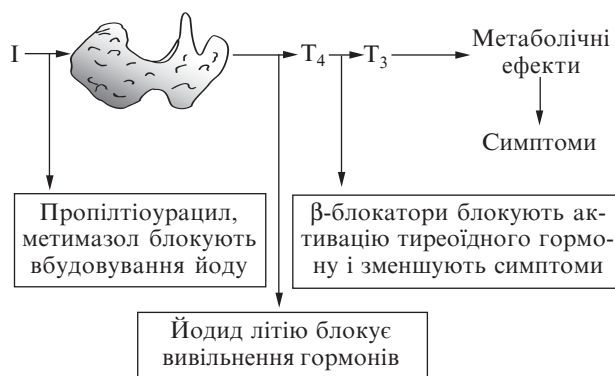


Рис. 15.4. Лікування гіпертиреозу

Гіпотиреоз

Гіпотиреоз може виникнути при:

— недостатності щитоподібної залози (первинний гіпотиреоз, чи аутоімунний тиреоїдит Хашимото);

— недостатності гіпофіза (вторинний гіпотиреоз) чи гіпоталамуса (третинний гіпотиреоз);

— деяких рідких станах, таких як недостатність йоду і спричинена лікарськими препаратами недостатність щитоподібної залози.

При дефіциті гормонів щитоподібної залози утворення тепла і використання кисню зменшуються, а метаболіти окиснюються повільніше, у результаті чого маса тіла збільшується (гіпотиреоз). Виникають набряки, зумовлені збільшенням гідрофільності тканин (слизовий набряк). Гіпотиреоз, який виявляється від самого наро-

дження чи в ранньому дитинстві, відомий як кретинізм. При гіпофункції щитоподібної залози в дорослих розвивається мікседема.

Лікування гіпотиреозу полягає в призначенні пероральної замісної терапії тиреоїдним гормоном, при первинному гіпотиреозі (найчастіша причина) — нормалізації вмісту тирозинстимулювального гормону.

Гормональне регулювання метаболізму кальцію та фосфору

Постійний рівень Са в крові дуже важливий для м'язової діяльності, збудливості нервової тканини, для скоротливої здатності міокарда, при згортанні крові.

У регулюванні метаболізму кальцію беруть участь три гормони: паратгормон, кальцитонін, 1,25-дигідроксихолекальциферол. Четвертий гормон — пептид, подібний до паратгормону (PTHrP) (від англ. *parathyroid hormones — related protein*), він діє на один із рецепторів паратгормону і є важливим для розвитку скелетних м'язів *in utero*. На метаболізм кальцію також можуть впливати гормони, що регулюють вміст фосфору, глюкокортикоїди, гормон росту, естрогени та згломанітні фактори росту.

Кальцій у кістках буває двох типів: легкообмінний пул і набагато більший пул стабільного кальцію, здатний лише до повільного обміну. Є дві різні незалежні гомеостатичні системи, що взаємодіють і впливають на кальцій у кістках.

Одна система регулює Ca^{2+} у плазмі, за її допомогою щодня 500 ммоль Ca^{2+} потрапляє в кістковий пул кальцію, здатний до легкого обміну.

Друга система пов'язана з ремоделюванням кістки шляхом постійної взаємодії між резорбцією та утворенням кістки, у дорослих вона на 95 % відповідає за утворення кістки. Проте взаємобмін Ca^{2+} між плазмою та цим стабільним пулом становить 7,5 ммоль за добу.

Значну кількість кальцію фільтрують нирки, однак 98–99 % його реабсорбується (близько 60 % у проксимальних каналцях, решта — у висхідній частині петлі Генле та дистальних каналцях нефрону). Реабсорбцію в дистальних каналцях регулює паратгормон.

Паратгормон (паратиреоїдний гормон, поліпептид) — його секретують паратиреоїдні залози. Існує три типи рецепторів гормону. Один із них зв'язує як паратгормон, так і пептид, подібний до паратгормону, і через G_s активує аденілатциклазу. Цей рецептор також може за допомогою білка G_q активувати фосфатиділінозитолову систему. Білок з активністю паратгормону утворюється в багатьох тканинах. У хрящах, які розвиваються, він стимулює проліферацію хондроцитів і пригнічує їх мінералізацію.

Механізм дії паратгормону

1. Його головна функція — мобілізація кальцію з кісток і збільшення екскреції фосфату з се-

чею. Регулює обмін кальцію-фосфору в організмі. Органи-мішені — кістки, нирки, шлунково-кишковий тракт (зниження концентрації іонів кальцію спричинює секрецію гормону). Сприяє мобілізації солей кальцію у вигляді цитратів із кісткової тканини в кров (інгібує ізоцитратдегідрогеназу і лужну фосфатазу). Стимулює остеокласти й остеобласти, причому вплив на остеокласти переважає, завдяки чому більше Ca^{2+} мобілізується з кістки (рис. 15.5).

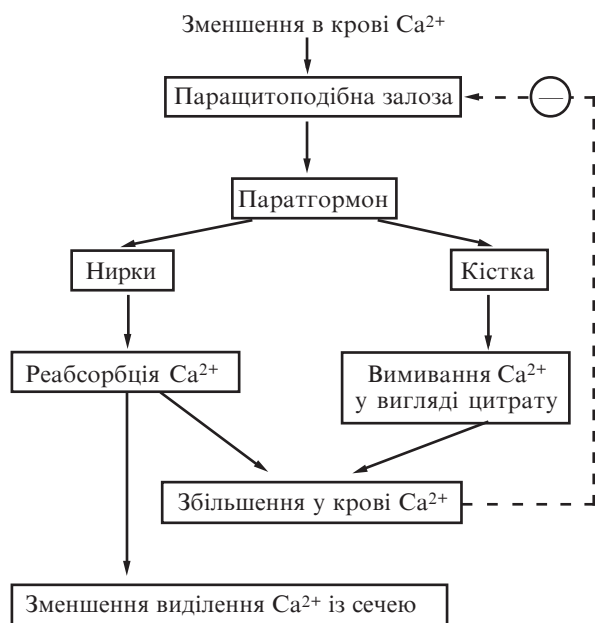


Рис. 15.5. Дія та регуляція паратгормону

2. Зменшує реабсорбцію фосфатів у дистальних канальцях і підвищує канальцеву реабсорбцію кальцію та магнію, що спричинює підвищення концентрації позаклітинного кальцію.

3. Підвищує здатність ниркової тканини утворювати 1,25-дигідроксихолекальциферол, який посилює всмоктування кальцію в шлунково-кишковому тракті.

Гіпопаратиреоз — зниження рівня іонізованого кальцію і підвищення рівня фосфатів у сироватці крові, що призводить до високої нейром'язової збудливості, яка викликає судоми і тетанічні скорочення.

Гіперпаратиреоз — надлишкова продукція паратгормону виникає при аденомі паратиреоїдних залоз або їх гіперплазії. У давніх випадках — резорбція скелета, різні uszkodження нирок, зниження їхньої функції, інфікування сечових шляхів. Розвиток гіперпаратиреозу зумовлений зниженням синтезу 1,25-(ОН)₂D₃ з 25-(ОН)D₃ у патологічно зміненій паренхімі нирок, наслідком чого є порушення всмоктування кальцію в кишечнику. Це порушення, в свою чергу, спричинює вторинне вивільнення паратгормону.

Кальцитонін (тиреокальцитонін) — поліпептид, кальцієзнижувальний гормон щитоподібної залози, інгібує резорбцію кістки. Підвищення вмісту кальцію в дієті веде до підвищення секреції

кальцитоніну. Мішень — кісткова тканина, де пригнічується мобілізація кальцію. Посередник дії — Ca^{2+} -залежна АТФаза.

1. Кальцитонін змінює роботу кальцієвого насоса.

2. Сприяє переходу кальцію з крові в кісткову тканину і сповільнює зворотний процес (впливає на лужну фосфатазу).

3. Підтримує нормальний рівень фосфору в крові та виділення фосфатів із сечею.

Кальцитонін захищає кістки матері від надмірної втрати кальцію під час вагітності. Утворення кісток немовляти та лактація є основними споживачами запасів кальцію, тому рівень 1,25-дигідроксихолекальциферолу під час вагітності підвищений. Якби резорбцію кісток одночасно не пригнічувало збільшення рівня кальцитоніну в плазмі, відбулася б втрата кісткової маси в матері.

Вітаміни D

Вітаміни D підсилюють синтез білка-переносника іонів Ca^{2+} з просвіту кишечника в кров; у нирках підсилюють реабсорбцію і Ca^{2+} , і H_3PO_4 (за певних умов можуть бути синергістами як паратгормону, так і кальцитоніну).

Вітамін D₃ є попередником кальцитріолу, який функціонує як гормон.

1,25-дигідроксихолекальциферол — це стероїдний гормон, утворений з вітаміну D₃ шляхом гідроксилювання в печінці та нирках, його первинною дією є збільшення абсорбції кальцію з кишечника (рис. 15.6).

Перетворення вітаміну D на кальцитріол відбувається за участю двох органів — печінки і нирок. Специфічні гідроксилази, які каталізують ці реакції, активуються паратгормоном. При нестачі вітаміну D₃ у дітей розвивається рахіт, у дорослих — остеомаляція (порушення мінералізації D₃ кісток, що ростуть), але є форми, які не піддаються лікуванню вітаміном D₃. Вони, мабуть, пов'язані з порушенням перетворення вітаміну D₃ на кальцитріол (паренхіма нирок ушкоджена).

Надлишкове надходження вітаміну D₃ призводить до демінералізації кісток (виникають переломи), підвищення концентрації кальцію в крові та відкладання його в м'яких тканинах, утворення каменів у нирках.

Можна підсумувати дію трьох головних гормонів, що регулюють концентрацію Ca^{2+} в плазмі.

Паратгормон збільшує концентрацію кальцію в плазмі, мобілізуючи цей іон із кісток. Він збільшує реабсорбцію Ca^{2+} нирками, однак це може бути наслідком зростання кількості відфільтрованого Ca^{2+} , а також посилює утворення 1,25-дигідроксихолекальциферолу, який посилює абсорбцію Ca^{2+} з кишечника, мобілізує іон із кісток і збільшує реабсорбцію кальцію нирками.

Кальцитонін пригнічує резорбцію кісток і зменшує кількість Ca^{2+} в сечі.

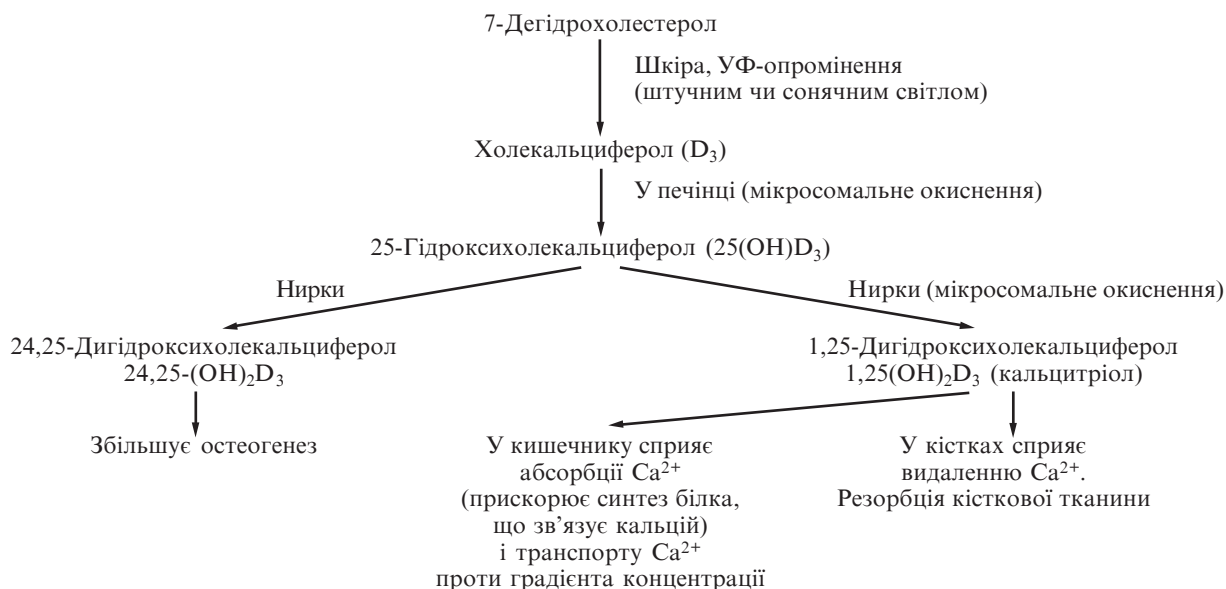


Рис. 15.6. Дія кальцитріолу

Вплив інших гормонів на метаболізм кальцію

Глюкокортикоїди знижують рівень Ca^{2+} у плазмі, пригнічуючи утворення й активність остеокластів, внаслідок дії протягом тривалого часу вони зумовлюють остеопороз через зменшення утворення та збільшення резорбції кісток. Глюкокортикоїди зменшують утворення кістки шляхом пригнічення білкового синтезу в остеобластах, а також сповільнюють абсорбцію Ca^{2+} та PO_4^{3-} з кишечника і збільшують ниркову екскрецію цих іонів. Саме тому вони пригнічують гіперкальціємію в разі інтоксикації вітаміном D, зменшення концентрації Ca^{2+} у плазмі стимулює секрецію паратгормону, який сприяє резорбції кістки.

Гормон росту зумовлює екскрецію кальцію в сечі, проте також підсилює кишкову абсорбцію кальцію, і ця дія може бути більшою, ніж вплив на екскрецію з підсумковим позитивним балансом кальцію.

Інсуліноподібний фактор росту I (ІФР-I), утворений дією гормону росту, стимулює синтез у кістці. Як зазначалося, тиреоїдні гормони можуть спричинити гіперкальціємію, гіперкальціурію, у деяких випадках — остеопороз.

Естрогени запобігають розвитку остеопорозу, можливо, шляхом безпосереднього впливу на остеобласти.

Інсулін сприяє утворенню кістки, тому при нелікованому діабеті простежується помітна втрата маси кісток.

15.2. РЕГУЛЯЦІЯ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ

Регуляція обміну вуглеводів, жирів і амінокислот

Чотири гормони — інсулін, глюкагон, соматостатин і панкреатичний поліпептид — секре-

туються острівцевим апаратом підшлункової залози (α -клітини — глюкагон, β -клітини — інсулін, δ -клітини — соматостатин, р-клітини — панкреатичний поліпептид). Ці гормони секретуються в панкреатичну вену, яка впадає в портальну вену.

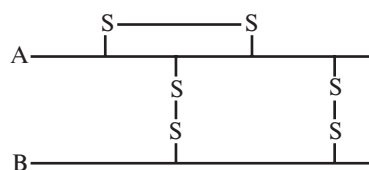
Соматостатин вперше ідентифікований у гіпоталамусі й гіпофізі як гормон, який пригнічує секрецію гормону росту. У підшлунковій залозі концентрація соматостатину вища, ніж у гіпоталамусі. Соматостатин бере участь у місцевій регуляції секреції інсуліну і глюкагону.

Панкреатичний поліпептид впливає на секрецію в шлунково-кишковому тракті.

Біосинтез інсуліну

Інсулін синтезується у вигляді препрогормону (рис. 15.7), який перетворюється на прогормон, що складається з *В-ланцюга-С-пептиду-А-ланцюга*. Молекула проінсуліну розщеплюється в кількох ділянках з утворенням еквімолярних кількостей зрілого інсуліну і С-пептиду, який не виявляє біологічної активності, однак його визначення дозволяє судити про кількість секретованого інсуліну.

Ланцюг А інсуліну — 21-членний пептид, а ланцюг В містить 30 залишків амінокислот. Обидва поліпептиди зв'язані двома дисульфідними містками.



Плазма містить велику кількість речовин з інсуліноподібною активністю (інсуліноподібні фактори росту ІФР-I та ІФР-II).

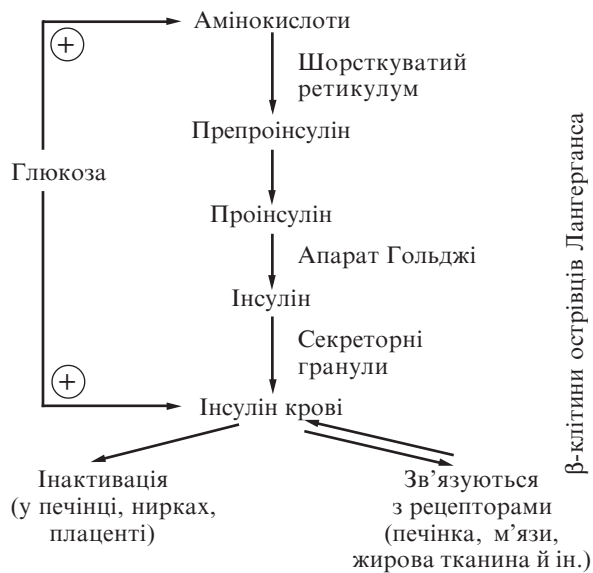


Рис. 15.7. Біоперетворення препроінсуліну

Регуляція секреції інсуліну

1. Підвищення концентрації глюкози в крові — головний фізіологічний стимул секреції інсуліну. Концентрація інсуліну в крові зростає при збільшенні вмісту глюкози (і навпаки), а також іонів Ca, деяких амінокислот і цАМФ (рис. 15.8).

Секреція інсуліну контролюється, головним чином, за допомогою впливу глікемії на β-клітини підшлункової залози завдяки механізму негативного зв'язку. Глюкоза потрапляє в β-клітини через транспортер Glut-2, який міститься в достатній кількості й не залежить від активації інсуліну. Внаслідок анаеробного гліколізу утворюється АТФ, завдяки якому зачиняються АТФ-залежні K⁺-канали. Через це зменшення потоку K⁺ деполаризується клітинна мембрана, що призводить до відкриття потенціал-залежних Ca²⁺-каналів, кальцій надходить до клітини. Збільшення кількості внутрішньоклітинного кальцію призводить до секреції інсуліну шляхом екзоцитозу.

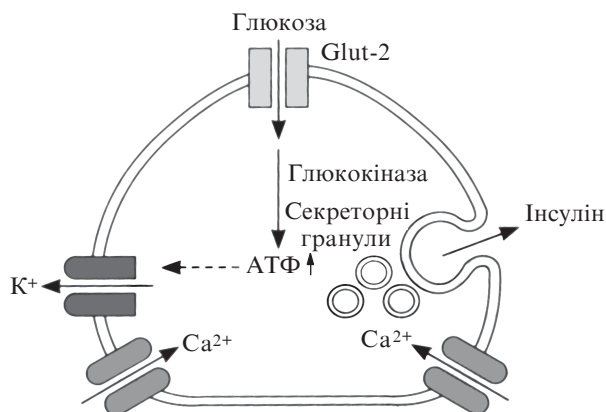


Рис. 15.8. Регулювання секреції інсуліну глікемією

2. Гормональні фактори:

а) різні гормони шлунково-кишкового тракту (секретин, гастрин, холецистокінін) підвищують секрецію інсуліну;

б) глюкоза, введена перорально, має більший інсулінстимулювальний ефект, ніж при внутрішньовенному введенні.

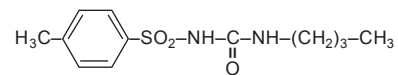
Речовини, які секретуються слизовою оболонкою шлунково-кишкового тракту, стимулюють секрецію інсуліну. Глюкагон, його похідні, секретин, холецистокінін, гастрин, шлунковий інгібіторний поліпептид також чинять таку дію, а холецистокінін підсилює інсулінстимулювальний ефект амінокислот;

в) останнім часом приділяють увагу глюкагоноподібному пептиду-1 — GLP-1 (від англ. *glucagon like peptide*) — додатковому фактору, який стимулює секрецію інсуліну. Цей поліпептид є продуктом препроглюкагону;

г) при хронічному впливі надлишкових кількостей гормонів росту, кортизолу, плацентарного лактогену (а також у пізніх термінах вагітності) секреція інсуліну підвищується.

3. Фармакологічні препарати

Похідні сульфонілсечовини стимулюють секрецію інсуліну



Метаболізм інсуліну

Період напівжиття інсуліну — 3–5 хв. Його метаболізм відбувається в печінці, нирках, плаценті за допомогою:

- інсулін-специфічної протеїнази (інсулінази);
- глутатіон-інсулін-трансгідрогенази.

Механізм дії інсуліну

1. Клітини-мішені: м'язи, серце, печінка, жирова тканина. Інсулін, зв'язуючись зі своїми рецепторами, збільшує V_{max} тирозинкінази, що, у свою чергу, фосфорилює тирозинвмісні білки, приводячи до зміни активності ферментів і властивостей мембран для глюкози, амінокислот, іонів Кальцію, Калію, Натрію. Клітинна мембрана непроникна для полярних молекул, таких як глюкоза, тому захоплення клітиною цієї речовини здійснюється за допомогою білків-переносників. Для глюкози відомі два класи білків-переносників — Na⁺-залежні та полегшуючі транспорт глюкози (Glut-1, -2, -3, -4, -5). Переносники Glut-1 (еритроцити) і Glut-3 (мозок) відповідальні за базальне надходження глюкози. Переносник Glut-2 (печінка) забезпечує транспорт глюкози гепатоцитами в обох напрямках. Переносники Glut-4 у кісткових м'язах і жировій тканині чутливі до інсуліну. Переносник Glut-5 (тонкий кишечник) може брати участь у трансклітинному транспорті глюкози епітеліальними клітинами, які здійснюють всмоктування, завдяки фосфорилюванню ферментів (інсулін полегшує проникнен-

ня іонів Кальцію, що збільшує активність гуанілатциклази), а це веде до посилення синтезу цГМФ. Крім того, іони Кальцію активують фосфодієстеразу, яка розщеплює цАМФ. Більшість білків-транспортів для глюкози, які не є інсулінзалежними, розташовуються у клітинній мембрані.

2. Інсулін взаємодіє з АТФазою, що приводить до росту натрій-калієвого градієнта, а це полегшує активний вторинний транспорт амінокислот у клітину.

3. Інсулін активує фосфопротеїн-фосфатазу, що дефосфорилює специфічні фосфопротеїни: глікогенсинтазу і піруватдегідрогеназу.

4. Інсулін впливає на швидкість транскрипції, трансляції; цим регулюється синтез білків, зокрема ферментів утилізації вуглеводів.

шує проникнення іонів Кальцію, що збільшує активність гуанілатциклази, а це веде до посилення синтезу цГМФ. Крім того, іони кальцію активують фосфодієстеразу, яка розщеплює цАМФ, інсулін активує Na^+/K^+ -АТФазу, що конкурує з аденілатциклазою за АТФ, і теж сприяє зменшенню цАМФ, а також збільшує активність фосфодієстерази, що руйнує цАМФ.

2. Інсулін впливає на експресію генів і синтез білків-ферментів. Комплекс інсулін-рецептор проникає крізь плазматичну мембрану клітини шляхом ендоцитозу, після чого дисоціює на інсулін і рецептор, який переміщується в лізосому для деградації або в апарат Гольджі для рециклізації на мембрану (рис. 15.10).

Рецептор інсуліну

Рецептор інсуліну — тетрамер, який складається з чотирьох субодиниць (2α , 2β). Вони зв'язані дисульфідними зв'язками, дві α -субодиниці мають ділянку для зв'язування інсуліну.

1. Рецептор інсуліну виявляє ферментативну активність. Зв'язування інсуліну з α -субодиницями індукуює конформаційні зміни, які впливають на β -субодиниці, і спричинює фосфорилювання тирозину в кожній β -субодиниці шляхом переносу фосфату від АТФ. Інсулін підвищує V_{\max} цієї ферментативної реакції. Це запускає каскад реакцій фосфорилювання-дефосфорилювання (рис. 15.9), стимулює активність багатьох внутрішньоклітинних молекул — таких, як ГТФ-ази, протеїнкінази, кінази ліпідів. Інсулін полег-

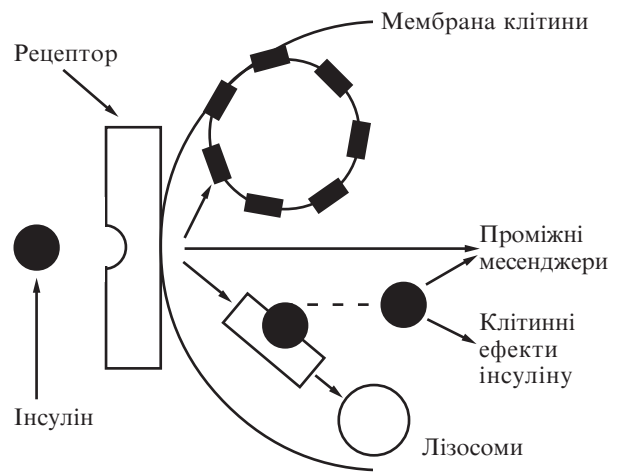


Рис. 15.10. Клітинні ефекти інсуліну

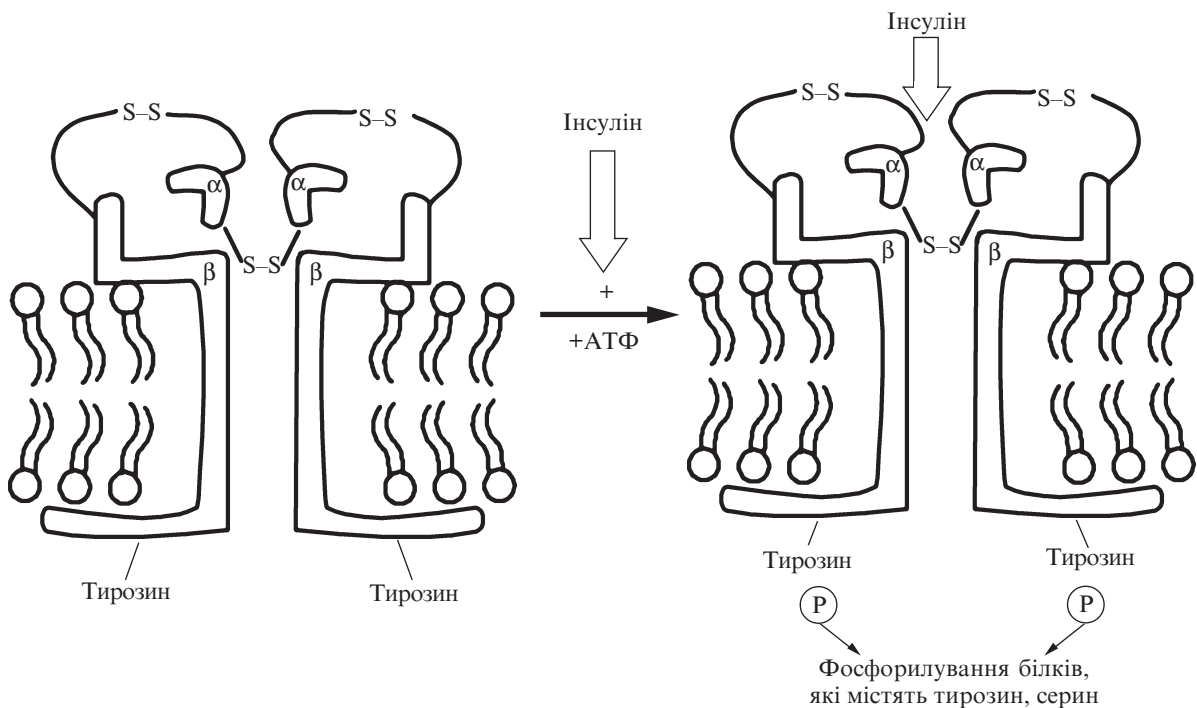


Рис. 15.9. Схема рецептора інсуліну

Вплив інсуліну на метаболізм

Біологічна дія інсуліну реалізується через рецептори інсуліну. У результаті утворення комплексів рецептор-інсулін запускається ланцюг фосфорилування мембранних і цитоплазматичних протеїназ, які спричинюють фосфорилування значної кількості ферментних білків, внаслідок чого відбувається модифікація метаболізму в клітині, змінюється кількість білків-переносників у скелетних м'язах та адипоцитах (Glut-4), а це призводить до підвищення проникності плазматичних мембран і швидшого проникнення в клітини глюкози, амінокислот і вищих жирних кислот. Інсулін впливає на експресію генів і синтез нуклеїнових кислот і білків, бере участь у ембріогенезі та диференціації клітин.

Метаболізм вуглеводів

Інсулін сприяє утворенню глюкозо-6-фосфату, впливаючи на гексокіназу й глюкокіназу. Щодо гексокінази інсулін виконує захисну роль проти інактивуючої дії на цей фермент глюкокортикоїдів. Інсулін сприяє біосинтезу глюкокінази в печінці та β -клітинах підшлункової залози.

Збільшення концентрації глюкозо-6-фосфату в клітині створює умови для активації гліколізу, пентозофосфатного шляху обміну вуглеводів і біосинтезу глікогену. Крім цього, інсулін пригнічує активність ферменту глюкозо-6-фосфатази, що також сприяє підвищенню рівня глюкозо-6-фосфату в клітинах. Активація біосинтезу глікогену зумовлена також і тим, що інсулін підвищує активність ферменту глікогенсинтази шляхом інактивації відповідної протеїнази, оскільки фосфорильована форма глікогенсинтази неактивна. Під впливом інсуліну активується пентозофосфатний шлях обміну вуглеводів через посилення біосинтезу ферменту глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, оскільки високий рівень глюкози в клітині індукує біосинтез цього ферменту. Інсулін активує необоротні реакції гліколізу (гексокіназну, фосфофруктокіназну, піруваткіназну), чим робить цей процес необоротним, водночас блокуючи активність ферментів глюконеогенезу (глюкозо-6-фосфатази, фруктозо-1,6-бісфосфатази). Інсулін активує піруватдегідрогеназний комплекс шляхом дефосфорилування й активації піруватдекарбоксілази. Також інсулін активує піруваткарбоксілазу й інгібує активність фосфоенолпіруваткарбоксікінази, тобто створює умови для нагромадження оксалоацетату у клітині й гальмування початкових етапів глюконеогенезу. Отже, інсулін шляхом посилення окисного декарбоксілювання пірувату і його карбоксілювання створює умови для нагромадження метаболітів ЦТК і активує цитратсинтазу, яка каталізує цю реакцію. Водночас інсулін активує кетоглутаратдегідрогеназу, механізм активації якої ідентичний піруватдегідрогеназі. Таким чином, інсулін діє як «диспетчер», сприяючи утилізації глюкози: активує фосфорилування глюкози і пригнічує дефосфорилування глюкозо-6-фосфату, чим утримує глюкозу у клітині, активує її окиснення і біосинтез глікогену.

Метаболізм ліпідів

Жирова тканина реагує на дію інсуліну таким чином.

1. Зменшенням гідролізу триацилгліцеролів. Інсулін зменшує рівень циркулюючих жирних кислот інгібуванням активності гормон-залежної ліпази в жировій тканині. Можливо, інсулін діє за рахунок дефосфорилування ферменту, в результаті чого фермент інактивується,

2. Збільшенням вмісту триацилгліцеролів. Інсулін збільшує транспорт і метаболізм глюкози в жирових клітинах, забезпечуючи субстрат гліцерол-3-фосфат для синтезу триацилгліцеролів. Інсулін також збільшує активність ліпопротеїнліпази жирової тканини, підвищує кількість жирних кислот для етерифікації.

Метаболізм білків

Інсулін стимулює надходження амінокислот у клітину і синтез білка в більшості тканин, стимулює реакції амінування (утворення замінних амінокислот). Внутрішньоклітинні ефекти інсуліну здійснюються завдяки комплексу рецептор-інсулін, який потрапляє в клітину, де рецептор відокремлюється і вільний інсулін може включатися у синтез білка.

Дефіцит інсуліну

При недостатньому синтезі інсуліну, порушенні його структури, перетворенні проінсуліну на інсулін, посиленні активності інсулінази у крові, зменшенні кількості рецепторів на плазматичних мембранах клітин або порушенні дії клітинних трансмітерів розвивається цукровий діабет. Клінічно це проявляється гіперглікемією, глюкозурією, поліурією, полідипсією. У печінці та м'язах посилюються розпад глікогену, мобілізація ліпідів із депо, внаслідок чого у крові зростає вміст глюкози, холестеролу і ліпідів, уповільнюються швидкість окиснення глюкози й аеробні окиснювальні процеси, зокрема ЦТК, біосинтез білків, ліпідів, нуклеотидів і нуклеїнових кислот. Через активацію глюконеогенезу посилюються розпад клітинних білків і дезамінування амінокислот, спостерігається негативний азотистий баланс. Глюконеогенез із механізму адаптації (нагромадження глюкози шляхом використання недоокиснених продуктів обміну) перетворюється на патологічну ваду, оскільки в умовах дефіциту енергії залучає її до синтезу глюкози, яка не метаболізується у клітині, а виходить у кров, ще більше підвищуючи високий рівень глюкози. Ацетоацетат не утилізується тканинами через пригнічення ЦТК, а нагромаджується, відновлюється до β -оксибутирату і декарбоксілюється до ацетону, після чого у вигляді кетонових тіл екскретується з сечею (кетонемія і кетонурія) (рис. 15.11).

Ці зміни лежать в основі біохімічних порушень, характерних для захворювань, пов'язаних із дефіцитом інсуліну чи недостатністю інсуліночутливих

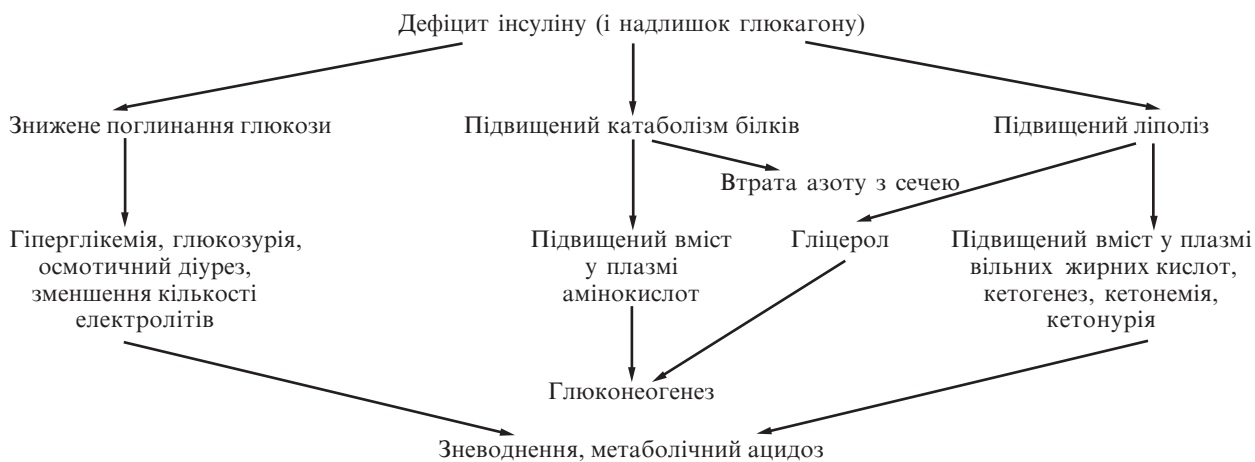


Рис. 15.11. Метаболічні прояви інсулінової недостатності

рецепторів у тканинах, тобто в основі цукрового діабету. При дефіциті інсуліну протеоліз підвищується, утворені амінокислоти використовуються в глюконеогенезі й служать додатковим джерелом глюкози. Прискорене дезамінування — причина збільшення утворення аміаку, сечовини. Посилення ліполізу призводить до підвищення за рахунок β -окиснення концентрації жирних кислот, із яких утворюється ацетил-КоА, що спричинює посилене утворення кетонів і холестеролу.

Порушення метаболізму при цукровому діабеті

Цукровий діабет — основне патологічне порушення регуляції обміну (гомеостазу) інсуліном. Багато пацієнтів страждають на *інсулінзалежний цукровий діабет* (ІЗЦД), також відомий як діабет I типу, але більше розповсюджений *інсуліннезалежний цукровий діабет* (ІНЗЦД) — діабет II типу. Діабет, який виникає під час вагітності — це *гестаційний діабет* (ГЦД), він є фактором ризику для розвитку в подальшому інших форм діабету. Діабет виявляється і при інших захворюваннях або є наслідком впливу фармакологічних і хімічних речовин (табл. 15.2).

Загальні біохімічні симптоми діабету

1. *Гіперглікемія і глюкозурія*. Глюкоза всмоктується з кишечника, нагромаджується в крові у великих концентраціях і тривало затримується в ній. Адреналін, глюкагон, кортизол, які підвищують концентрацію глюкози в крові, продовжують діяти при цукровому діабеті й спричинюють *гіперглікемію*. Концентрація глюкози після прийому їжі може досягати 500 мг/дл.

Найлегші форми цукрового діабету виявляються гіперглікемією лише після прийому їжі, тобто зниженням *толерантності* (від лат. *tolerantia* — терпіння) до глюкози (виявляється методом цукрового навантаження). Це так званий *прихований діабет*. Коли концентрація глюкози в крові перевищує нирковий поріг (180 мг/дл), глюкоза починає виділятися з сечею (*глюкозурія*). У нормі концентрація глюкози в сечі 10–20 мг/дл, при діабеті вона збільшується в десятки разів. У нормі за добу з сечею виводиться *менше 0,5 г глюкози*; при *цукровому діабеті* може виводитися *більше 100 г*. Глюкозурія дала підставу для назви хвороби — *diabetes mellitus* (від лат. *diabetes* — проходжу крізь, *melle* — мед). Назва виникла в ті часи, коли лікарі при аналізі сечі пробували її на смак.

Таблиця 15.2

Типи цукрового діабету

Клінічний тип	Характеристики
Тип I (інсулінзалежний)	Симптоми виникають у віці до 30 років: — інсулінопенія — схильність до кетонемії — глюкозурія Запобігання кетоацидозу і підтримання життєдіяльності залежать від інсуліну
Тип II (інсуліннезалежний)	Симптоми виникають після 30 років, 85–90 % страждають на ожиріння Схильність до кетоацидозу відсутня Глікоземія Підтримання життя не залежить від інсуліну, але він може використовуватися для контролю гіперглікемії
Гестаційний діабет (ГЦД)	Розвивається під час вагітності
Вторинний або інші типи діабету	Пов'язані з певним станом або впливом фармакологічних і хімічних речовин

2. **Кетонемія і кетонурія.** Внаслідок дефіциту інсуліну зменшується співвідношення інсулін/глюкогон, тобто спостерігається *відносний надлишок глюкагону*. З цієї причини печінка постійно функціонує в режимі, який у здорових людей характерний для *постабсорбційного стану*, тобто *інтенсивно окиснює жирні кислоти й утворює кетонові тіла*. Значна частина потреб організму в енергії забезпечується за рахунок кетонових тіл, які є транспортною формою ацетил-КоА.

Концентрація кетонових тіл: у нормі — менше 2 мг/дл; при голодуванні — до 30 мг/дл; при діабеті — 100–350 мг/дл.

При кетонемії (100–350 мг/дл) виникає і *кетонурія* — з сечею виділяється до 5 г кетонових тіл на добу. У тканинах відбувається *декарбоксилювання ацетоацетату кислоти*: від хворого відчувається запах ацетону. Кетонові тіла, які є кислотами, знижують *буферну смість крові*, а при високих концентраціях знижують і рН крові — виникає *ацидоз*. У нормі рН крові дорівнює (7,40±0,04). При вмісті кетонових тіл 100 мг/дл і більше рН крові може бути близьким до 7,0. Зниження рН крові стимулює дихальний ланцюг, що призводить до появи більш глибокого дихання. Ацидоз такого ступеня різко порушує функції мозку, аж до втрати свідомості.

3. **Азотемія й азотурія.** При дефіциті інсуліну порушується синтез білків, збільшується катаболізм амінокислот, зростають концентрація сечовини в крові та негативний азотистий баланс.

4. **Поліурія і полідипсія.** Концентраційна спроможність нирок обмежена, тому для *виведення великих кількостей глюкози, кетонових тіл і сечовини* при цукровому діабеті необхідне виділення великих кількостей води. Відомо, що майже 99 % води зі складу первинної сечі реабсорбується у нирках. Але це процес енергозалежний, він потребує АТФ, кількість якого при цукровому діабеті значно знижена. Хворі на цукровий діабет виділяють сечі в 2–3 рази більше, ніж у нормі (*поліурія*), може настати *зневоднення організму, зменшення об'єму крові*.

Розвиваються зовнішні ознаки дегідратації: сухі слизові оболонки; в'яла і зморшкувата шкіра; запалі очі.

Ацидоз і дегідратація — найнебезпечніші симптоми діабету. Вони є попередниками *діабетичної коми* — різкого порушення всіх функцій організму.

Хворого, який знаходиться в передкоматозному або коматозному стані, можна врятувати введенням у кров *інсуліну і великих кількостей фізіологічного розчину*.

Основним методом лікування діабету є замісна терапія, тобто систематичне введення гормону. Лікування триває все життя. Замісна терапія застосовується тільки при формах діабету I типу, їх лікують і стимуляторами секреції інсуліну — похідними сульфонілсечовини, бігуанідами.

Контроль за перебігом цукрового діабету

Відкриття неферментативного глікозування гемоглобіну дало можливість контролювати стан цукрового діабету протягом тривалого періоду.

Швидкість утворення гліколізованого гемоглобіну HbA_{1c}, що утворився неферментативно, порційна концентрація глюкози в крові, зберігається протягом усього життя клітини. Таким чином, кількість гліколізованого гемоглобіну — достовірний показник концентрації глюкози в крові в попередні 4–6 тиж. У нормі вміст HbA_{1c} не перевищує 6 %, при неконтрольованому діабеті він може перевищувати 10 %. З обережністю слід інтерпретувати результати цього тесту в пацієнтів із скороченим терміном життя еритроцитів (*гемолітична анемія*).

Глюкогон

Глюкогон синтезується α -клітинами в острівцях Лангерганса. Попередником глюкагону є препоглюкогон, який у результаті обмеженого протеолізу перетворюється на проглюкогон, а той за аналогічним механізмом — на глюкогон. За хімічною природою глюкогон — це поліпептид, що складається з 29 амінокислотних залишків. На синтез глюкагону за принципом негативного зворотного зв'язку впливають концентрація у крові глюкози, амінокислот і жирних кислот. Продукцію глюкагону контролює соматостатин. Секреція глюкагону прискорюється при підвищенні вмісту іонів Кальцію та аргініну в крові.

Біологічна дія

Глюкогон є гіперглікемічним гормоном. Він підвищує рівень глюкози в крові трьома шляхами:

1. Глюкогон активує фосфороліз глікогену в печінці, міокарді, жировій тканині, але не в скелетних м'язах. Спочатку глюкогон з'єднується з рецепторами на мембранах клітин печінки, міокарда або жирових клітин з утворенням глюкагонрецепторного комплексу. Цей комплекс активує через G_s-білок аденілатциклазу й утворення цАМФ, що стимулює низку протеїнкіназ, одна з яких фосфорилує глікогенсинтазу, перетворюючи її на неактивну форму. Утворення активної глікогенфосфорилази відбувається внаслідок активації цАМФ-кінази фосфорилази, яка фосфорилує ферментний білок неактивної фосфорилази *b*, перетворюючи її на активну фосфорилазу *a*, що сприяє фосфоролізу глікогену до глюкозо-1-фосфату, тоді як фосфорилювання глікогенсинтази спричинює пригнічення синтезу глікогену. Глюкозо-1-фосфат потім перетворюється на глюкозо-6-фосфат, а останній — на глюкозу.

2. Другий шлях підвищення концентрації глюкози в крові полягає в тому, що глюкогон, на відміну від адреналіну, інгібує гліколіз. Цей ефект зумовлений інгібуванням піруваткінази у клітинах печінки (внаслідок її цАМФ-залежного фосфорилювання) і непрямим інгібуванням фосфофруктокінази.

3. Глюкогон стимулює синтез ферментів глюконеогенезу за участю цАМФ, зокрема фосфоенолпіруваткарбоксікінази. Джерелом утворен-

ня глюкози у цьому випадку є амінокислоти, піруват, лактат, бутират, гліцерин та ін.

4. Глюкагон виявляє потужний ліполітичний ефект, активує триацилгліцеролліпазу (цАМФ-залежним фосфорилуванням).

Крім підшлункової залози, глюкагон синтезується також клітинами травного тракту. Цей глюкагон трохи відрізняється від панкреатичного глюкагону за хімічною структурою, але за біологічною дією вони ідентичні.

Метаболічний ефект глюкагону

1. Розщеплення глікогену (печінка).
2. Глюконеогенез (печінка).
3. Мобілізація жирних кислот (жирова тканина).

Глюкагон активує:

1. Глікогенфосфорилазу.
2. Фруктозо-1-6-бісфосфатазу.
3. Триацилгліцеролліпазу.

Глюкагон інгібує:

1. Глікогенсинтазу.
2. Фосфофруктокіназу.
3. Піруваткіназу.

Глюкагон забезпечує достатній вихід глюкози з печінки в періоди між уживанням їжі. У міру виснаження запасів глікогену в печінці, глюкагон разом із кортизолом стимулює глюконеогенез і забезпечує підтримку нормальної ранкової (натще) концентрації глюкози в крові.

Під час нічного голодування глюкоза синтезується винятково в печінці і її велику частину споживає головний мозок. До 75% продукції глюкози вночі припадає на глікогеноліз, решту забезпечує глюконеогенез. Основні субстрати для глюконеогенезу — лактат, піруват, амінокислоти.

Гормональним сигналом для переходу в стан голодування є падіння концентрації інсуліну в крові. Коли період голодування затягується і вміст інсуліну падає ще нижче, глюконеогенез у печінці стає основним джерелом підтримки концентрації глюкози в крові. Водночас із жирової тканини мобілізуються жирні кислоти, які є джерелом енергії для м'язових скорочень і постачають глюкозу для головного мозку. Якщо голодування триває дні й тижні, то включаються інші гомеостатичні механізми, спрямовані на збереження білкової структури організму. Ці механізми переключають мозок

на використання кетонів тил: ацетоацетату і β-гідроксибутирату (рис. 15.12).

15.3. ГОРМОНИ НАДНИРКОВИХ І СТАТЕВИХ ЗАЛОЗ. ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНІ ЕЙКОЗАНОЇДИ

Гормони мозкової речовини надниркових залоз

Надниркові залози складаються з двох частин — кірковий (зовнішній) шар і мозковий (внутрішній). У кожному з них синтезуються свої специфічні гормони.

У мозковому шарі надниркових залоз синтезуються гормони — адреналін (епінефрин) і норадреналін (норепінефрин). Вони утворюються з амінокислоти фенілаланіну, що перетворюється на тирозин шляхом гідроксилювання за участю ферменту фенілаланінгідроксилази. Існує вроджена вада синтезу фенілаланінгідроксилази, внаслідок чого тирозин стає незамінною амінокислотою. Спочатку тирозин піддається гідроксилюванню з утворенням діоксифенілаланіну (ДОФА), який, декарбоксилюючись, перетворюється на діоксифеніламін (дофамін). У результаті гідроксилювання бічного ланцюга дофамін перетворюється на норадреналін, а останній, після приєднання метильної групи від S-аденозилметіоніну, перетворюється на адреналін.

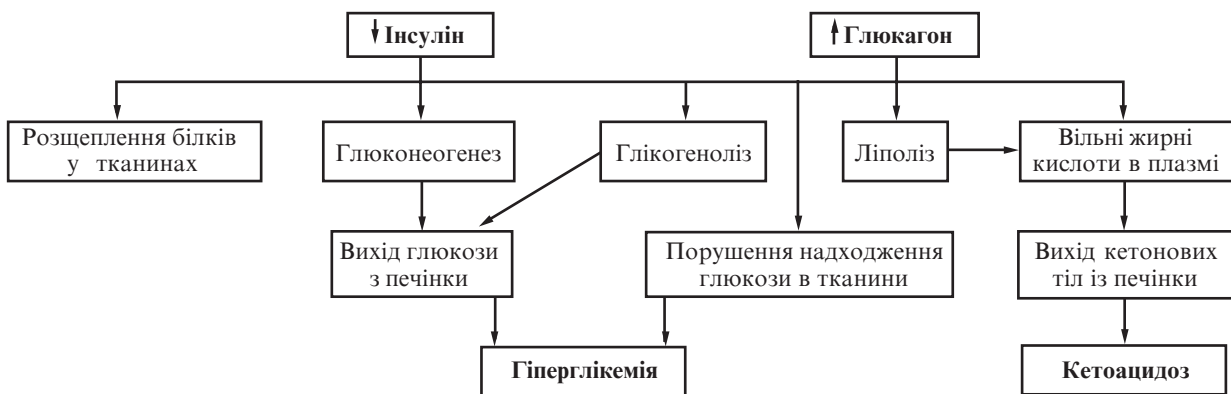
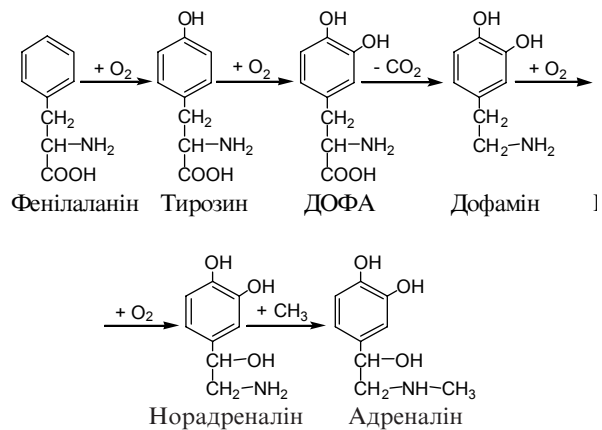
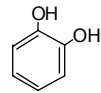


Рис. 15.12. Вплив інсуліну та глюкагону на метаболічні шляхи

Ці гормони називаються ще катехоламінами, тому що є похідними катехолу.



Катехол

Біологічна дія адреналіну та норадреналіну

У надниркових залозах продукується, головним чином, адреналін, тоді як норадреналін синтезується у гіпоталамічній ділянці. Адреналін має властивості гормону, а норадреналін виконує медіаторні функції. Адреналін — гормон тривоги. Він миттєво з'являється у крові, миттєво впливає на органи і тканини, але час його дії дуже короткий (лічені секунди).

Клітини-мішені: печінка, жирова тканина.

Ефекти гормону реалізуються через аденілатциклазну систему.

Катехоламіни діють через два типи рецепторів: α -адренергічні (α_1 і α_2) та β -адренергічні (β_1 і β_2). Норадреналін у фізіологічних концентраціях зв'язується переважно з α -рецепторами. Вони сполучені з аденілатциклазною системою (β_1 і β_2), активують аденілатциклазу за участю Gs-білка. Рецептори α_2 за допомогою Gi-білка інгібують аденілатциклазу. α_1 -Рецептор бере участь у процесах, які спричиняють зміну внутрішньоклітинної концентрації кальцію чи метаболізму фосфатидилінозитолу. Ефекти адреналіну реалізуються через аденілатциклазну систему; адреналін викликає різке підвищення рівня глюкози в крові, що зумовлено прискоренням розпаду глікогену під дією ферменту фосфорилази.

Метаболічний ефект адреналіну

Адреналін посилює:

1. Розщеплення глікогену (м'язи, печінка).
2. Глюконеогенез (печінка).
3. Гліколіз (м'язи).
4. Мобілізацію жирних кислот (жирова тканина), підвищує рівень холестеролу і фосфоліпідів у крові.

Адреналін пригнічує синтез глікогену (м'язи, печінка). Ефект адреналіну підсилює глюкагон, а пригнічує — інсулін.

Адреналін реалізує гормональний ефект шляхом зв'язування з адренорецепторами плазматичних мембран, через G_s-білок активує аденілатциклазу, що веде до нагромадження цАМФ і активації цАМФ-залежних протеїнкіназ. Найбільш досліджений вплив адреналіну на обмін вуглеводів. Адреналін прискорює фосфоролітичне розщеплення глікогену, сприяючи цим збільшенню вмісту глюкози в крові, інших органах і тканинах. Механізм прискорення фосфоролітичного розщеплення глікогену такий самий, як і для глюкагону, але, на відміну від глюкагону, прискорює фосфороліз глікогену не тільки в печінці, міокарді й жирових клітинах, але і в м'яз.

зах. Глюкозо-1-фосфат, що нагромаджується в результаті фосфоролізу глікогену, перетворюється на глюкозу. У скелетних м'язах немає глюкозо-6-фосфатази, тому в них не утворюється вільна глюкоза. Підвищення концентрації глюкозо-6-фосфату тут приводить до значного прискорення гліколізу. Під впливом адреналіну в м'язах нагромаджується енергія, необхідна для скорочення м'язів, і в цей час людина може виконати значну фізичну роботу, чого в звичайних умовах зробити не зможе. Зрозумілим стає підвищення вмісту глюкози у крові під час емоційної напруги.

Особливий інтерес викликає стан адреналової системи при виконанні фізичної роботи. Відомо, що при збільшенні концентрації адреналіну в крові працездатність організму підвищується. Але адреналін швидко з'являється в крові, швидко впливає на метаболізм і так само швидко виводиться з організму. Динаміку дії адреналіну можна представити в такий спосіб (рис. 15.13).

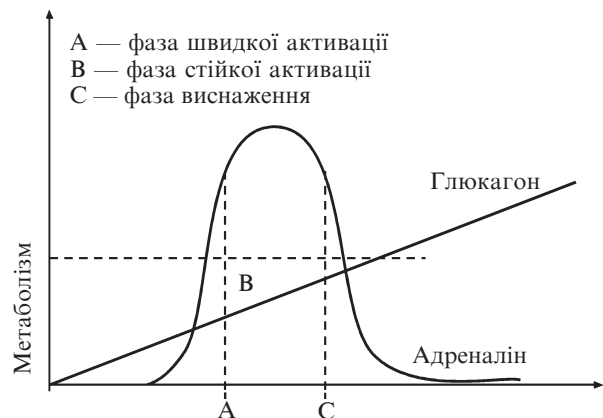


Рис. 15.13. Динаміка дії адреналіну при виконанні фізичної роботи

При цьому вміст адреналіну в крові може бути нижчим вихідного. Чим більше організм пристосований до виконання фізичного навантаження, тим довша фаза стійкої активації. Рівень глюкагону наростає в крові поступово, досягаючи максимуму до кінця роботи. Він «переймає естафету» від адреналіну. Якщо врахувати, що є певна оптимальна діюча концентрація гормонів, то чим більша фаза стійкої активації адреналіну, тим більше можливостей у нього передати оптимальну концентрацію глюкагону, й працездатність при цьому не знижується. Якщо фаза стійкої активації невелика, то виснаження запасів адреналіну настає до досягнення оптимальної концентрації глюкагону, працездатність зменшується: тобто адреналін уже не діє, а глюкагон ще не діє. За величиною екскреції катехоламінів можна судити про здатність організму виконувати фізичну роботу. Якщо збільшення навантаження супроводжується збільшенням екскреції катехоламінів, то організм справляється з навантаженням. Якщо збільшення навантажен-

Фізіологічний ефект адреналіну

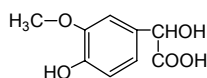
Серцево-судинна система	Збільшення частоти та сили серцевих скорочень. Звуження периферичних судин
Легенева система	Збільшення постачання кисню. Розширення бронхів. Збільшення вентиляції
Мозок	Посилення кровотоку. Збільшення обміну глюкози
М'язи	Збільшення глікогенолізу. Посилення скорочення м'язів
Печінка	Збільшення продукції глюкози. Гліконеогенез. Глікогенез. Синтез глікогену
Жирова тканина	Збільшення ліполізу. Жирні кислоти та гліцерол
Шкіра	Зниження кровотоку
Скелет	Зниження поглинання та утилізації глюкози
Шлунково-кишковий тракт	Зниження синтезу білка

ня не приводить до збільшення екскреції катехоламінів, це свідчить про стомлення.

При фізичному навантаженні інсулін ніби залишає «поле бою» для адреналіну й глюкагону, а сам із крові переміщається на плазматичні мембрани м'язів, сприяючи цим проникненню глюкози з крові в м'язи, підвищуючи працездатність організму (табл. 15.3).

Проявом дії катехоламінів є значне підвищення артеріального тиску і тахікардія.

Адреналін інактивується шляхом метилювання за участю ферменту о-метилтрансферази і наступного окиснення під впливом моноаміноксидази до 3-метокси-4-оксимигдальної кислоти, яка у вигляді кон'югованих сполук із сульфатною та глюкуроною кислотами виділяється з сечею.



3-метокси-4-оксимигдальна кислота

Норадреналін за характером біологічної дії подібний до адреналіну, однак:

1. У мозковій частині надниркових залоз вміст норадреналіну в 4 рази менший, ніж адреналіну.

2. Гіперглікемічний ефект норадреналіну значно нижчий, ніж адреналіну (становить лише 5 % від дії адреналіну), тобто дія норадреналіну на фосфоліз глікогену в 20 разів слабша, ніж адреналіну.

3. При подразненні симпатичних нервів більшою мірою посилюється синтез норадреналіну, тобто він є медіатором симпатичної нервової системи.

Гормони кори надниркових залоз

У корі надниркових залоз синтезуються гормони — кортикостероїди (їх відомо більше 50). Залежно від біологічного ефекту, вони умовно діляться на 2 групи:

1. Глюкокортикоїди, що впливають на обмін вуглеводів, білків, жирів і нуклеїнових кислот.

2. Мінералокортикоїди, що впливають на обмін мінеральних речовин, в основному Na^+ , Cl^- і K^+ .

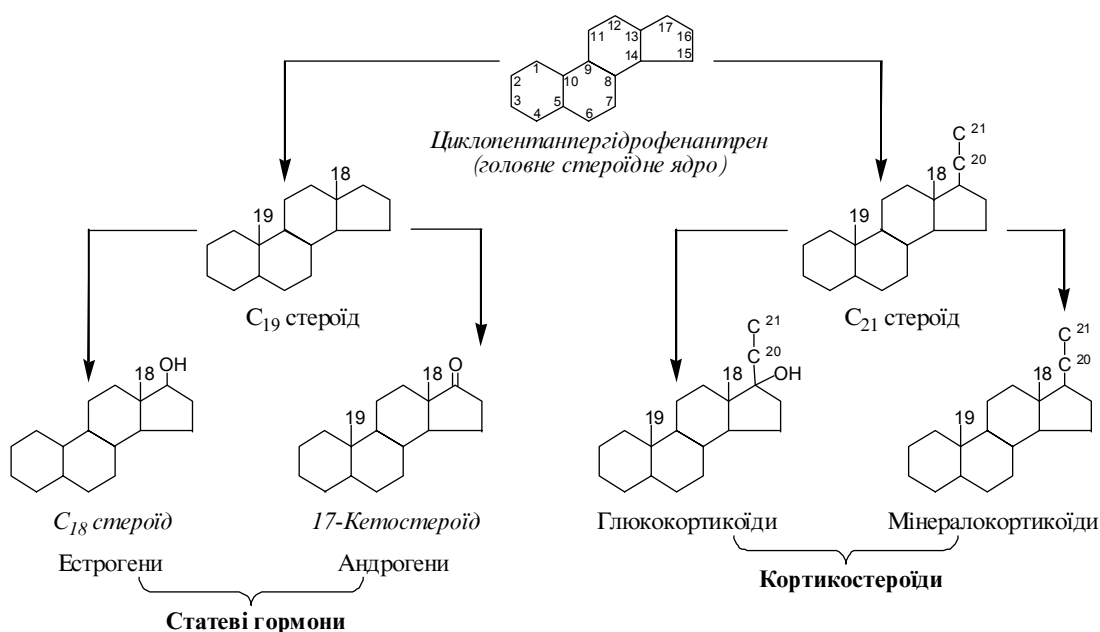


Рис. 15.14. Циклопентанпергідрофенантрен і циклічна структура стероїдних гормонів

До складу кортикостероїдів, а також статевих гормонів входить циклопентанпергідрофенантрен (рис. 15.14).

Основний шлях біосинтезу кортикостероїдів включає послідовне багаступінчасте перетворення холестеролу на прогестерон — жіночий статевий гормон (гормон жовтого тіла).

Потім у результаті реакцій гідроксилювання прогестерон перетворюється на кортикостероїди (глюкокортикоїди, мінералокортикоїди), статеві гормони. Значна частина холестеролу піддається етерифікації в надниркових залозах і нагромаджується в цитоплазмі клітини. При стимуляції надниркових залоз кортикотропіном (за допомогою цАМФ) відбувається активація естерази, яка перетворює ефіри холестеролу на холестерол — попередник гормонів (рис. 15.15).

Кортикостерон і кортизол становлять близько 80 % усіх кортикостероїдів, альдостерон — 2 %, на решту кортикостероїдів припадає близько 20 %. Як видно з наведених формул, незначні зміни структури гормонів суттєво змінюють їх біологічні властивості. Але чіткого поділу на глюко- і мінералокортикоїди не існує. У ряду кортикостероїдів зростання глюкокортикоїдних властивостей супроводжується зменшенням мінералокортикоїдних, і навпаки.

Секреція глюкокортикоїдів

Секреція глюкокортикоїдів, найважливішим з яких є *кортизол*, регулюється кортикотропіном (адrenокортикотропін, АКТГ), що секретується гіпофізом під впливом гіпоталамічного кортико-

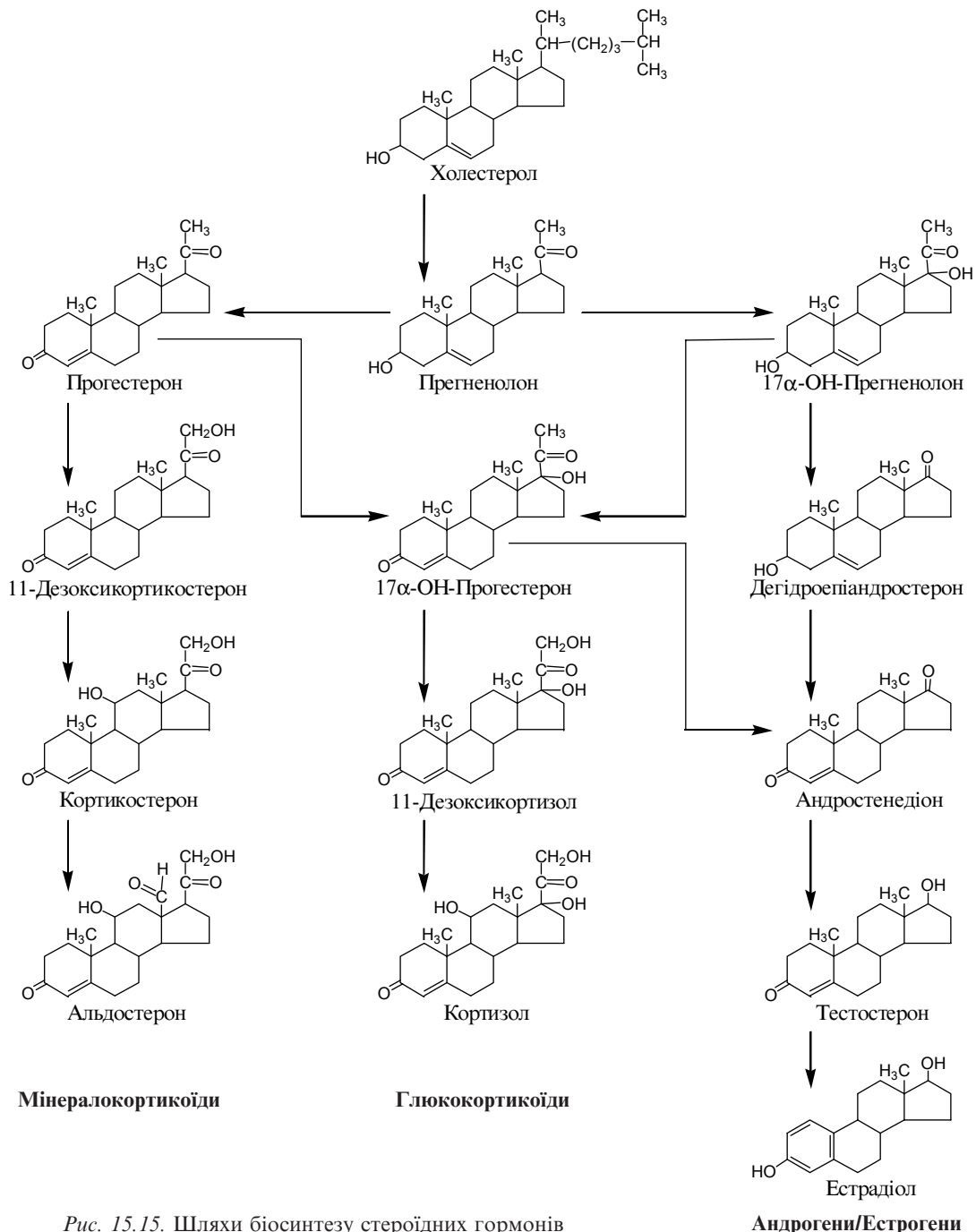


Рис. 15.15. Шляхи біосинтезу стероїдних гормонів

тропінрилізинг-фактора (кортиколиберину). Кортизол впливає на продукування кортикотропіну за механізмом негативного зворотного зв'язку (див. рис. 15.2).

Концентрація кортизолу в плазмі піддається добовим коливанням, причому найвищі концентрації спостерігаються вранці (6–8 год), а найнижчі — вночі.

Добовий ритм секреції АКТГ і кортизолу може бути в будь-який час порушений під впливом стресу — фізичного (гіпоксія, гарячка, гіпертензія) чи психологічного. Запальні цитокіни, фактор некрозу пухлин та інтерлейкіни підсилюють секрецію кортиколиберину з наступним зростанням секреції АКТГ і кортизолу (рис. 15.16).

При призначенні екзогенних глюкокортикоїдів автономна, чи нерегульована надлишкова продукція ендogenous кортизолу можуть призвести до функціональної та анатомічної атрофії системи. Виразність атрофії, спричиненої екзогенними стероїдами, залежить від дози й тривалості прийому гормонів.

АКТГ стимулює не тільки продукцію і секрецію стероїдних гормонів, але також синтез ДНК, РНК і білка в корі надниркових залоз. При надлишку АКТГ розвивається гіпертрофія надниркових залоз, при дефіциті АКТГ — їх атрофія.

Транспорт у крові

З білками (в основному, з кортикозв'язувальним глобуліном — транскортином) зв'язано 75 % кортизолу крові. Близько 10 % циркулюючого

кортизолу знаходиться у вільному стані, 15 % зв'язано з альбуміном. Біологічний період напівжиття кортизолу — 1,5–2 год, кортикостерону — 1 год.

Біологічна дія

Кортикостероїди належать до гормонів цитоплазматичного механізму дії. Завдяки стероїдній природі, вони проходять крізь плазматичні мембрани. При надходженні кортикостероїдів у клітину вони з'єднуються із цитоплазматичними рецепторами з утворенням активного гормон-рецепторного комплексу. У вигляді таких комплексів кортикостероїди транспортуються до мембран ядра, проникають через них і досягають генетичного апарату клітини, на який вони переважно й впливають (див. рис. 14.4). За допомогою так званих цинкових пальців, що являють собою вип'ячування поліпептидного ланцюга, зв'язаного з іонами Цинку, вони відшукують на поверхні ДНК фрагменти, на яких відбувається транскрипція певних мРНК. Кортикостероїди індують синтез мРНК і відповідно прискорюють біосинтез білків, у тому числі й ферментів, головним чином, у печінці. В інших тканинах вони пригнічують біосинтез нуклеїнових кислот і білків. Таким чином, кортикостероїди модифікують метаболізм у клітинах-мішенях шляхом впливу на процеси біосинтезу ферментних білків.

Існує тісний зв'язок між функцією гіпоталамо-гіпофізарної ділянки і корою надниркових залоз.

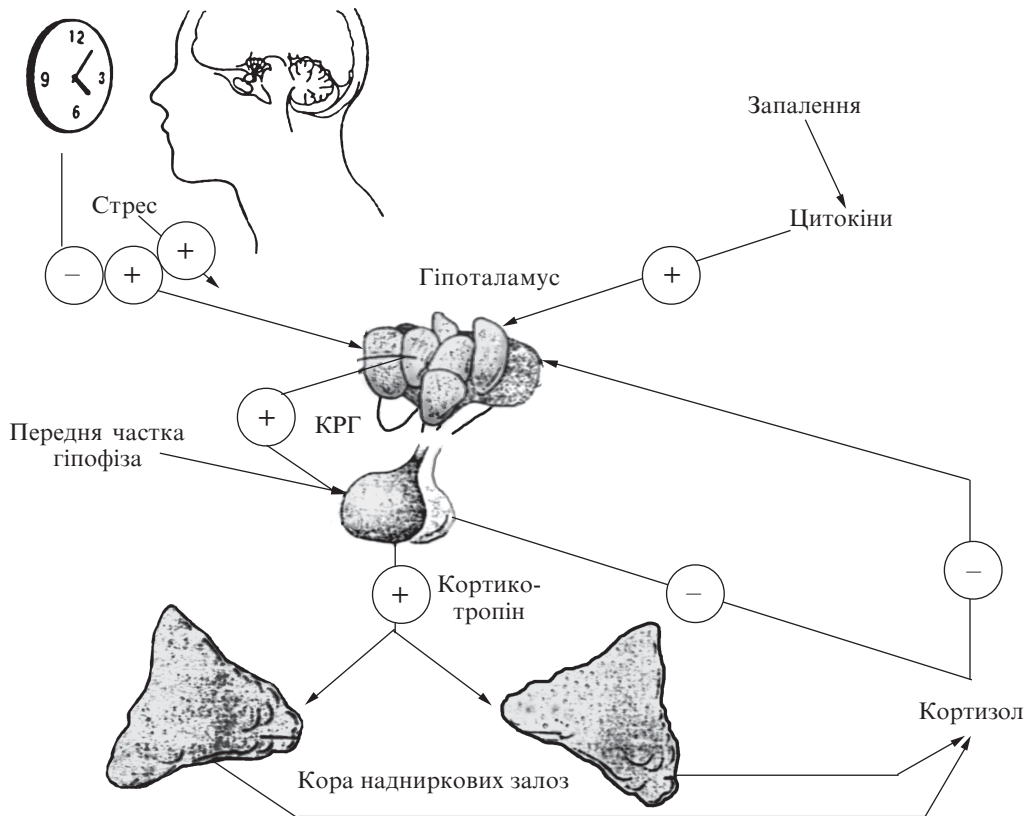


Рис. 15.16. Механізм регуляції секреції кортизолу

Під впливом кортиколиберину гіпоталамуса передня частка гіпофіза продукує кортикотропін, який стимулює синтез гормонів корою надниркових залоз через аденілатциклазну систему клітин кори. У клітинах нагромаджується холестерол, відбувається розрив його вуглецевого ланцюга між С20-м і С22-м атомами Карбону, тобто формується структура, що має 21 атом Карбону. Крім того, у клітинах кори нагромаджується глюкоза і посилюються окисні реакції пентозофосфатного шляху (що дають основну кількість відновлених еквівалентів НАДФ) та аеробного гліколізу, внаслідок чого утворюється ацетил-КоА (попередник холестеролу). Тобто створюються умови для синтезу стероїдних гормонів *de novo*. Нагромадження кортикостероїдів загальмує утворення кортикотропіну і його активуючий вплив на функцію кори надниркових залоз.

Глюкокортикоїди підвищують рівень цукру в крові й клітинах різних органів. Гіперглікемія, що розвивається в результаті дії глюкокортикоїдів, зумовлена активацією глюконеогенезу — ресинтезом глюкози з метаболітів неуглеводної природи. Субстратами найчастіше виступають недоокиснені продукти обміну, що нагромаджуються у тканинах і сприяють розвитку ацидозу (лактат, піруват, бутират та ін.). Це має велике пристосувальне значення, оскільки усуваються «шкідливі метаболіти», які заважають функціонуванню клітини, і утворюється глюкоза — провідний енергетичний субстрат. Збільшення кількості вуглеводів за рахунок білків має важливе пристосувальне значення, особливо коли організм перебуває в несприятливих умовах (холод, значна напруга тощо), тому глюкокортикоїди називають *гормонами адаптації*.

Особливе місце у цьому процесі належить амінокислотам. Вони надходять до клітини або вивільняються внаслідок деструкції її білків. Із 20 амінокислот, що входять до складу білків, 14 є глюкостроїдними (беруть участь у ресинтезі глюкози), 4 можуть бути як глюкостроїдними, так і кетогенними (беруть участь в утворенні кетонових тіл) і лише 2 амінокислоти (лейцин, лізин) є кетогенними. Таким чином, 18 із 20 амінокислот (90 %) можуть бути використані для синтезу глюкози. Але для участі у глюконеогенезі амінокислоти повинні дезамінуватися. Так, глюкокортикоїди активують ферменти білкового обміну — амінотрансферази — і ферменти дезамінування амінокислот, що сприяє перетворенню амінокислот на кетокислоти, використовувані потім на утворення глюкози. Внаслідок цього відбувається нагромадження азотовмісних сполук, які екскретуються з сечею, — спостерігається негативний азотистий баланс. Вони по-різному впливають на метаболізм білків у тканинах: у печінці посилюють біосинтез білків, головним чином, ферментів глюконеогенезу; у м'язах, жировій тканині — знижують проникність плазматичних мембран для глюкози й амінокислот, посилюють розпад клітинних білків. Тому вони ще дістали назву *гормонів катаболічної дії*.

Глюкокортикоїди активують біосинтез ферментів глюконеогенезу — глюкозо-6-фосфатази і

фруктозо-1,6-бісфосфатази, які розщеплюють гексофосфорні ефіри на гексозу й фосфорну кислоту, а також підсилюють біосинтез інших ферментів глюконеогенезу. Механізм розвитку гіперглікемії під дією глюкокортикоїдів включає, крім цього, зниження синтезу глікогену в м'язах, зменшення окиснення глюкози в тканинах і посилення ліполізу, внаслідок чого зберігаються резерви глюкози, оскільки як джерело енергії використовуються вільні жирні кислоти. Причини зниження окиснення глюкози — пригнічення активності гексокінази шляхом впливу на алостеричний центр ферменту, гальмування окисного декарбокислювання пірувату й ін.

У результаті в кров надходять гліцерол і жирні кислоти. Гліцерол використовується в глюконеогенезі, а жирні кислоти в результаті β-окиснення в печінці до ацетил-КоА надалі перетворюються на кетонів тіла.

Кортизол здійснює катаболічний вплив на лімфоїдну тканину (зменшення лімфатичних вузлів, селезінки, кількості лімфоцитів у крові). Протизапальна дія кортизолу пов'язана з інгібуванням фосфоліпази А₂, необхідної для вивільнення арахідонової кислоти, потрібної для синтезу простагландинів. При системних ураженнях сполучної тканини використовується препарат преднізолон для тривалого лікування, при цьому функція надниркових залоз порушується. Характерною для глюкокортикоїдів є наявність у них імунодепресивної активності. Їх *імунодепресивний ефект* є результатом пригнічення різних етапів імуногенезу: *міграції стовбурових клітин (кісткового мозку), міграції В-клітин і взаємодії Т і В-лімфоцитів*. Водночас вони спричиняють імунодепресивну дію в дозах, які не впливають на проліферацію стовбурових клітин. Імунодепресивна дія глюкокортикоїдів дозволяє використовувати їх при трансплантації органів і тканин для пригнічення реакції відторгнення.

У відносно великих дозах глюкокортикоїди *гальмують розвиток лімфоїдної і сполучної тканини* (у тому числі *ретiculoендотелія*), *зменшують кількість тучних клітин*, які є місцем утворення *гіалуронової кислоти*, пригнічують активність гіалуронидази і сприяють зменшенню проникності капілярів.

Гіперфункція надниркових залоз

У крові підвищується вміст глюкози, амінокислот, жирних кислот, гліцеролу, кетонових тіл; спостерігаються глюкозурія, аміноацидурія, кетонурія. У цілому ці зміни нагадують картину цукрового діабету. Але такий діабет має іншу природу і називається «стероїдним діабетом» — хвороба Іценко — Кушинга. Клінічні прояви її зумовлені, у першу чергу, надлишком кортизолу, але його попередники і сам кортизол виявляють деяку мінералокортикоїдну активність. Тому затримка натрію, що веде до гіпертензії, і втрата калію, що викликає гіпокаліємічний алкалоз, часто виявляється при лабораторних дослідженнях, за винятком випадків ятрогенного захворювання (синтетичні глюкокортикоїди не виявляють

мінералокортикоїдної активності). Підвищення продукції андрогенів наднирковими залозами також може впливати на клінічну симптоматику.

Причини і клінічні прояви синдрому Цценко — Кушинга

Причини:

- 1) лікування кортикостероїдами чи АКТГ;
- 2) підвищення секреції АКТГ гіпофізом;
- 3) аденома надниркових залоз;
- 4) ектопічна (від грецьк. *ektopos* — переміщення) секреція АКТГ пухлинами (карциномою і карциноїдними пухлинами).

Гіпофункція (або гіпокортицизм) виявляється як хвороба Аддісона (бронзова хвороба).

Мінералокортикоїди. Альдостерон

Головними регуляторами секреції альдостерону є концентрація калію в сироватці крові й активність ренін-ангіотензинової системи. У регуляції секреції альдостерону кортикотропін відіграє незначну роль (рис. 15.17).

Альдостерон циркулює в крові в незв'язаному стані. У дистальному відділі нефрона, у дистальному каналці та кортикальних збірних протоках він стимулює реабсорбцію Na^+ і екскрецію K^+ і H^+ у рідину ниркових каналців.

Альдостерон збільшує кількість каналів, через які реабсорбуються іони Na^+ з рідини каналців. Провідність апікальних відділів епітеліальних клітин для калію зростає, як і синтез Na^+ , K^+ -АТФази. Це створює електрохімічний градієнт для іонного обміну, що стимулюється альдостероном. Кінцевим результатом дії альдостерону є обмін трьох іонів Na^+ на два іони K^+ і один іон H^+ . Мінералокортикоїди беруть участь у регуляції вмісту в організмі переважно іонів Калію й Натрію. Під дією цих гормонів посилюється ре-

абсорбція Na^+ у ниркових каналцях (а разом із ним і Cl^-), внаслідок чого NaCl нагромаджується в організмі. Якщо врахувати, що натрій зв'язує 25-кратну кількість води, стає зрозумілим, чому під впливом мінералокортикоїдів виникають набряки. Крім цього, мінералокортикоїди збільшують виділення іонів K^+ нирками, шкірою й зі слиною. Відомо, що калій сприяє виведенню води, отже, виділення його підвищує нагромадження води в організмі. Збільшення об'єму циркулюючої рідини у судинному руслі, збуджувальний вплив натрію на нервову систему, частоту серцевих скорочень призводять до підвищення артеріального тиску. Тому у лікарській практиці застосовують антагоністи альдостерону для лікування гіпертонічної хвороби.

Механізм дії альдостерону

Кортизол і альдостерон мають однакову афінність і ефективність щодо стимуляції мінералокортикоїдного рецептора. У тканинах, де альдостерон здійснює свої основні ефекти (збірна трубка нирок, привушна залоза, товста кишка), є фермент 11- β -гідроксистероїддегідрогеназа. Цей фермент інактивує кортизол, заміщаючи ОН-групу в 11-му положенні на кетогрупу з утворенням кортизону — неактивного гормону з дуже низькою афінністю до мінералокортикоїдного рецептора. За допомогою даного процесу усувається кортизол, і альдостерону відкривається доступ до рецептора. Інактивація кортизолу в клітинах, чутливих до альдостерону, дозволяє альдостерону навіть у низьких концентраціях контролювати реабсорбцію натрію й екскрецію калію. Підвищені концентрації кортизолу можуть інгібувати цю ферментну систему і спровокувати кортизолом мінералокортикоїдний ефект (рис. 15.18). Саме тому тривале застосування глюкокортикоїдів спричинює порушення мінерального обміну.

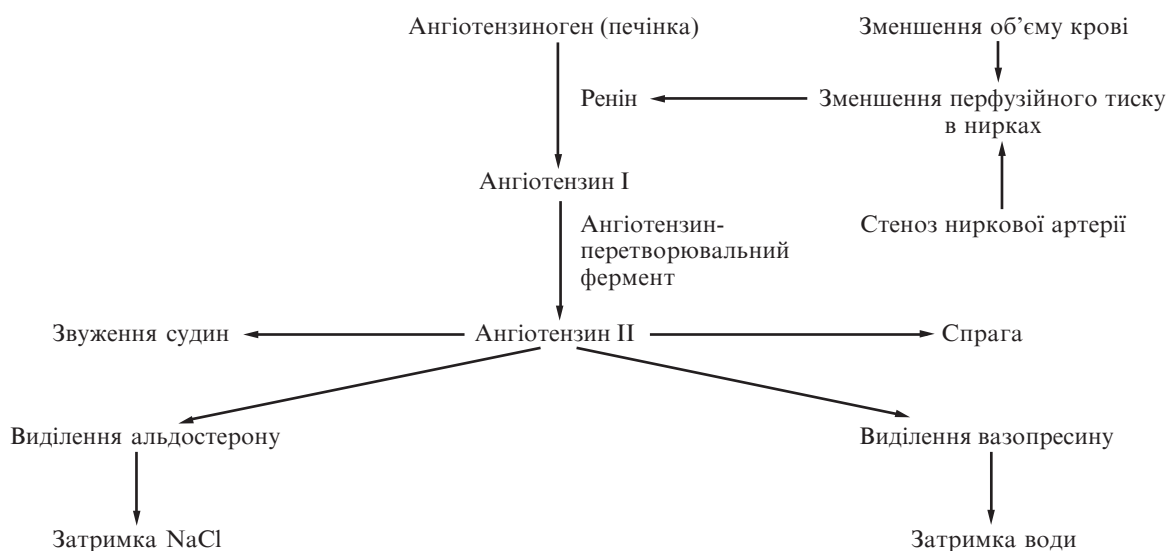


Рис. 15.17. Ренін-ангіотензинова система: регуляція секреції альдостерону і вазопресину

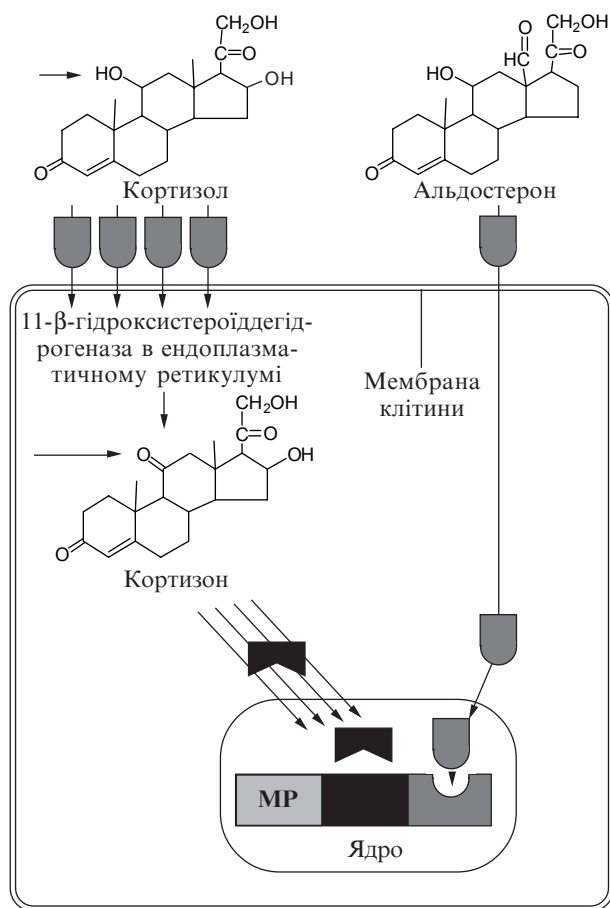
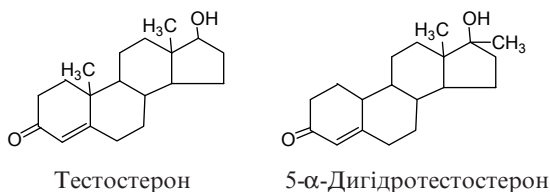


Рис. 15.18. Механізм дії альдостерону на клітину (MR — мінералокортикоїдний рецептор)

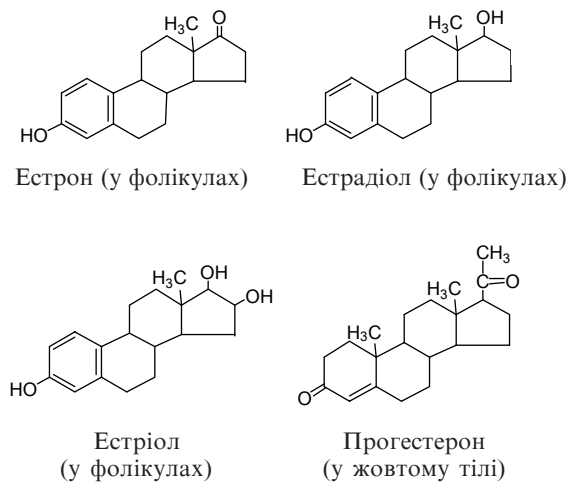
Гормони статевих залоз

Статеві залози продукують статеві гормони і статеві клітини. Деяка кількість статевих гормонів утворюється, крім того, у плаценті (під час вагітності) і корі надниркових залоз. Статеві гормони синтезуються із загального попередника — холестеролу, багато стадій їхнього утворення збігаються, тому незначна кількість жіночих і чоловічих статевих гормонів синтезується в осіб протилежної статі (див. рис. 15.15). Оскільки статеві гормони зумовлюють формування вторинних ознак відповідної статі, то від кількості гормонів протилежної статі залежить виразність проявів статевої приналежності людини. Розвиток статі визначається статевими хромосомами й особливостями секреції статевих гормонів гонадами в ембріональний період. Чоловічі статеві гормони — андрогени (від грецьк. *andros* — чоловік). Характерною ознакою андрогенів є те, що вони мають 19 атомів Карбону. До чоловічих статевих гормонів належать тестостерон і 5- α -дигідротестостерон:



Жіночі статеві гормони (естрогени) утворюються переважно у фолікулах яєчників і в жовтому тілі. У фолікулах яєчників синтезуються три гормони: естрон (фолікулін), естрадіол і естріол. У жовтому тілі синтезується прогестерон.

Основним естрогеном, який секретується, є естрадіол, інші естрогени (естрон і естріол) — продукти його перетворення.



Всі естрогени, що синтезуються у фолікулах, мають високий ступінь ненасиченості кільця А (ароматичність) і 18 атомів Карбону. Продукція естрогенів має циклічний характер. У першу фазу менструального циклу — овуляцію — фолікулами продукується, головним чином, естрадіол, що забезпечує визрівання яйцеклітини. У другу фазу — функціонування жовтого тіла — продукується прогестерон, який стимулює розвиток матки, розвиток заплідненого яйця і плода.

На функцію статевих залоз і продукцію статевих гормонів впливає гіпоталамо-гіпофізарна система. Фоліберин, люліберин гіпоталамуса активують продукцію фолітропіну і лютропіну гіпофіза, які, у свою чергу, через систему циклічних нуклеотидів стимулюють синтез гормонів і клітин статевих залоз. У жінок фолітропін стимулює дозрівання фолікулів і синтез естрогенів, а лютропін — функціонування жовтого тіла і синтез прогестерону. У чоловіків фолітропін стимулює проліферацію сперматогенного епітелію, а лютропін — синтез тестостерону. Статеві залози, як і кора надниркових залоз, перебувають із гіпоталамо-гіпофізарною системою у реципрокних відносинах (від англ. *reciprocal* — взаємний).

Біологічна дія статевих гормонів

Як і для гормонів кори надниркових залоз, для статевих гормонів у цитоплазмі клітин-мішеней є спеціальні білки-рецептори, що взаємодіють із молекулою гормону з утворенням гормон-рецепторного комплексу. У цьому комплексі гормон транспортується до ядерної мембрани, проникає в ядро й зв'язується зі специфічними акцепторними ділянками хроматину, впливаючи на генетичний апарат клітини.

Андрогени й естрогени підсилюють біосинтез інформаційної, транспортної й рибосомальної РНК, активуючи амінотрансферази (амінування

кетокислот в амінокислоти). Все це сприяє біосинтезу білків, причому посилюється біосинтез білків у всіх тканинах, особливо в м'язах. У чоловіків збільшується утворення скорочувальних білків скелетних м'язів, у жінок — матки і тазового дна. Через посилення біосинтетичних процесів статеві гормони дістали назву анаболічних. Вони впливають на ефективність окиснення вуглеводів, ліпідів, сприяючи ефективному м'язовому скороченню. Статеві гормони активують такі ферменти ЦТК, як ізоцитратдегідрогеназу і сукцинатдегідрогеназу, активують процес тканинного дихання, зокрема фермент цитохромоксидазу. Все це сприяє синтезу АТФ і креатинфосфату. Андрогени й естрогени посилюють окиснення жирів і ослаблюють біосинтез холестеролу, затримуючи розвиток атеросклерозу. Статеві гормони регулюють також фосфорно-кальцієвий обмін. Саме через зниження продукції естрогенів у клімактеричному віці спостерігається така патологія, як остеопороз. Анаболічними властивостями андрогенів обумовлено застосування їх та їхніх синтетичних похідних для відновлення структури і скорочувальної функції м'язів після травм, тяжких операцій, інфаркту міокарда. На основі здатності надлишку андрогенів блокувати синтез естрогенів (і навпаки) впроваджено застосування андрогенів для лікування гормончутливих пухлин жіночих статевих органів, а естрогенів — для лікування гормончутливих пухлин чоловічих статевих органів. Крім того, вплив естрогенів на перебіг фаз менструального циклу

використовують для створення на їх основі протизаплідних препаратів.

Чоловічі статеві гормони

Після досягнення статевої зрілості у чоловіків виділяється *фолітропін*, що регулює утворення сперматозоїдів, і *лютропін*, що регулює утворення андрогенів, головним чином *тестостерону*. Тестостерон за механізмом негативного зворотного зв'язку пригнічує секрецію лютропіну гіпофізом.

1. Лютропін стимулює стероїдогенез (утворення тестостерону) з холестеролу. Частина синтезованого тестостерону чинить паракринну дію в яєчках. Тестостерон переноситься з клітин Лейдига разом з андрогензв'язувальним білком до місця, в якому відбувається сперматогенез. Наявність андрогензв'язувального білка дуже важлива, тому що навіть при нормальній концентрації тестостерону в загальному кровотоку сперматогенез не відновлюється (при замісній терапії). У клітинах тканин тестостерон відновлюється до 5- α -дигідротестостерону. Комплекси тестостерон-рецептор менш стійкі, ніж комплекси дигідротестостерон-рецептор у клітинах-мішенях. Отже, утворення дигідротестостерону є засобом посилення дії тестостерону.

2. Фолітропін стимулює синтез андрогензв'язувального білка в клітинах Сертолі. У них виділяється *інгібін*, що регулює секрецію фолітропіну (рис. 15.19).

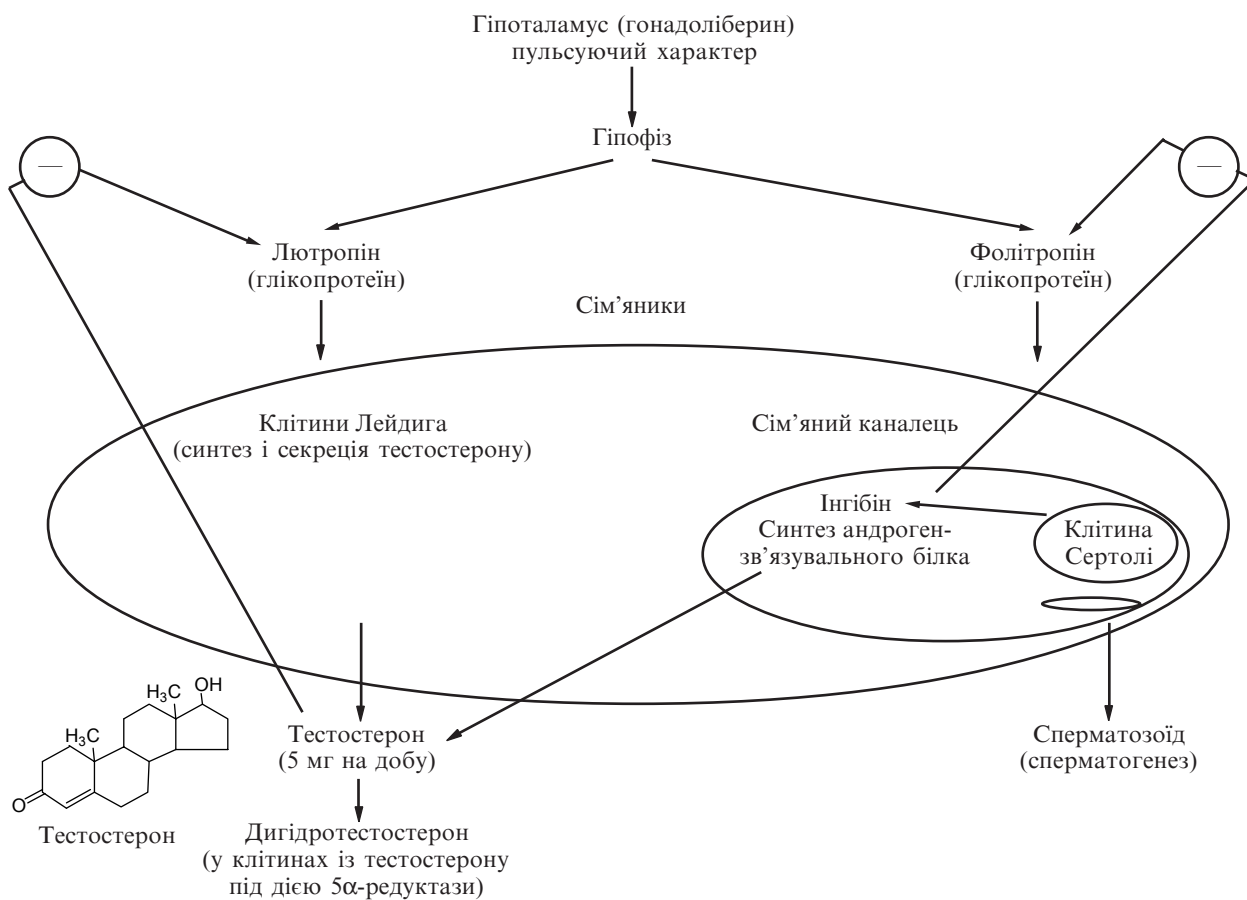


Рис. 15.19. Регуляція синтезу чоловічих статевих гормонів

Жіночі статеві гормони

У жінок секретуються всі три гонадотропіни (лютропін, фолітропін, пролактин), причому циклічно. Секреція гонадотропінів задає тон циклічним процесам в організмі жінки, що поєднуються в поняття «статевий цикл». Він складається з двох тісно зв'язаних процесів: яєчниковий (оваріальний) цикл, тобто циклічні процеси, що відбуваються в яєчниках, і матковий (менструальний) цикл, тобто циклічні зміни в матці. Тривалість кожного циклу однакова. Вона коливається від 21 до 35 днів, найчастіше 26–28 днів.

Схема статевого циклу. Оваріальний цикл має три фази: 1) фолікулінову; 2) лютеїнову; 3) інволюції жовтого тіла. При 26–28-денному статевому циклі перша фаза триває 13–14 днів, друга — 9–10 днів і третя — 3–4 дні.

Якщо відбувається запліднення яйцеклітини і вона імплантується в слизову, то трофобласт уже через добу після імплантації заплідненої яйцеклітини починає виділяти *хоріонічний гонадотропін*, що діє подібно лютропіну гіпофіза, стимулює ріст, розвиток і секреторну функцію жовтого тіла яєчника. Інволюції жовтого тіла не спостерігається і настає вагітність (рис. 15.20).

Механізм дії та біологічні функції жіночих статевих гормонів

Естрогени і прогестерон доповнюють регуляторні впливи один одного на обмін речовин, ріст і розвиток тканин і органів. Як правило, ефект

прогестерону можливий на фоні попередньої дії на тканини естрогенів.

Естрогени забезпечують перебіг таких фізіологічних процесів.

1. Розвиток органів статевої сфери (яйцепроводів, матки, піхви), що забезпечують дітородну функцію жінки.

2. Формування вторинних статевих ознак у період статевого дозрівання, що полягають у рості волосся за жіночим типом, розвитку хрящів гортані та формуванні характерного для жінок тембру голосу, розвитку молочних залоз, скостенінні епіфізів трубчастих кісток і формуванні характерного «жіночого» скелета.

3. Регуляція проліферативних змін ендометрія і координованих скорочень маткових труб і матки у фолікулінову фазу яєчникового циклу.

4. Формування статевого інстинкту і психічного статусу жінки.

5. Перебіг вагітності та пологового акту, а також розвиток молочних залоз і підготовка їх до лактації в період вагітності.

В основі більшості фізіологічних ефектів естрогенів лежить їхній вплив на активність специфічних генів у хромосомах. У результаті індукується синтез специфічних білків, що визначають характерні зрушення в метаболізмі, рості та диференціюванні клітин. В епіфізах кісток естрогени забезпечують синтез колагену і відкладання кальцію і фосфору. Крім того, естрогени, будучи індукторами ферментів гліколізу і пентозофосфат-

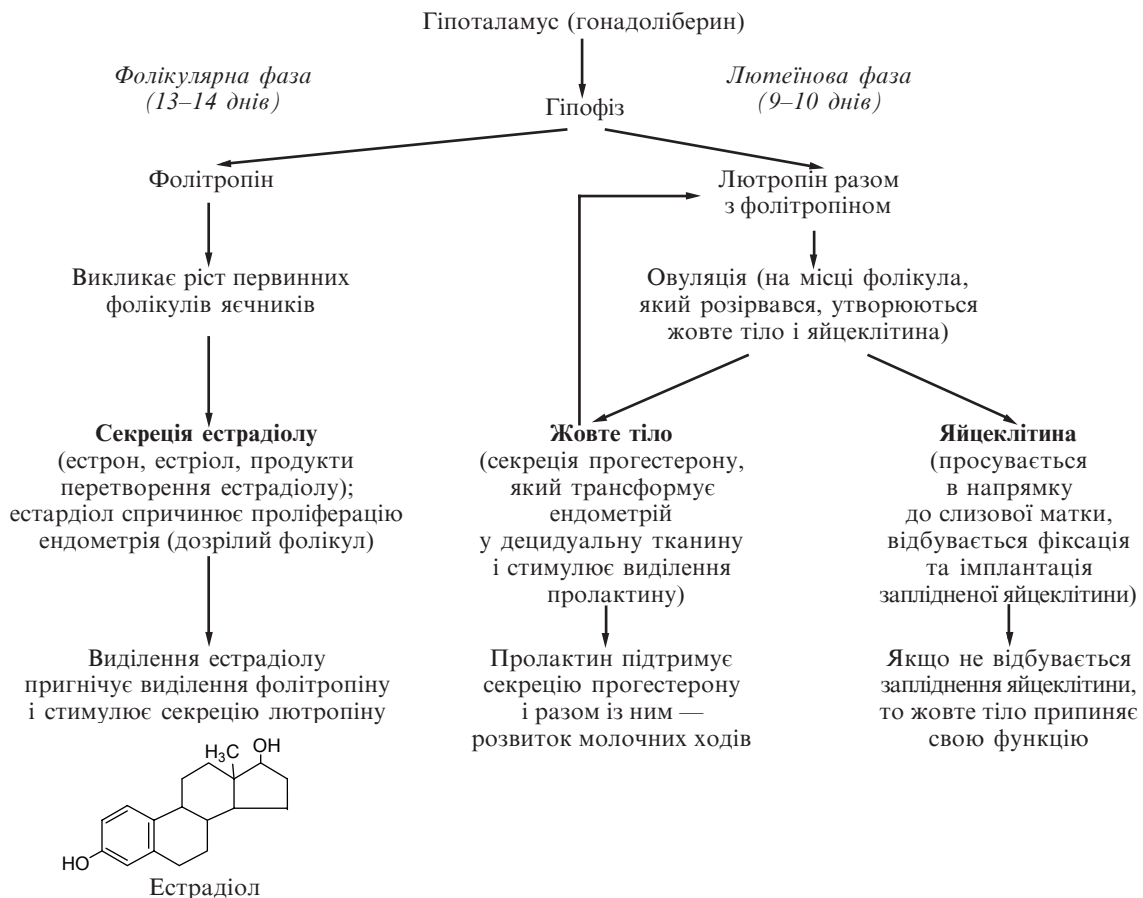


Рис. 15.20. Регуляція синтезу жіночих статевих гормонів

ного циклу, полегшують аеробне утворення енергії з вуглеводів і відбудовні синтези за участю НАДФН + H⁺ і рибозо-5-фосфату. Відзначено вплив естрогенів на ліпідний обмін. Гормони сприяють швидшому відновленню ліпідів, перешкоджають їхньому нагромадженню в печінці та жировій тканині, сприяють виведенню холестеролу з організму і зниженню його рівня в крові. Можливо, через це у жінок рідше, ніж у чоловіків, розвивається атеросклероз коронарних й інших судин.

Помічено, що, зв'язуючись із міометрієм, естрогени гальмують Na⁺-K⁺-АТФазу мембран м'язових клітин. Це спричинює затримку в міометрії Na⁺, а з ним води, і втрату K⁺, тобто виникає деполаризація мембран, що зумовлює підвищену збудливість і скоротливість міометрія.

Період напіврозпаду кортикостероїдів становить усього 1–1,5 год, а статевих гормонів — значно менше. Знешкодження їх відбувається у печінці, воно може здійснюватися шляхом відновлення кільця А (при C₃, C₄, C₅) з утворенням тетрагідропохідних або редукції бічного ланцюга (при C₂₀). Лише 3–5 % кортикостероїдів піддаються окисненню, що супроводжується відщепленням бічного ланцюга, який втрачає при цьому біологічну активність. Продукти окиснення гормонів кори надниркових залоз називаються нейтральними 17-кетостероїдами. Андроґени, метаболізуючись, утворюють нейтральні 17-кетостероїди, тоді як естрогени перетворюються на кислі 17-кетостероїди. Вони з'єднуються в реакції кон'югації з глюкуроною або сірчаною кислотою й у вигляді кон'югованих (парних) сполук виділяються з організму з сечею. У нормі в добовій сечі 17-кетостероїдів утримується 10–25 мг у чоловіків і 5–15 мг — у жінок. При пухлинах кори надниркових залоз екскреція 17-кетостероїдів із сечею значно зростає.

Тканинні гормони

Гормони калікреїн-кінінової та ренін-ангіотензинової систем

Калікреїн — це фермент протеаза, що існує в тканинах, плазмі й клітинах крові у вигляді неактивного попередника прекалікреїну, в якого під дією специфічних протеаз відщеплюється фрагмент поліпептидного ланцюга, а він перетворюється на активний фермент теж протеазної дії. Калікреїн відрізає частину ланцюга кініногену (частковий протеоліз), який перетворює на брадикінін і калідін (рис. 15.21).

Брадикінін — це нонапептид (у його структурі 9 амінокислотних залишків), який має властивість розслаблювати гладком'язові волокна, головним чином, які перебувають у стінці судин. Він зменшує кількість серцевих скорочень, тобто розслаблює гладку мускулатуру, спричинюючи зниження кров'яного тиску (але кініни можуть скорочувати гладку мускулатуру бронхів, посилювати функцію гладких м'язів кишків). Збільшення просвіту судин приводить до сповільнен-

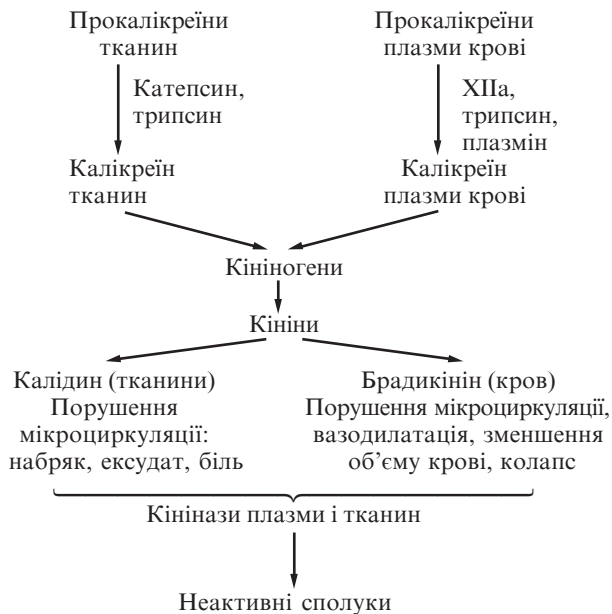


Рис. 15.21. Калікреїн-кінінова система

ня кровотоку, що виявляється почервонінням тканини. Уповільнення кровотоку сприяє виходу рідкої частини крові з судинного русла — розвивається набряк, який призводить до здавлення нервових закінчень і появи болю, тобто виникають усі ознаки запалення: почервоніння, набряк, біль і порушення функції тканини. Тому кініни називають медіаторами запалення. Кініни руйнуються кіназами (карбоксипептидаза N для брадикініну і карбоксикатепсин — для калідіну).

Ренін-ангіотензинова система

Ренін — це фермент протеазної дії, що виробляється в нирках у юкстагломерулярній зоні. Коли змінюється потік крові в клубочку, розвивається гіпоксія і в цій зоні починає продукуватися ренін. Він відщеплює від ангіотензиногену (теж олігопептиду) кілька амінокислот, перетворюючи його на **ангіотензин-I** — неактивний гормон. Для того, щоб він перетворився на активний, від нього треба відщепити ще два залишки амінокислот, тоді утворюється **ангіотензин-II** (див. рис. 15.17). Фермент, що відщеплює два залишки амінокислот, — карбоксикатепсин (ангіотензинконвертуючий фермент). Перетворюючи неактивний ангіотензин-I на активний ангіотензин-II, він одночасно руйнує і брадикінін, тобто цей фермент здійснює контроль концентрації протилежно діючих вазоактивних пептидів — ангіотензину і брадикініну. Ангіотензин-II містить у своїй структурі всього 8 залишків амінокислот (це октапептид), але в природі не існує сильнішої за нього судинозвужувальної речовини. Він спричинює різке скорочення гладких м'язів у стінках судин, через що звужується просвіт судин, отже, відбувається збільшення тиску. Це пов'язане з тим, що ренін виробляється тоді, коли кровотік у судинах нирок ослаблюється. Це є сигналом для продукції реніну, що забезпечує утво-

рення ангіотензину, а коли останній спазмує всі судини, швидкість кровотоку зростає. Ця кров надходить у клубочковий апарат нирок, гіпоксія зникає і синтез реніну припиняється. Вважають, що це дуже сильна аварійна система, пов'язана зі збільшенням тиску при шоку, непритомності, тобто з тими ситуаціями, коли різко знижується кров'яний тиск. Однак через різні причини кровотік у нирках може утруднюватися (запальні процеси, здавлення ниркової артерії) — продукується ренін — посилюється викид ангіотензину — збільшується тиск — на зменшення кровотоку в нирці відбувається новий викид реніну і розвивається одна з форм так званої ниркової гіпертензії.

На противагу ренін-ангіотензиновій і вазопресин-альдостероновій системам, у м'язових клітинах правого передсердя синтезується поліпептид, що дістав назву передсердного натрій-уретичного гормону (або пептиду). Структура його така, що утворюється 17-членне кільце з амінокислот, які формують S-S-зв'язки між залишками цистеїну. Цей гормон має механізм дії, протилежний ренін-ангіотензиновій і вазопресин-альдостероновій системам. Якщо вазопресин і альдостерон посилюють реабсорбцію води і натрію в нирках, то цей гормон сприяє розширенню просвіту судин, посиленню клубочкової фільтрації, збільшує екскрецію натрію з сечею. Він реалізує свій ефект за допомогою активації утворення цГМФ і гальмування активності аденілатциклази. Локалізація натрій-уретичного гормону пояснюється тим, що праве передсердя, і правий шлуночок, з точки зору механіки скорочення, значно поступаються лівому передсердю, шлуночку, де й м'язова стінка товща, викид потужніший тощо. Коли починається перевантаження серцево-судинної системи, у першу чергу страждає мале коло кровообігу. Розвиваються застійні явища в легенях. Як тільки тиск у малому колі кровообігу збільшується, праве передсердя, куди надходить кров з великого кола кровообігу (плюс воно перевантажене високим тиском у малому колі кровообігу, тому що не вся кров викидається в мале коло через високий тиск), починає компенсаторно розширюватися. Це розширення є сигналом для синтезу і викиду гормону, що й слугуватиме антагоністом вазопресорним системам.

Ейкозаноїди

Вихідними субстратами для синтезу ейкозаноїдів є полієнові жирні кислоти: 8,11,14-ейкозатрієнова (дигомо- γ -ліноленова) і 5,8,11,14,17-ейкозапентоєнова. Утворення цих кислот у тканинах відбувається з α - та γ -ліноленової кислот, що у тваринному організмі не синтезуються і тому повинні надходити з їжею, тобто ліноленова кислота служить незамінним фактором їжі. В організмі вона перетворюється переважно на арахідонову кислоту, що не може існувати у вільному стані й швидко включається до складу фосфоацилгліцеролів практично всіх тканин.

Ейкозаноїди (ейкоза — 20 атомів Карбону) — фізіологічно активні похідні арахідонової кислоти й інших C20 полієнасичених жирних кислот. Вперше виділені У. Ейлером з передміхурової залози, тому дістали назву простагландинів (від англ. *prostate gland*, PG — передміхурова залоза), а згодом були виявлені у всіх органах і клітинах, за винятком еритроцитів. Залежно від особливостей хімічної структури ейкозаноїди поділяються на простагландини, тромбоксани, простацикліни і лейкотрієни. Ейкозаноїди можна зраховувати до локальних (тканинних) гормонів, що утворюються в тканинах і здебільшого виступають як посередники в реалізації ефектів інших гормонів і медіаторів.

Біосинтез ейкозаноїдів

Залежно від типу клітини, синтез ейкозаноїдів може стимулюватися гормонами (такими як ангіотензин-II чи антидіуретичний гормон), а також протеазами (такими як тромбін) або водночас — гормоном і протеазами. Ці агенти зв'язуються зі специфічними рецепторами, що активують фосфоліпазу A_2 , яка, у свою чергу, вилучає арахідонову кислоту з фосфоліпідів, таких як фосфатидилхолін. Виділення арахідонової кислоти за допомогою фосфоліпази A_2 іноді є стадією, що лімітує біосинтез ейкозаноїдів. Фосфоліпаза A_2 є Ca^{2+} -залежним ферментом, активує цАМФ-залежне фосфорилування, тому всі гормони і медіатори, що взаємодіють з аденілатциклазою чи кальцієвими каналами, регулюють синтез ейкозаноїдів.

Ініціюючими стадіями в синтезі простагландинів і тромбоксанів є окиснення і циклізація арахідонової кислоти з утворенням простагландинів PGG_2 PGH_2 . Реакція каталізується простагландин-ендопероксидазою, наявною в ендоплазматичному ретикулумі. Утворення PGG_2 каталізується циклооксигеназним компонентом ферменту і наступним утворенням PGH_2 що каталізується пероксидазним компонентом (рис. 15.22).

Розрізняють два класи простагландинів: розчинні в ефірі й у фосфатному буфері. Кожен із цих класів поділяється на підкласи: PGE_1 , PGE_2 , PGE_3 і т. ін. (цифровий індекс — кількість подвійних зв'язків). Крім того, літери грецького алфавіту позначають певний ізомер (орієнтація ОН-групи або циклопентанового кільця) — наприклад, $PGF_{2\alpha}$, $PGF_{1\beta}$.

Біологічна дія ейкозаноїдів

Простагландини впливають переважно на фізіологічні функції тих клітин, у яких синтезуються. Характер впливу простагландинів залежить від типу клітини, цим простагландини відрізняються від гормонів з їх однозначним ефектом. Надзвичайне різноманіття ефектів і високу активність простагландинів пов'язують з їхнім впливом на обмін речовин через внутрішньоклітинні посередники: цАМФ, цГМФ та іони Ca^{2+} . Найчастіше простагландини підвищують вміст цАМФ, посилюючи пов'язаний із ним вплив на

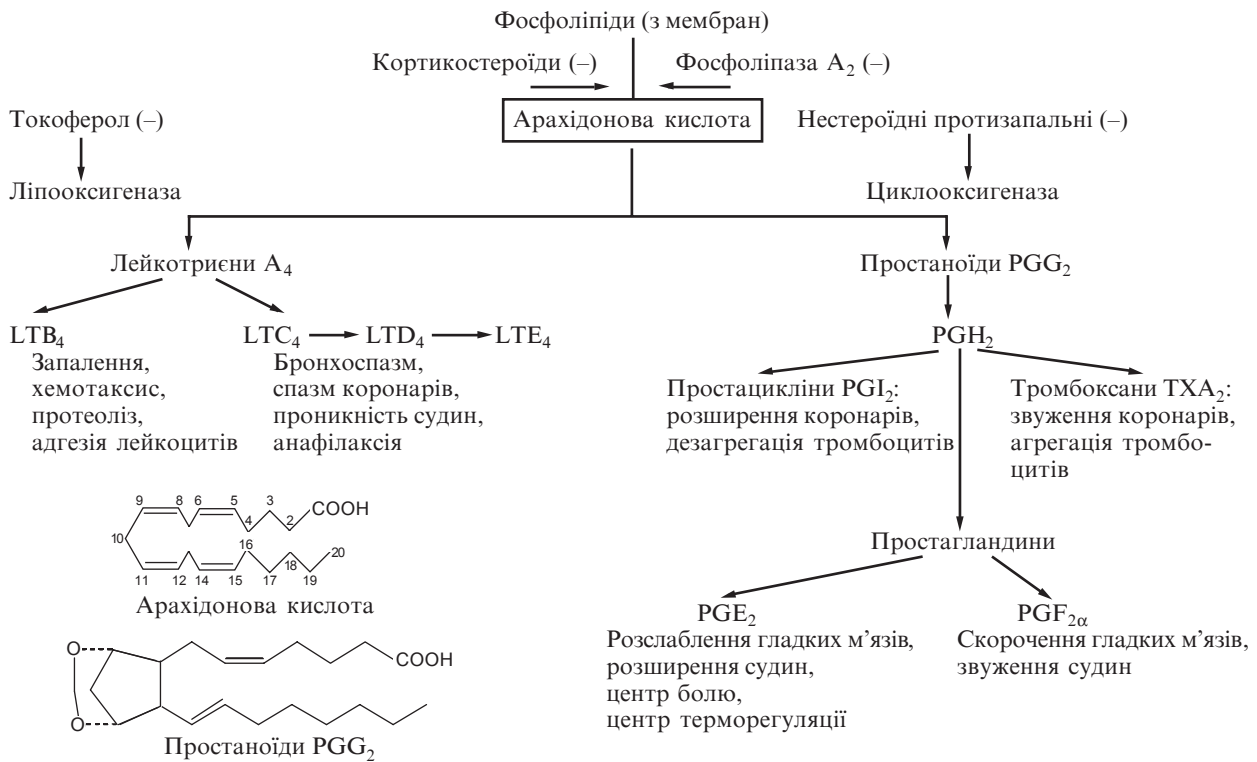


Рис. 15.22. Біосинтез і механізм дії ейкозаноїдів

обмін і функції даної тканини. Так, підвищуючи рівень цАМФ в ендокринних залозах, вони стимулюють утворення і секрецію гормонів (наприклад, у надниркових залозах — утворення стероїдних гормонів і виділення катехоламінів; у щитоподібній залозі — синтез йодотиронінів; у підшлунковій залозі — вивільнення інсуліну). Однак у жировій тканині простагландини знижують утворення цАМФ і гальмують ліполіз подібно інсуліну. Простагландини E₁ гальмують секрецію соляної кислоти в шлунку, ці препарати використовують для лікування виразкової хвороби.

Простагландини F_{2α} (PGF_{2α})

Продукуються в більшості тканин. Функції:

- скорочення гладких м'язів бронхів, кишечника;
- звуження кровоносних судин;
- стимуляція маткових скорочень;
- розсмоктування жовтого тіла (тим самим полегшується переривання вагітності та стимуляція пологів).

Простагландини E₂ (PGE₂)

Продукуються більшістю тканин, особливо нирками. Функції:

- розслаблення гладких м'язів бронхів, шлунково-кишкового тракту;
- розширення кровоносних судин;
- підвищення ефектів медіаторів запалення — гістаміну, брадикініну, серотоніну;
- вплив на центр терморегуляції — спричинює підвищення температури;
- вплив на центр болю — знижує поріг больової чутливості.

ПГ-E₂ накопичуються в місцях запалення. Ознаками запалення є: повнокров'я, стаз (уповільнення кровотоку в цій ділянці), вихід рідкої частини крові в міжклітинний простір (набряк), здавлення при цьому нервових закінчень (поява болю), підвищення температури в цій ділянці й порушення функції.

Простацикліни (PGI₂)

Продукуються ендотеліальними клітинами судин у серцевому м'язі, тканині матки, слизовій шлунка. Функції:

- розслаблення гладких м'язів (вазодилатація), особливо коронарних артерій;
- інгібування агрегації тромбоцитів;
- посилення фібринолізу.

Ескімоси Гренландії дуже рідко страждають на серцево-судинні захворювання, оскільки у них знижена агрегація тромбоцитів і уповільнене згортання крові. Вважають, що це зумовлено споживанням великої кількості риб'ячого жиру, який містить ейкозапентоєнову кислоту, — вона є попередником простагландинів і тромбоксанів.

Тромбоксани A₂ (TXA₂)

Синтезуються в мозку, селезінці, легенях, нирках, тромбоцитах, осередках запалення. Функції:

- спричинюють агрегацію тромбоцитів;
- спричинюють звуження судин;
- зменшують утворення цАМФ;
- мобілізують внутрішньоклітинний кальцій.

Тромбоксани утворюються в тромбоцитах, після виходу в кров'яне русло вони спричинюють звуження кровоносних судин і агрегацію тромбоцитів. Крім того, тромбоксан A₂ (TXA₂) синте-

зується у тканинах мозку, селезінки, легень, нирок під дією тромбосансинтази. З ТХА₂ утворюються інші тромбосани. Біохімічні механізми проагрегатної дії тромбосанів ґрунтуються на його впливі на мобілізацію з внутрішньоклітинних депо іонів кальцію Ca²⁺, що спричинюють активацію скорочувальних білків тромбоцитів і їх адгезію на поверхні ендотелія. Слід вказати на особливе значення співвідношення в крові ТХА₂/ПЦІ₂ для характеристики агрегативних властивостей крові та фізіологічного статусу організму.

Простагландини — нестійкі сполуки (час їхнього життя — секунди). Існують 2 форми циклооксигенази: ЦОГ-1 — синтезує простагландини, що забезпечують фізіологічну активність клітин; ЦОГ-2 — синтезує простагландини, які беруть участь у запаленні та клітинній регенерації. Глутатіон є кофактором у біосинтезі простагландинів. Відомо, що ацетилсаліцилова кислота (аспірин) та інші нестероїдні протизапальні препарати є дуже потужними негативними модуляторами (інгібіторами) циклооксигенази (переважно ЦОГ-2) шляхом її ацетилювання. Тоді стає зрозумілим, чому ми приймаємо ці препарати при головному болі, підвищенні температури, запальних захворюваннях. Аспірин використовують також для зниження агрегативних властивостей тромбоцитів.

Лейкотриєни

Арахідонова кислота під дією ліпооксигенази може перетворюватися на гормони, які уже не мають циклічної структури, тобто окремі їх представники характеризуватимуться різним положенням подвійних зв'язків у структурі, а деякі з них утворюють пептидоліпідні комплекси з глутатіоном. *Ліпооксигеназа* забезпечує утворення *лейкотриєнів*. Назва «лейкотриєни» походить від двох слів: «лейкоцит» (уперше ці сполуки виявлені в лейкоцитах) і «триєни» (у всіх представників цього класу сполук із чотирьох ненасичених зв'язків три є кон'югованими). Лейкотриєни синтезуються з ейкозанових кислот у лейкоцитах, клітинах мастоцитом, тромбоцитах і макрофагах по ліпооксигеназному шляху у відповідь на імунологічні й неімунологічні стимули.

Біологічна дія лейкотриєнів

Лейкотриєни розглядаються як медіатори запальних реакцій, вони здатні спричинювати алергійні реакції й анафілактичний шок, сприяють скороченню гладкої мускулатури дихальних шляхів, ШКТ, спричинюють скорочення м'язової тканини бронхів у концентраціях, у 100–1000 разів менших, ніж гістамін; сприяють скороченню коронарних судин. Вважають, що саме через лейкотриєни розвивається інфаркт міокарда (спочатку виникає спазм судин — розвивається

алергійна реакція на якийсь компонент цього спазму + дефіцит кисню в результаті спазму — розвивається зона некрозу).

Потужним інгібітором ліпооксигенази є *вітамін Е*. Його споживання запобігає розвитку uszkodження міокарда, виникненню алергійних реакцій у організмі. *Кортизол* інгібує синтез у результаті інгібування ліпооксигенази. Між циклооксигеназою і ліпооксигеназою існують антагоністичні взаємини.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Гормони гіпоталамуса — ліберини і статини.
2. Гормони передньої частки гіпофіза: соматотропін (СТГ), пролактин. Патологічні процеси, пов'язані з порушенням функції цих гормонів.
3. Гормони задньої частки гіпофіза. Вазопресин та окситоцин: будова, біологічні функції.
4. Інсулін: будова, біосинтез і секреція; вплив на обмін вуглеводів, ліпідів, амінокислот і білків. Рістстимулювальні ефекти інсуліну.
5. Глюкагон: регуляція обміну вуглеводів і ліпідів.
6. Тиреоїдні гормони: структура, біологічні ефекти Т₄ та Т₃. Порушення метаболічних процесів при гіпо- та гіпертиреозі.
7. Глюкоза крові (глюкоземія): нормоглікемія, гіпо- та гіперглікемії, глюकोзурія. Цукровий діабет — патологія обміну глюкози.
8. Гормональна регуляція концентрації та обміну глюкози крові.
9. Катехоламіни (адреналін, норадреналін, дофамін): будова, біосинтез, фізіологічні ефекти, біохімічні механізми дії.
10. Стероїдні гормони кори надниркових залоз (C₂₁-стероїди) — глюкортикоїди та мінералокортикоїди; будова, властивості.
11. Жіночі статеві гормони: естрогени, прогестерон. Фізіологічні та біохімічні ефекти; зв'язок із фазами овуляційного циклу.
12. Чоловічі статеві гормони (C₁₉-стероїди). Фізіологічні та біохімічні ефекти андрогенів; регуляція синтезу та секреції.
13. Гормональна регуляція гомеостазу кальцію в організмі. Паратгормон, кальцитонін, кальцитріол.
14. Калікреїн-кінінова система крові й тканин. Лікарські засоби — антагоністи кініноутворення.
15. Ейкозаноїди: будова, біологічні та фармакологічні властивості. Аспірин та інші нестероїдні протизапальні засоби як інгібітори синтезу простагландинів.

Глава 16. БІОХІМІЯ ХАРЧУВАННЯ ЛЮДИНИ. ПОВНОЦІННЕ ХАРЧУВАННЯ

16.1. ПОТРЕБИ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ В ПОЖИВНИХ РЕЧОВИНАХ. КОМПОНЕНТИ ХАРЧУВАННЯ

За добу людина в середньому споживає 450–500 г вуглеводів, 110–120 г білків і 80–100 г жирів. Крім цього, на добу людині необхідні 5–10 г жирних кислот, 5–6 г фосфоліпідів, 0,3–0,6 г холестеролу, а також певна кількість вітамінів, мінеральних речовин, води й інших речовин. Вважають, що при збалансованому харчуванні співвідношення вуглеводів, білків і ліпідів у харчовому раціоні повинно становити приблизно 4 : 1 : 1. Слід зазначити, що виключення з харчового раціону на тривалий строк вуглеводів і жирів не викликає істотних уражень організму. Виключення з їжі білків навіть на короткий строк призводить до розвитку білкової недостатності — хвороби, що характеризується порушенням ряду найважливіших фізіологічних функцій організму.

У шлунково-кишковому тракті білки, жири й вуглеводи піддаються перетравлюванню. Це багатоступеневий процес механічного подрібнення їжі й ферментативного гідролізу білків, жирів і вуглеводів на більш прості речовини.

Біологічна роль цього процесу полягає в тому, що, по-перше, у результаті перетравлювання усуваються специфічні видові особливості споживаних білків, жирів і вуглеводів, що захищає організм від несприятливого впливу компонентів їжі (наприклад, у процесі перетравлювання молекули білків розпадаються на пептиди й амінокислоти, отже, втрачають властивості даного білка, у тому числі антигенні, інфекційні, що охороняє організм від різних несприятливих впливів чужорідних білків). По-друге, у результаті перетравлювання високомолекулярні сполуки розщеплюються до низькомолекулярних речовин, які легше всмоктуються в кишечнику. По-третє, у результаті перетравлювання з великої кількості різноманітних білків, жирів і вуглеводів утво-

рюється переважно глюкоза в результаті гідролізу десятків вуглеводів, 20 амінокислот з тисячі різних білків, вищі жирні кислоти й гліцерол із сотень ліпідів.

16.2. МЕХАНІЗМИ ПЕРЕТРАВЛЮВАННЯ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН У ТРАВНОМУ ТРАКТІ

Перетравлювання і всмокткування вуглеводів

Перетравлювання вуглеводів у ШКТ відбувається за участю таких ферментів, як α -амілаза, α -аміло-1,6-глюкозидаза, α -глюкозидаза (мальтаза), β -галактозидаза (лактаза), β -фруктофуранозидаза (сахараза). Перетравлювання вуглеводів починається в порожнині рота. У слині містяться ферменти, що каталізують гідроліз вуглеводів — α -амілаза і α -глюкозидаза. Так, α -амілаза каталізує розщеплення крохмалю і глікогену до декстринів і мальтози. При цьому α -амілаза розщеплює в полісахаридах внутрішні α -1,4-глікозидні зв'язки, тому її іноді називають ендоекзоамілазою. Її характерною рисою є здатність активуватися одновалентними аніонами, насамперед іонами хлору. Крім α -амілази відомі й інші амілази — β - і γ -амілаза. У вищих рослин знайдена β -амілаза. Під дією цього ферменту від крохмалю відщеплюється дисахарид мальтоза, тобто він є екзоамілазою. γ -Амілаза міститься не в слині, а у клітинах різних органів і тканин людини й ссавців. Вона відщеплює один за одним залишки глюкози від кінця поліглюкозидного ланцюжка глікогену, тобто також є екзоамілазою. α -Глюкозидаза (мальтаза) слини розщеплює в порожнині рота мальтозу до двох молекул глюкози. Оскільки α -амілаза слини активніший фермент, ніж α -глюкозидаза, у порожнині рота утворюється більше декстринів і мальтози, менше — глюкози. У шлунку не виробляються ферменти,

що розщеплюють вуглеводи. Оскільки α -амілаза і α -глюкозидаза слини виявляють свою каталітичну дію у слабо лужному середовищі (рН=7,4–8,0), а в шлунку реакція середовища кисла (рН=1,5–1,8), то ферменти каталізують розщеплення вуглеводів у шлунку нетривалий час (20–40 хв), поки харчова маса не стає кислою під впливом НСІ. Основним місцем розщеплення вуглеводів є тонкий кишечник, де на вуглеводи діють ферменти підшлункової залози і кишкового соку. У тонкому кишечнику розщеплення вуглеводів відбувається під дією α -амілази, аміло-1,6-глюкозидази, α -глюкозидази, β -галактозидази і β -фруктофуранозидази. Кишкова α -амілаза, як і слинна α -амілаза, розщеплює у полісахаридах внутрішні α -1,4-глікозидні зв'язки, перетворюючи крохмаль, глікоген і декстрини на мальтозу. Розщеплення α -1,6-глікозидних зв'язків у амілопектині крохмалю і глікогені відбувається в кишечнику під дією ферменту аміло-1,6-глюкозидази. Мальтоза, що утворюється в кишечнику, швидко гідролізується під впливом ферменту β -глюкозидази на дві молекули глюкози. Під дією β -галактозидази (лактази) кишкового соку лактоза розщеплюється на глюкозу і галактозу, а під дією β -фруктофуранозидази (сахарази) сахароза в кишечнику розщеплюється на глюкозу і фруктозу.

На внутрішній поверхні тонкого кишечника розташовуються ворсинки, зовні вкриті кишковим епітелієм. Частина ферментів, які беруть участь у перетравлюванні вуглеводів, перебувають у порожнині тонкої кишки і забезпечують порожнинне травлення (амілаза, аміло-1,6-глюкозидаза). Решта ферментів, переважно мальтаза, лактаза і сахараза, фіксовані на мембранах епітеліальних клітин слизової оболонки тонкого кишечника. Дисахариди проходять між ворсинками й контактують із фіксованими на них ферментами. Таке травлення дістало назву контактного, пристінкового або мембранного травлення.

Клітковина, що входить до складу харчових продуктів, не перетравлюється ферментами слини і тонкого кишечника. У товстому кишечнику під впливом ферментів мікроорганізмів клітковина частково розщеплюється до дисахариду целобіози (складається з α - і β -глюкози), моносахариду глюкози, а останні розщеплюються з утворенням оцтової й інших кислот (масляної, молочної, пропіонової), які всмоктуються в кров. Мікроорганізми товстого кишечника використовують клітковину для біосинтезу вітамінів К, В₁₂, фолієвої кислоти.

Поживна цінність продуктів розщеплення клітковини незначна і тому не враховується при розрахунках раціону. Однак клітковина потрібна як елемент дієти, тому що вона підсилює секреторну функцію кишечника та його перистальтику.

Всмоктування вуглеводів

Розрізняють такі шляхи транспорту речовин через мембрани:

1. Пасивний транспорт: а) проста дифузія — за градієнтом концентрації; б) полегшена дифу-

зія — теж за градієнтом концентрації, але цьому допомагають білки-переносники.

2. Активний транспорт — проти градієнта концентрації за участю білків-переносників і з використанням енергії.

Вуглеводи всмоктуються у вигляді моносахаридів. Це, головним чином, глюкоза, галактоза і фруктоза. Частина моносахаридів надходить у кров і лімфу через мембрани клітин тонкого кишечника за градієнтом концентрації шляхом дифузії, тобто шляхом пасивного транспорту. Однак більша частина моносахаридів (а також амінокислоти) всмоктуються проти градієнта концентрації за допомогою спеціальних білків-переносників, тобто шляхом активного транспорту. При цьому білки-переносники з'єднуються на зовнішній поверхні мембран клітин тонкого кишечника з певним моносахаридом (глюкоза, галактоза, фруктоза та ін.) з утворенням рухливого комплексу переносник-моносахарид. Такий комплекс проходить через мембрану всередину клітини слизової оболонки кишечника, де комплекс переносник-моносахарид розпадається, моносахарид використовується цими клітинами або надходить у кров, а білок-переносник повертається на зовнішню поверхню мембрани клітин і вступає повторно в реакцію транспортування. Вважають, що білки-переносники приєднують до себе на зовнішній поверхні мембрани клітин тонкого кишечника до інших контактних ділянок іони Na^+ , у вигляді такого потрібного комплексу переносник-моносахарид- Na^+ проходить крізь мембрану в цитоплазму клітини тонкої кишки. У цитоплазмі клітин комплекс розпадається, моносахарид використовується в клітині або потрапляє в кров, а іон Na^+ і білок-переносник знову надходять на зовнішню поверхню клітин тонкого кишечника. Перенос моносахаридів за участю білків-переносників потребує витрати енергії, що вивільняється в результаті розщеплення АТФ.

Транспорт вуглеводів у клітині

Глюкоза, що надходить із порожнини кишечника, з кров'ю порталльної вени потрапляє в печінку, де частина її затримується, а решта через загальний кровотік потрапляє в клітини інших органів і тканин. Глюкоза не може простою дифузією потрапити в клітину, транспорт здійснюється за допомогою двох транспортних механізмів.

1. Перший механізм проникнення глюкози в клітину — *полегшена дифузія* — здійснюється за допомогою принаймні п'яти білків-переносників, що знаходяться на мембрані клітини (їх позначають від Glut-1 до Glut-5).

Glut-1 міститься у високій концентрації в еритроцитах, у низькій — у м'язах. У жировій тканині та скелетних м'язах переважає Glut-4. Кількість і активність Glut-4 у жировій тканині та скелетних м'язах збільшуються під дією інсуліну. При полегшеній дифузії глюкоза рухається з області високої концентрації в область з низькою концентрацією. Білок-переносник, що знаходиться в мембрані клітини, існує в двох конфор-

маціях. Глюкоза зв'язується з білком-переносником, який, змінюючи свою конформацію, переносить глюкозу в клітину.

2. Другий механізм перенесення глюкози в клітину — *котранспорт* — енергетично залежний процес транспорту глюкози проти концентраційного градієнта. Рух глюкози сполучений з концентраційним градієнтом Na^+ , який утворюється $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ азою, що транспортується всередину клітини в той самий час (симпорт). Це забезпечує всмоктування глюкози, галактози навіть при низькій концентрації. Такий тип транспорту характерний для кишечника, ниркових каналців, судинного сплетення.

Основний моносахарид, що надходить у кров з кишечника, — глюкоза. Підвищення її вмісту в крові на висоті травлення збільшує секрецію інсуліну, який прискорює транспорт глюкози в клітини, змінюючи проникність клітинних мембран, за рахунок активації транспортних білків, відповідальних за проходження глюкози через клітинні мембрани. Винятком є печінка і мозок, оскільки швидкість надходження глюкози в клітини цих органів визначається її концентрацією.

Недостатність лактази

Лактаза міститься в кишечнику немовлят і забезпечує засвоєння лактози грудного молока, розщеплюючи її на глюкозу і галактозу. Після припинення грудного вигодовування або дещо пізніше активність лактази в кишечнику помітно знижується, а в деяких дітей зникає повністю. Лактаза відсутня приблизно в 15 % дорослих людей європейських народностей і в 80 % східних народностей, мешканців Америки. Однак частіше недостатність лактази буває набутою і тимчасовою: вона виникає при багатьох шлунково-кишкових захворюваннях. Найхарактерніший прояв недостатності лактази — це діарея (пронос) після прийому молока. Негідролізована лактоза надходить у нижні відділи тонкого кишечника, де зброджується кишковою флорою з утворенням газів (метеоризм) і кислот; останні, внаслідок осмотичної дії, залучають багато води до кишечника і виникає пронос. Метеоризм є причиною кишкових кольок. Особливо небезпечна тимчасова недостатність лактази в грудних дітей, оскільки їх основною їжею є молоко: якщо недостатність вчасно не розпізнана, може виникнути тяжка дистрофія.

Перетравлювання і всмоктування ліпідів

Перетравлювання ліпідів у шлунково-кишковому тракту відбувається за участю таких ферментів, як шлункова, кишкова і панкреатична ліпази, фосфоліпази, холестеролестерази. Крім ферментів, перетравлюванню ліпідів сприяють емульгатори жирів (жовчні кислоти, моногліцериди, білки, вільні жирні кислоти).

У порожнині рота жири не піддаються перетравлюванню, оскільки слина не містить ферментів, що розщеплюють жири. У шлунку люди-

ни і ссавців є шлункова ліпаза. Однак у дорослому організмі ця ліпаза малоактивна, поперше, тому, що у шлункового соку $\text{pH}=1,5\text{--}1,8$, а оптимальне значення pH для шлункової ліпази перебуває в межах $5,5\text{--}7,5$; по-друге, ліпаза може інтенсивно гідролізувати тільки попередньо емульговані жири, а в шлунку відсутні речовини, що сприяють їхньому емульгуванню. Високу активність у дітей, особливо грудного віку, виявляє ліпаза ротової порожнини, що всмоктується у шлунок разом із молоком. pH шлункового соку в дітей грудного віку дорівнює приблизно $5,0$. Крім цього, грудні діти харчуються молоком, де ліпіди вже в емульгованому стані. Тому в шлунку дітей може розщеплюватися близько 10% жирів їжі. У дорослих, які живлять значно менше молочних продуктів, у шлунку перетравлюється близько 5% ліпідів раціону.

Перетравлювання триацилгліцеролів

Головним місцем перетравлювання ліпідів є дванадцятипала кишка й інші відділи тонкого кишечника, де ліпіди піддаються емульгуванню й ферментативному гідролізу. Емульгування жирів відбувається за участю переважно жовчних кислот, а також моноацилгліцеролів, вільних жирних кислот і білків. Ці речовини обволікають жирові краплі й, будучи поверхнево-активними, зменшують поверхневий натяг на межі жир-вода, завдяки чому вони полегшують емульгування (роздроблення) жирових крапель на дрібніші жирові краплі, також вони стабілізують емульсію жиру, що вже утворилася. Триацилгліцероли можуть всмоктуватися у вигляді дрібних жирових крапель (емульсій) без попереднього гідролізу до гліцеролу й ВЖК. При цьому розмір жирових крапель не повинен перевищувати $0,5$ мкм. Однак основна маса триацилгліцеролів всмоктується після розщеплення їх панкреатичною і кишковою ліпазою до моноацилгліцеролів, ВЖК і гліцеролу.

Як уже згадувалося, головним фактором, що сприяє емульгуванню жирів, є жовчні кислоти. Емульгування жирів збільшує поверхню розділу фаз. Ліпаза адсорбується на поверхні міцел, де і відбувається гідроліз. У жовчі міститься також речовина нез'ясованої природи, що активує і стабілізує ліпазу. Оптимум pH ліпази в присутності жовчі зміщується з 8 до 6 , тобто до значення pH , що буває у верхньому відділі кишечника після прийому жирної їжі. Жовчні кислоти активують ліпазу і холестеролестеразу в тонкому кишечнику, а також сприяють всмоктуванню вищих жирних кислот. Вони утворюють із ВЖК і фосфоліпідами стійкі у водному середовищі міцели. Міцела складається з гідрофобного ядра, утвореного ВЖК і моноацилгліцеролами, оточеного гідрофільною оболонкою з жовчних кислот, фосфоліпідів і молекул води. Міцели всмоктуються, потрапляючи в епітеліальні клітини ворсинок. У цих клітинах жирові міцели розпадаються, жовчні кислоти потрапляють у кров і по ворітній вені надходять у печінку, а потім із жовцю знову надходять у тонкий кишечник або ж з епітеліальних клітин ворсинок кишечника відразу повер-

таються у кишечник. Відбувається постійна циркуляція жовчних кислот між печінкою та кишечником. Вони реабсорбуються у кишечнику, з кров'ю надходять до печінки і знову секретуються у кишечник. За добу майже 90 % молекул жовчних кислот таким чином обертаються кілька разів.

Збільшенню поверхні контакту харчової маси з ферментами й емульгаторами жирів сприяє CO_2 . Соляна кислота зі шлунка надходить у дванадцятипалу кишку, де взаємодіє з бікарбонатами з виділенням CO_2 . Пухирці CO_2 сприяють подрібненню харчової маси. У тонкому кишечнику нейтральні жири (триацилгліцероли) піддаються гідролітичному розщепленню під дією панкреатичної та кишкової ліпаз. Панкреатична ліпаза є більш активною, ніж кишкова, вона гідролізує складні ефірні зв'язки в положеннях C_1 і C_3 з утворенням β -моноацилгліцеролів і вільних жирних кислот. Оскільки ліпаза гідролізує складні ефірні зв'язки у α -положенні, то утворені β -моноацилгліцероли ізомеризуються в α -моноацилгліцероли і знову піддаються дії панкреатичної ліпази з утворенням гліцеролу і вільної жирної кислоти. Частина моноацилгліцеролів може всмоктуватися через слизову оболонку тонкого кишечника.

Перетравлювання стеридів, як і нейтральних жирів (триацилгліцеролів), відбувається шляхом гідролітичного розщеплення їх на стерини і вищі жирні кислоти, але під дією вже іншого ферменту — холестеролестерази підшлункової залози і кишечника. Наявність холестеролу в порожнині кишечника забезпечується харчовими продуктами (близько 1/4 від загального вмісту), злущеним епітелієм кишечника та кишковими соками (така ж кількість) і холестеролу, що надходить із жовчю (майже половина від загального вмісту). Три чверті цього холестеролу реабсорбується у тонкому кишечнику разом з іншими продуктами гідролізу ліпідів, а решта окиснюється та відновлюється мікрофлорою товстої кишки і виводиться з організму.

Перетравлювання фосфогліцеридів

Перетравлювання фосфогліцеридів, що надходять з продуктами харчування, відбувається під дією панкреатичної фосфоліпази. Фосфогліцериди, як відомо, складаються із залишку гліцеролу, з яким зв'язані два залишки вищих жирних кислот, залишок фосфорної кислоти, а з останньою — азотовмісна сполука (холін, серин або етаноламін). Спочатку під дією ферменту фосфоліпази A_2 від фосфогліцеридів відщеплюється один залишок вищої жирної кислоти в β -положенні з утворенням із лецитину лізолецитину і вищої жирної кислоти. Під дією лізофосфоліпази від лізолецитину відщеплюється другий залишок вищої жирної кислоти в α -положенні з утворенням гліцерофосфохоліну. Він добре розчинний у воді та добре всмоктується. Вважають, що фосфоліпіди, які надходять у порожнину кишечника з жовчю, не гідролізуються, а беруть участь у сольобілізації харчових ліпідів і їх всмоктуванні через слизову оболонку кишечника.

Перетравлювання і всмоктування білків

З їжею в шлунково-кишковий тракт надходять як прості білки (складаються тільки з амінокислот), так і складні (нуклеопротейни, хромопротейни, ліпопротейни, глікопротейни). Складні білки спочатку розщеплюються на простий білок і небілкові сполуки (гем, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди). У процесі перетравлювання білки у шлунково-кишковому тракті за участю протеолітичних ферментів (пептидаз), що продукуються клітинами слизової оболонки шлунка, тонкого кишечника й клітинами підшлункової залози, піддаються гідролізу до амінокислот. Гідроліз полягає в розриві пептидного зв'язку білкової молекули з приєднанням елементів води. Внаслідок гідролізу білки втрачають видову і тканинну специфічність.

Відомі дві групи пептидаз:

1) екзопептидази, що каталізують розрив кінцевого пептидного зв'язку з вивільненням якоїсь однієї кінцевої амінокислоти;

2) ендопептидази, які переважно гідролізують пептидні зв'язки всередині поліпептидного ланцюга, а також, залежно від природи амінокислот, і деякі кінцеві пептидні зв'язки. До ендопептидаз належать: пепсин, ренін, трипсин, хімо-трипсин, еластаза, колагеназа, а до екзопептидаз — карбоксипептидази, амінопептидази, дипептидази.

Перетравлювання білків у шлунку

Перетравлювання білків у шлунку триває 6–8 год і відбувається за участю складних компонентів шлункового соку. Його загальна кількість, що виділяється за добу, у середньому становить 2,5 л. Він містить соляну кислоту й протеолітичні ферменти пепсин і ренін. Соляна кислота утворюється в обкладкових клітинах слизової оболонки шлунка. Для її утворення необхідні іони Cl^- і H^+ . Іони хлору утворюються при дисоціації NaCl у крові, надходять через клітинні мембрани в обкладкові клітини і з'єднуються там з іонами Гідрогену. Іони H^+ вивільнюються при дисоціації вугільної кислоти: $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$. Утворена HCl потім секретується обкладковими клітинами в порожнину шлунка. Роль соляної кислоти в шлунку полягає в такому.

1. Під впливом HCl білки їжі денатуруються, набрякають і розпушуються, внаслідок чого збільшується площа їх контакту з ферментами, зростає швидкість розщеплення білків ферментами.

2. HCl переводить неактивний пепсиноген в активний пепсин.

3. Соляна кислота створює оптимальне середовище (рН) у шлунку для дії пепсину.

4. HCl чинить бактерицидну дію в шлунку.

5. Соляна кислота сприяє евакуації їжі зі шлунка в тонкий кишечник і регулює ферментативну функцію підшлункової залози.

Пепсин виробляється в клітинах слизової оболонки шлунка в неактивній формі, у вигляді пепсиногенів I і II. У людини з пепсиногенів утворюється не один активний пепсин, а кілька

близьких за будовою пепсинів. З пепсиногену I утворюються пепсин А і пепсин В, а з пепсиногену II — пепсин С (гастринксин). Вони виявляють максимальну активність при різних значеннях рН: пепсини А і В — при рН=1,5–1,8, а гастринксин — при рН=2,0–3,0. Співвідношення гастринксин/пепсин у нормі дорівнює 1 : 5, змінюється при патологічних станах (наприклад, при виразці шлунка становить 1 : 4, при гіперацидному гастриті — 1 : 3). При переважанні рослинного білка в їжі пептидні зв'язки в ньому розщеплюються за допомогою гастринксину.

Перетворення неактивного пепсиногену на активний пепсин відбувається за участю H^+ соляної кислоти і пепсину шляхом обмеженого протеолізу, тобто відщепленням від молекули пепсиногену кількох пептидів, один з яких має властивості інгібітора пепсину. У результаті відщеплення пептидів поліпептидний ланцюг пепсиногену (молекулярна маса 42 000) коротшає, вивільняється активний центр ферменту, і пепсиноген перетворюється на пепсин (молекулярна маса — близько 32 700). Під дією пепсину розщеплюються пептидні зв'язки в глибині молекули білка, тобто пепсин є ендопептидазою. У шлунку пепсин гідролізує пептидні зв'язки в білках, утворені ароматичними амінокислотами, розщеплює практично всі білки, за винятком кератину, протамінів, гістонів і мукопротеїнів. У шлунку дитей грудного віку виявляє високу активність фермент ренін (сичуговий фермент). За структурою він близький до пепсину, також складається з одного поліпептидного ланцюга з молекулярною масою близько 40 000. Однак за механізмом і специфічністю дії ренін різко відрізняється від пепсину. Головне призначення реніну — відщеплення пептиду від білка молока казеїногену. При цьому казеїноген перетворюється на казеїн, а останній взаємодіє з солями кальцію з утворенням казеїнату кальцію, який погано розчинний у воді, тому випадає в осад на слизову шлунка, що сприяє затримці його в шлунку на більш тривалий час і розщепленню пепсином. У дорослих людей ренін мало активний і перетворення казеїногену на казеїн відбувається під дією пепсину. У шлунку також піддаються розщепленню складні білки, нуклеопротейни і хромопротейни. Під дією соляної кислоти і пепсину вони перетворюються на прості білки, нуклеїнові кислоти і гем.

Основним джерелом пепсину в організмі є головні клітини, що синтезують і виділяють пепсиноген I. Обкладкові клітини (у людини) продукують соляну кислоту і внутрішній фактор. Ендокринні клітини хаотично розміщені по всій поверхні кислотопродукуючого епітелію і представлені ентерохромофіноподібними клітинами (секретують гістамін) і D-клітинами (синтезують і виділяють соматостатин). Слизові клітини синтезують і виділяють пепсиноген II. Основні ендокринні клітини: гастринвмісні G-клітини і соматостатинвмісні D-клітини.

Роль обкладкових клітин у секреції HCl

При активації обкладкових клітин гастрином або гістаміном у них утворюються внутрішні секреторні каналці, необхідні для секреції соляної кислоти. Ключовим ферментом, що визначає здатність обкладкових клітин активно транспортувати H^+ проти хімічного градієнта, є Na^+ , K^+ -АТФаза. На кожний виділений у порожнину шлунку протон (H^+) у цитоплазмі обкладкової клітини залишається один іон OH^- . Для запобігання розвитку внутрішньоклітинного алкалозу і загибелі клітини фермент карбоангідраза каталізує утворення HCO_3^- з CO_2 і OH^- :



Бікарбонат-іон, який утворюється в даній реакції, переноситься через мембрану в обмін на Cl^- . Таким чином, на кожний протон, виділений у порожнину шлунка, надходить одна молекула HCO_3^- . Здатність активованих обкладкових клітин підвищувати місцеву концентрацію цього буфера (HCO_3^-/CO_2) в своєму безпосередньому мікрооточенні оберігає їх від ушкодження, зумовленого зворотною дифузійною іонів H^+ із порожнини шлунка в тканину.

Регулятори секреції шлункового соку

Основні стимулятори секреції шлункового соку — це гастрин, гістамін, ацетилхолін. Відомо, що обкладкові клітини іннервуються як власними нервами, так і парасимпатичною нервовою системою (рис. 16.1).

Ацетилхолін, що виділяється нервовими закінченнями, зв'язується мускариновими рецепторами (M_3) і активує фосфатидилінозитолову систему.

Гістамін діє на специфічні H_2 -рецептори обкладкових клітин, активуючи аденілатциклазу, у результаті чого підвищується рівень цАМФ у цитоплазмі, активуються протеїнкінази і фосфорилуються білки, що регулюють іонні канали в каналцевих мембранах.

Гастрин — це основний ендокринний стимулятор обкладкових клітин. Він синтезується, зберігається і виділяється G-клітинами антрального епітелію. Активність цих ендокринних клітин регулюється вмістом порожнини шлунково-кишкового тракту, нервової системи і паракринними факторами.

Основними стимуляторами виділення гормону гастрину є білки, амінокислоти і пептиди, а соляна кислота — його потужний інгібітор. Виділення гастрину пригнічується при рН=2,0–2,5. Секреція гастрину G-клітинами може пригнічуватися соматостатином, який виділяється розташованими поряд D-клітинами. Паракринна регуляція може відігравати роль у пригніченні секреції гастрину кислотою, що стимулює виділення соматостатину D-клітинами.

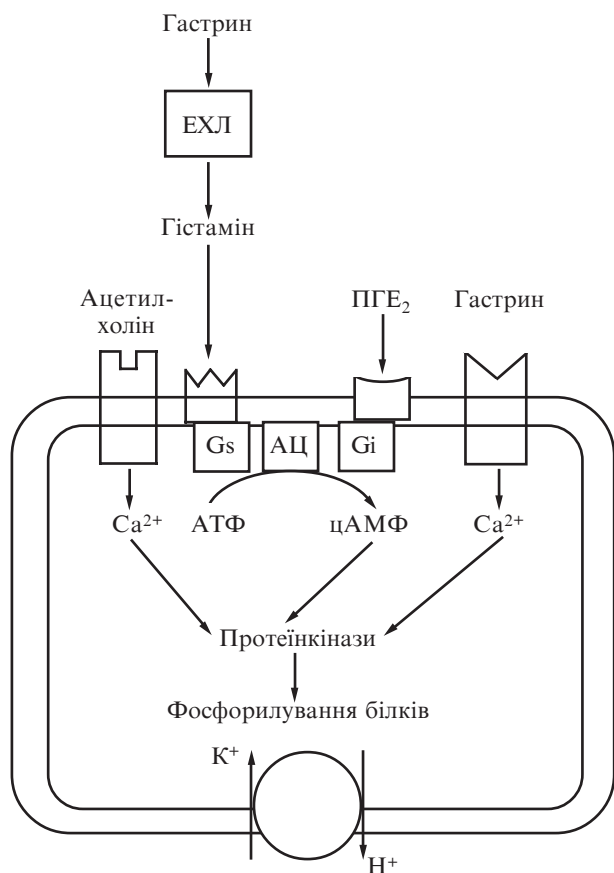


Рис. 16.1. Регулювання секреції кислоти парентальними клітинами шлунка (ЕНЛ — enteroхромафінподібний кислотопродукуючий епітелій; АЦ — аденілатциклаза)

Вплив гастрину на секрецію соляної кислоти

Гастрин стимулює обкладкові клітини прямим і непрямим шляхом. По-перше, він безпосередньо зв'язується з рецептором на обкладкових клітинах і підвищує рівень фосфатидилінозитолової системи й іонів Ca^{2+} в цитозолі, де відбувається фосфорилювання ключових білків, які беруть участь у трансформації обкладкової стінки. По-друге, гастрин впливає на enteroхромафінподібні клітини, спричинюючи викид гістаміну, який паракринно стимулює обкладкові клітини (цАМФ — «вторинний месенджер»).

Блокатори H_2 -рецепторів — циметидин (тагамет), ранітидин (зантак), фамотидин (пепсид) — знижують секрецію соляної кислоти і сприяють загоєнню виразок шлунка.

Основні фази шлункової секреції такі.

Церебральна фаза забезпечує при їді секрецію 20–30 % соляної кислоти, що починається у момент вживання їжі (до її надходження в шлунок) або навіть викликається виглядом, запахом і смаком апетитної їжі. Ця фаза перебуває під впливом блукаючого нерва, який іннервує обкладкові або G-клітини.

Шлункова фаза забезпечує при їді секрецію 60–70 % соляної кислоти, починається після надходження їжі в шлунок. Вона регулюється нервовими, хімічними і ендокринними впливами на

обкладкові клітини. Як довгі (ваговагальні), так і короткі (внутрішні) нервові шляхи діють на обкладкові клітини або безпосередньо, або змінюючи секрецію гастрину чи соматостатину.

Кишкова фаза забезпечує під час надходження їжі секрецію близько 10 % соляної кислоти, розпочинається, коли їжа потрапляє в тонку кишку. Вона частково зумовлена викидом гастрину з проксимальних відділів дванадцятипалої кишки, оскільки близько 30 % гастрину в організмі виділяється з проксимальних відділів тонкого кишечника. Кишкова фаза секреції шлункового соку пов'язана також із розтягненням тонкої кишки хімутом.

Перетравлення білків у тонкому кишечнику

Зі шлунка в тонкий кишечник потрапляють білки і пептиди, де під дією протеолітичних ферментів підшлункової залози і слизової оболонки тонкого кишечника вони розщеплюються до амінокислот. У підшлунковій залозі виробляються такі ферменти, як трипсин, хімотрипсин, карбоксипептидаза, еластаза, колагеназа; у слизовій тонкого кишечника — ентерокиназа, амінопептидаза, дипептидаза. Ферменти підшлункової залози виробляються в неактивній формі, у вигляді проферментів, надходять через панкреатичну протоку до тонкої кишки, де відбувається їхнє перетворення на активні форми ферментів. Трипсиноген перетворюється на трипсин під дією спочатку ентерокинази, а потім — автокаталітично. При цьому відбувається відщеплення з N-кінця гексапептиду і відповідно — вкорочення поліпептидного ланцюга. Процес перебігає за участю іонів кальцію. Оптимум дії трипсину проявляється при $\text{pH}=7,8$. Він діє як ендопептидаза, розщеплює близько 1/3 всіх пептидних зв'язків білків і високомолекулярних пептидів. Трипсин має вузьку субстратну специфічність, розриваючи пептидні зв'язки, в утворенні яких беруть участь карбоксильні групи *аргініну* і *лізину* (діамінокарбонів амінокислоти).

З підшлункової залози в кишечник надходить також хімотрипсиноген. Розрізняють хімотрипсиноген А і В, які незначно розрізняються за амінокислотним складом. У кишечнику хімотрипсиноген А і В під впливом активного трипсину і хімотрипсину піддаються обмеженому протеолізу. У результаті відщеплення від молекул хімотрипсиногену А і В поліпептидів вони перетворюються з неактивних форм на активні. При цьому утворюється ціла група хімотрипсинів з однаковою протеолітичною специфічністю, але з різною активністю. *Хімотрипсин* є також ендопептидазою, але має ширшу субстратну специфічність, ніж трипсин. Він гідролізує пептидні зв'язки, в утворенні яких беруть участь карбоксильні групи ароматичних амінокислот — *фенілаланіну*, *тирозину*.

Завдяки гідролітичній дії на білки пепсину, трипсину і хімотрипсину утворюються пептиди різної довжини і незначна кількість вільних амінокислот. Подальший гідроліз пептидів до

вільних амінокислот здійснюється під впливом групи ферментів. Ці ферменти відщеплюють по одній амінокислоті від пептидного ланцюга і тому належать до екзопептидаз. Карбоксипептидази синтезуються підшлунковою залозою й активуються трипсином у кишечнику. Розрізняють дві карбоксипептидази — А і В. Карбоксипептидаза А розриває переважно пептидні зв'язки, утворені С-кінцевими ароматичними амінокислотами, а карбоксипептидаза В — зв'язки, в утворенні яких беруть участь С-кінцеві аргінін або лізин, тобто основні амінокислоти.

Фізіологічні функції панкреатичного соку

Панкреатичний сік містить ферменти, необхідні для розщеплення вуглеводів, ліпідів і білків їжі на компоненти, які всмоктуються активним і пасивним шляхом в тонкому кишечнику. Без цих ферментів перетравлення їжі порушується, спостерігається синдром мальабсорбції й настає смерть. Тому хворим із недостатньою функцією підшлункової залози разом з їжею призначають панкреатичні ферменти.

Роль секретину при кишковій фазі секреції панкреатичного соку

Секретин виділяється в кров S-клітинами дванадцятипалої кишки. Головний стимул виділення секретину — підвищення кислотності вмісту дванадцятипалої кишки. Під дією секретину відбувається секреція бікарбонату HCO_3^- , який нейтралізує кислий вміст, що надходить зі шлунка в проксимальні відділи дванадцятипалої кишки, тому що оптимум дії ферментів підшлункової залози і кишечнику перебуває в межах рН 7,0–8,0 — для захисту слизової оболонки кишечнику від ушкоджуючої дії соляної кислоти, оскільки слизова оболонка кишечнику, на відміну від шлунка, не має такого могутнього захисного бар'єру.

Механізм секреції HCO_3^-

В ацинарних клітинах підшлункової залози відбуваються синтез і секреція всіх панкреатичних ферментів і електролітів (NaCl і NaHCO_3). Ці клітини мають Na^+ , K^+ -АТФазу, яка регулює обмін трьох іонів Na^+ з клітини на два іони K^+ . Цим створюється електрохімічний потенціал, який сприяє зворотній дифузії Na^+ в клітину і супроводжується паралельним виведенням із неї протонів (H^+) шляхом вторинного активного транспорту з участю Na^+/H^+ транспортних систем. Іони OH^- , що залишилися в клітині, взаємодіють із CO_2 під дією карбоангідрази; HCO_3^- , що утворився, активно переноситься в обмін на іон Cl^- . Для збереження електронейтральності секрету в порожнину проток надходять іони Na^+ , де вони зв'язуються з HCO_3^- з утворенням NaHCO_3 .

Роль холецистокініну при кишковій фазі панкреатичної секреції

Надходження білків, ліпідів або продуктів їх розщеплення в дванадцятипалу кишку активує викид гормону холецистокініну, який стимулює секрецію панкреатичних ферментів (активує фосфатидилінозитолову систему).

Амінопептидази продукуються в клітинах слизової оболонки тонкого кишечника і також активуються трипсином. У результаті дії на пептиди карбокси- й амінопептидаз в остаточному підсумку залишаються дипептиди (що складаються з двох амінокислот), на які діють специфічні дипептидази, що розщеплюють дипептиди на окремі амінокислоти. Крім згаданих протеолітичних ферментів, у тонкому кишечнику на білки діють також еластаза і колагеназа, що синтезуються підшлунковою залозою і активуються в кишечнику трипсином. Обидва ферменти належать до ендопептидаз. Еластаза гідролізує еластин сполучної тканини, а колагеназа — колаген кісткової й хрящової тканин.

Складні білки (зокрема, нуклеопротейіни, хромопротейіни й інші) у тонкому кишечнику під впливом трипсину і хімотрипсину розщеплюються до білків і відповідних простетичних груп. Білки піддаються гідролізу до амінокислот за участю перерахованих вище ферментів. Далі під впливом дезоксирибонуклеази і рибонуклеази ДНК і РНК розщеплюються на нуклеотиди, а нуклеотиди під впливом нуклеотидаз — на нуклеозиди. Топографічно основні процеси гідролізу білків, вуглеводів і жирів перебігають на поверхні слизової оболонки кишечника, що дістало назву пристінкового травлення.

Всмоктування продуктів гідролізу білків

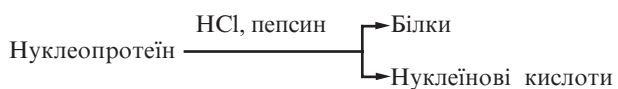
Через мембрани клітин слизової оболонки тонкого кишечника в кров всмоктуються переважно амінокислоти й у невеликих кількостях — низькомолекулярні пептиди. Всмоктування амінокислот відбувається шляхом пасивного транспорту, полегшеної дифузії, а також переважно шляхом активного транспорту за участю специфічних білків-переносників і АТФ.

Внутрішній фактор (фактор Касла) відіграє істотну роль у зв'язуванні та перенесенні вітаміну B_{12} через слизову оболонку дистальних відділів тонкого кишечника.

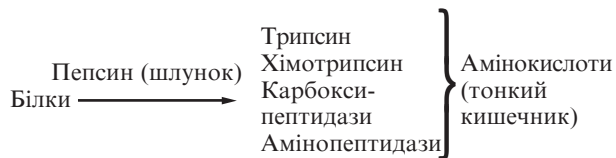
Розщеплення нуклеопротейнів у шлунково-кишковому тракті

В організмі нуклеїнові кислоти входять до складу клітин і надходять із продуктами харчування в шлунково-кишковий тракт у вигляді нуклеопротейнів.

Нуклеопротейіни = протеїни + нуклеїнові кислоти.



У шлунку нуклеопротейіни під дією соляної кислоти і пепсину розщеплюються на прості білки і нуклеїнові кислоти. Під впливом соляної кислоти розриваються переважно сольові зв'язки між нуклеїновими кислотами і білками основного характеру (протамінами і гістонами), а більш стійкі зв'язки при рН шлункового соку (рН=1,5–2,5) розщеплюються пепсином.

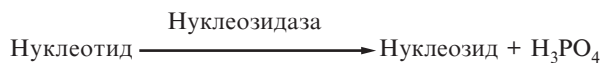


Білки в шлунку і тонкій кишці піддаються гідролізу до амінокислот, що всмоктуються в кишечнику.

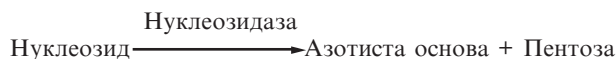
Нуклеїнові кислоти під дією ферментів нуклеаз тонкого кишечнику і підшлункової залози розщеплюються до олігонуклеотидів і полінуклеотидів, а далі — до мононуклеотидів:



Мононуклеотиди під дією ферментів тонкої кишки нуклеотидаз розпадаються на нуклеозиди і неорганічний фосфат:



Нуклеозиди далі розщеплюються під дією нуклеозидаз:



Однак внаслідок малої активності нуклеозидаз основними продуктами, що всмоктуються через слизову оболонку тонкої кишки, є мононуклеотиди, які включаються в тканинний обмін.

16.3. ВІТАМІНИ ЯК КОМПОНЕНТИ ХАРЧУВАННЯ: ЕКЗОГЕННІ ТА ЕНДОГЕННІ ГІПОВІТАМІНОЗИ. ВОДОРозчинні (КОФЕРМЕНТНІ) ВІТАМІНИ

У 1880 р. російський учений М. І. Лунін провів експериментальні дослідження на двох групах мишей. Одна група одержувала штучно виготовлене молоко з білків (казеїну), жирів, молочного цукру, солей і води. Друга група мишей одержувала свіже молоко. Перша група тварин загинула, а друга залишилася здоровою і нормально розвивалася. На підставі цих досліджень учений дійшов висновку, що, крім білків, жирів, молочного цукру, солей і води, тварини мають потребу в якихось ще невідомих речовинах, необхідних для життя.

У 1886 р. голландський лікар Х. Ейкман, який працював в'язничним лікарем на о. Ява, де основним продуктом харчування людей був полірований (очищений) рис, помітив, що у курчат, які одержували полірований рис, виникло захво-

рювання, аналогічне поліневриту (бері-бері) у людини. При додаванні до очищеного рису рисових висівків у людей і курчат захворювання не розвивалося, а виготовлений із висівків рису екстракт мав лікувальний ефект у людей, хворих на бері-бері. Ці спостереження довели, що в оболонці рису містяться якісь речовини, необхідні для нормальної життєдіяльності організму. У 1911 р. польський учений К. Функ виділив у кристалічній формі з рисових висівків речовину, що охороняла від розвитку бері-бері. При аналізі хімічного складу цієї речовини вчений виявив аміногрупу. З огляду на важливе значення подібних речовин для життя й наявність аміногрупи в складі виділеної ним речовини, К. Функ запропонував називати ці невідомі речовини «вітамінами», що означає «аміни життя». Згодом виявилось, що деякі з вітамінів не містять аміногрупу і взагалі азот, однак термін «вітаміни» міцно вкорінився в біології та медицині.

Вітаміни — це різноманітні за хімічною структурою речовини. Більшість із них швидко руйнуються під дією високих температур, сильних кислот і лугів, іонізуючого випромінювання та інших факторів, що необхідно враховувати при зберіганні та консервуванні продуктів, виготовлених лікарських форм, які містять вітаміни. Більшість вітамінів синтезуються не в організмі людини, а рослинами і кишковими бактеріями, тому джерелом вітамінів для людини є продукти переважно рослинного походження. Деякі вітаміни (РР, D, К) утворюються в організмі людини в таких незначних кількостях, які не забезпечують потреб організму. Вітаміни А і D людина одержує разом із продуктами тваринного походження (молоко, масло, риб'ячий жир), інші містяться у рослинах (фолієва кислота). Отже, вітаміни — це харчові речовини, наявні в невеликих кількостях у їжі, вони забезпечують нормальний перебіг біохімічних і фізіологічних процесів шляхом участі в регуляції обміну цілісного організму. Незамінні амінокислоти, деякі рослинні ненасичені жирні кислоти (лінолева, ліноленова й ін.) також є незамінними для людини, оскільки вони не синтезуються в організмі. Однак в останньому випадку згадані речовини не належать до вітамінів, оскільки вітаміни відрізняються від інших органічних речовин двома характерними ознаками: не включаються в структуру тканин; не використовуються організмом як джерело енергії.

При недостатньому надходженні в організм вітамінів, їх повній відсутності у споживаній їжі або порушенні їхнього всмоктування, транспорту тощо розвиваються ті чи інші захворювання. Хвороби, що виникають при повній відсутності в їжі або повному порушенні засвоєння якогонебудь вітаміну, називаються *авітамінозами*. Хвороби, що виникають через недостатнє надходження вітамінів з їжею або погане їх засвоєння, називаються *гіповітамінозами*. Гіпо- й авітамінози можуть бути первинними (екзогенними) й вторинними (ендогенними). Первинні гіпо- й авітамінози виникають при недостатній або повній

відсутності вітамінів у їжі. Вторинні гіпо- й авітамінози виникають тоді, коли організм не може засвоювати або використовувати ті вітаміни, які є в їжі, або ж витрачає їх у великій кількості. Це спостерігається:

а) при порушенні процесу всмоктування вітамінів при захворюваннях шлунково-кишкового тракту;

б) при порушеннях кишкової мікрофлори, коли мікроорганізми спричинюють посилений розпад вітамінів у кишечнику або посилюється використання вітамінів кишковою мікрофлорою;

в) при підвищеній потребі у вітамінах при деяких фізіологічних і патологічних станах (вагітність, лактація, тиреотоксикоз та ін.).

У дітей іноді спостерігають вітамінзалежні стани, коли явища авітамінозу виникають на фоні забезпечення вітамінами у дозах добової потреби, і позбавитись авітамінозу можна призначенням мегадоз вітамінів. Спостерігаються явища авітамінозів, які не корегуються навіть мегадозами вітамінів (вітамінрезистентні стани) і зумовлені вродженими або спадковими порушеннями обміну вітамінів (всмоктування, перетворення на коферментну форму), зокрема порушенням синтезу ферментного білка, у якого коферментом є той чи інший вітамін.

Зустрічаються також патологічні стани — *гіпервітамінози*, пов'язані з надходженням надмірних кількостей вітамінів у організм. Особливо часті гіпервітамінози при призначенні з лікувальною метою високих доз жиророзчинних вітамінів (рис. 16.2).

За фізико-хімічними властивостями (зокрема розчинністю) вітаміни поділяють на дві групи: водорозчинні й жиророзчинні. До водорозчинних вітамінів належать B_1 , B_2 , PP, B_6 , B_{12} , ліпоева кислота, пантотенова кислота, фолієва кис-

лота, біотин, вітамін С та ін., до жиророзчинних — вітаміни А, D, Е і К. Коли хімічна будова й механізм дії вітамінів ще не були відомі, їх позначали літерами латинського алфавіту (перша назва). З дослідженням хімічної структури вони одержували раціональну (другу) назву (B_1 — тіамін, B_2 — рибофлавін і т. ін.). Третю назву вітамін одержував, виходячи з його основного біологічного ефекту, іноді з префіксом «анти» або «а», що підкреслювало здатність вітаміну запобігати або усувати розвиток відповідного захворювання (B_1 — тіамін, антиневритний, аневрин тощо). Характерною рисою вітамінів, розчинних у воді, є те, що більшість із них беруть участь у побудові молекул коферментів. Коферменти (або простетичні групи) — це відносно низькомолекулярні органічні сполуки небілкової природи, що беруть участь разом з апоферментом у хімічних реакціях. Доведена коферментна роль для таких вітамінів: B_1 , B_2 , PP, B_6 , B_{12} , ліпоевої, фолієвої, пантотенової кислот, біотину, убіхінону.

Вітамін B_1 (тіамін, антиневритний вітамін, аневрин)

Хімічна структура. Тіамін складається з двох гетероциклічних сполук: піримідину, зв'язаного з метильною групою й аміногрупою, і тiazолу, зв'язаного з метильною і гідроксиметильною групами. Похідні піримідину і тiazолу з'єднані між собою метиленовою групою.

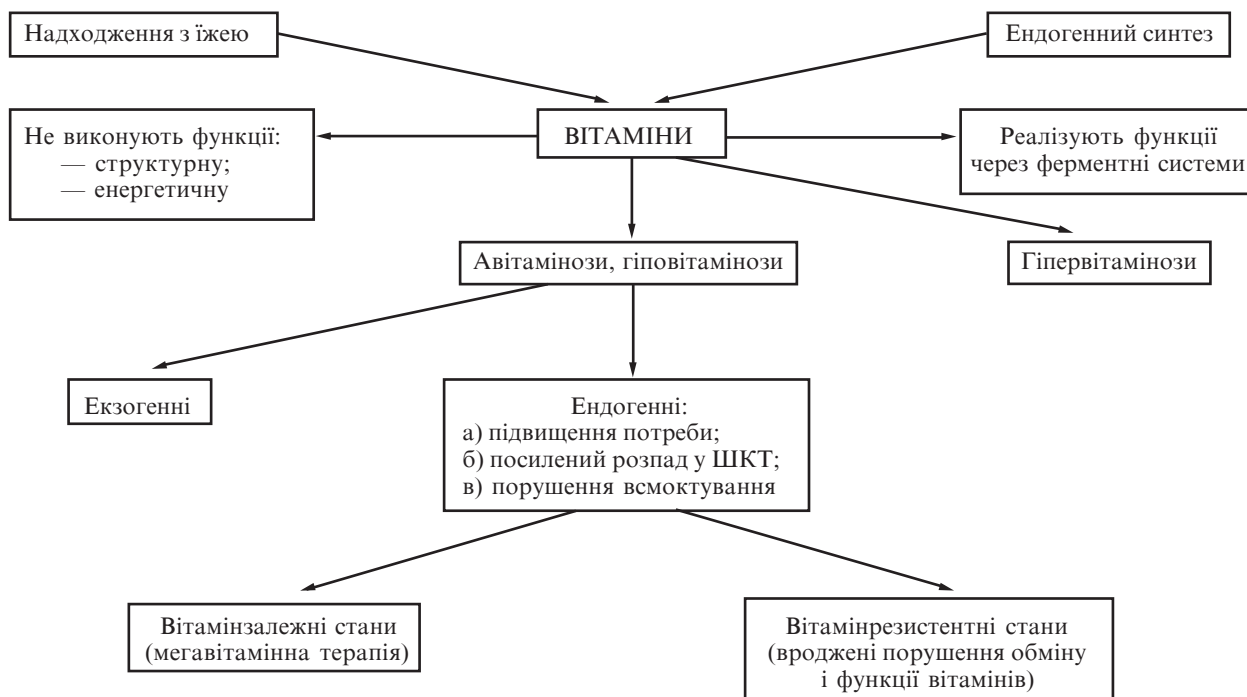
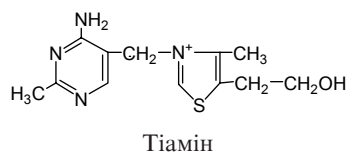
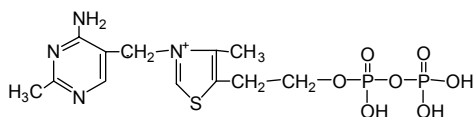


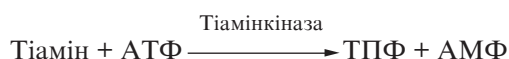
Рис. 16.2. Роль вітамінів у харчуванні



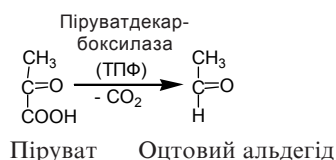
Тіамінпірофосфат

Коферментна форма: тіамінпірофосфат (тіаміндифосфат, кокарбоксілаза).

Коферментні функції. Тіамін входить до складу таких коферментів, як тіамінпірофосфат і тіамінтрифосфат, причому основні функції вітаміну В₁ у живих організмах пов'язані з тіамінпірофосфатом (ТПФ, ТДФ, кокарбоксілаза), що є пірофосфорним ефіром тіаміну, в утворенні якого беруть участь АТФ і фермент тіамінкіназа:



Вітамін В₁ у вигляді ТПФ входить до складу таких поліферментних комплексів, як піруватдегідрогеназний і α-кетоглутаратдегідрогеназний, а також до складу ферментів транскетолази і піруватдекарбоксілази дріжджів. Піруват- і α-кетоглутаратдегідрогеназні комплекси каталізують окисне декарбоксілювання пірувату і α-кетоглутарату відповідно до ацетил-КоА і сукциніл-КоА. У складі транскетолази ТПФ бере участь в анаеробній фазі пентозофосфатного шляху обміну вуглеводів. Входячи до складу піруватдекарбоксілази, ТПФ бере участь у декарбоксілюванні пірвіноградної кислоти до оцтового альдегіду:



Участь у біохімічних процесах і біологічна роль ТПФ досліджені недостатньо. Вважають, що цей кофермент може виконувати функції макроерга, подібно АТФ.

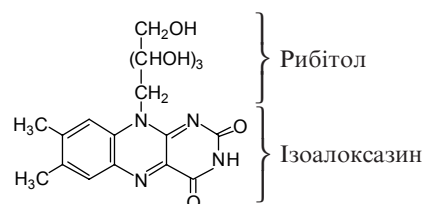
Гіновітаміноз

За відсутності або недостатності тіаміну розвивається тяжке захворювання — бері-бері. Специфічні симптоми його пов'язані з порушеннями переважно діяльності нервової й серцево-судинної систем, а також шлунково-кишкового тракту. З біохімічних порушень при авітамініозі В₁ слід вказати на підвищене виділення з сечею амінокислот і α-кетокислот, а також різке підвищення в крові концентрації α-кетокислот (головним чином пірвіноградної). Основним джерелом енергії для організму, як відомо, є вуглеводи. Уповільнення окисного декарбоксілювання пірувату спричинює зниження утворення енергії, що позначається, насамперед, на процесах проведення нервових імпульсів, порушення яких призводить до нервово-рухових і психічних розладів. Однак тканини тварин легко пристосовуються до окиснення інших речовин замість вуг-

леводів — наприклад, жирних кислот, окиснення яких до СО₂ і Н₂О з вивільненням енергії не здійснюється через пірвіноградну кислоту. Гальмування транскетолазної реакції призводить до недостатнього утворення НАДФН + Н⁺ і рибозо-5-фосфату, які є необхідними речовинами в реакціях біосинтезу жирних кислот, холестеролу, деяких гормонів, амінокислот і нуклеїнових кислот. НАДФН + Н⁺ має важливе значення для утворення і секреції соляної кислоти в шлунку. Добова потреба у вітаміні В₁ = 1–2 мг. Велика кількість тіаміну міститься у висівках, пивних дріжджах, зернових, печінці, нирках.

Вітамін В₂ (рибофлавін)

Хімічна структура. Рибофлавін складається з гетероциклічної метильованої сполуки ізоалоксазину і спирту рибітолу (похідне рибози):

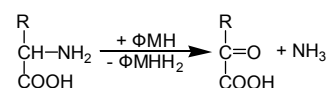


Коферментні функції. Вітамін В₂ входить до складу двох коферментів: флавінмононуклеотиду (ФМН) і флавінаденіндинуклеотиду (ФАД).

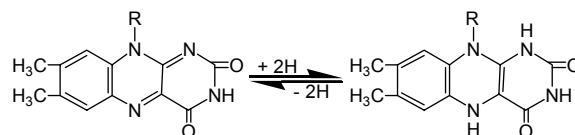
Флавінмононуклеотид (рибофлавін-5-фосфат) синтезується в організмі з рибофлавіну за участю АТФ і ферменту флавокінази:



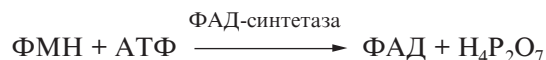
ФМН є коферментом оксидаз L-амінокислот, які каталізують окисне дезамінування амінокислот до кетокислот:



ФМН входить до складу ферментів тканинного дихання — НАДН-дегідрогенази, акцептора Гідрогену від нікотинамідних коферментів. Механізм акцепції атомів Гідрогену ізоалоксазином полягає в тому, що подвійні зв'язки, які перебувають в N₁ і N₁₀, розриваються і до атомів Нітрогену приєднуються 2 атоми Гідрогену, в результаті чого рибофлавін відновлюється.

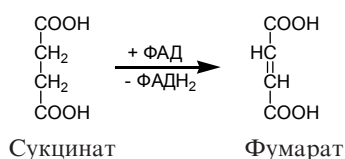


Флавінаденіндинуклеотид (ФАД) утворюється в організмі з ФМН за участю АТФ і ферменту ФАД-синтетази (флавіннуклеотидфосфорилази):



ФАД є коферментом ПДГ, α -КГДГ, сукцинатдегідрогенази, ацил-КоА-дегідрогенази і деяких інших ферментів окисно-відновних процесів.

Сукцинатдегідрогеназа — це один із ферментів циклу трикарбонових кислот, що каталізує окиснення сукцинату до фумарової кислоти:



Ацил-КоА-дегідрогеназа каталізує окиснення ацил-КоА (активної форми вищої жирної кислоти) до α, β -ненасиченої форми ацил-КоА.

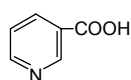
Гіповітаміноз

Біохімічні порушення при гіповітамінозі рибофлавіну виявляються порушенням процесів біологічного окиснення і тканинного дихання. Клінічні прояви гіповітамінозу вітаміну В₂ пов'язані з порушеннями енергетичного обміну, що призводить до затримки росту, схуднення, м'язової слабкості. Характерними також є запальні процеси слизових оболонок язика, губ, рогової оболонки ока (кератити), епітелію шкіри (дерматит), катаракта та ін.

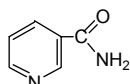
Добова потреба — 1,5–2 мг. Міститься у м'ясі, молоці, свіжих овочах, дріжджах.

Вітамін РР (нікотинава кислота, нікотинамід, В₅, антипелагричний)

Хімічна структура. РР-вітамінну активність мають нікотинава кислота і її амід. Обидві речовини є похідними гетероциклічної сполуки піридину:



Нікотинава кислота



Нікотинамід

Коферментні функції. Нікотинамід входить до складу коферментів нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД⁺) і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФ⁺), які є коферментами більш як 150 ферментів, що каталізують перенос атомів Гідрогену.

НАД⁺ — кофермент гліцеральдегідфосфатдегідрогенази, що каталізує окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до 1,3-бисфосфогліцеринової кислоти; лактатдегідрогенази, що каталізує оборотне окиснення лактату до пірувату; β -гідроксіацил-КоА-дегідрогенази, що каталізує окиснення β -гідроксіацил-КоА до β -кетоацил-КоА; малатдегідрогенази, що каталізує окиснення малату до оксалоацетату, а також піруватдегідрогеназного й α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексів.

НАДФ⁺ — кофермент глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, що каталізує окиснення глюкозо-6-фосфату до 6-фосфоглюконової кислоти, ізоцит-

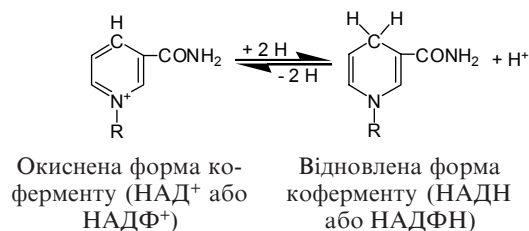
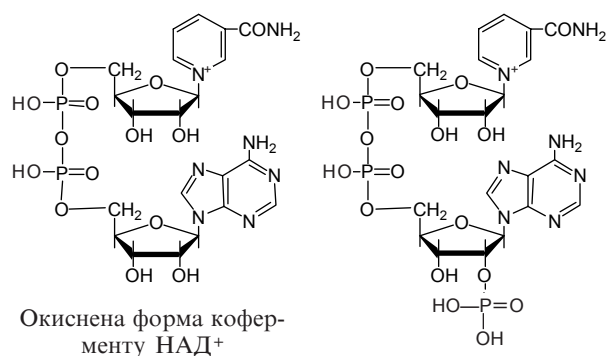


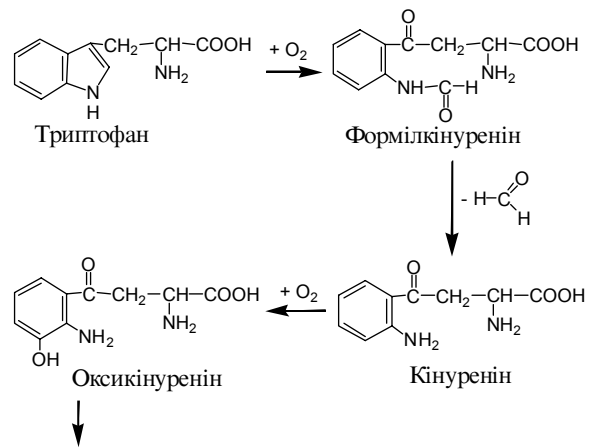
Рис. 16.3. Механізм участі нікотинамідних ферментів в окисно-відновних процесах

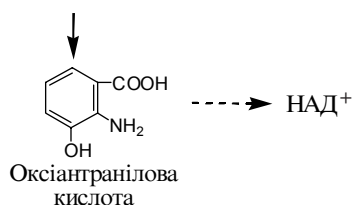
ратдегідрогенази і деяких інших ферментів. Ізоцитратдегідрогеназа — один із ферментів ЦТК, що каталізує окиснення ізолимонної кислоти (ізоцитрату) до оксалоацетату. Механізм участі нікотинамідних коферментів в окисно-відновних процесах подано на рис. 16.3.

Гіповітаміноз

Недостатня кількість у їжі вітаміну РР призводить до порушення синтезу НАД⁺ і НАДФ⁺, відповідно до зниження активності вищевказаних й інших дегідрогеназ, тобто порушується енергозабезпечення організму. При цьому гіповітамінозі розвивається захворювання пелагра (від грецьк. *pelle agra* — шорстка шкіра). Найхарактерніші ознаки пелагри — ураження шкіри (дерматити), шлунково-кишкового тракту (діарея) і порушення нервової діяльності (деменція).

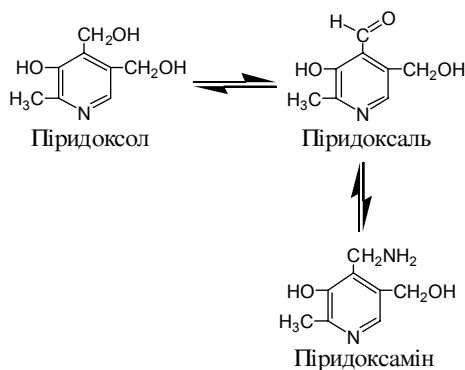
Добова потреба — 20–30 мг. Крім продуктів тваринного і рослинного походження, одним із джерел забезпечення організму вітаміном РР є утворення його з триптофану.



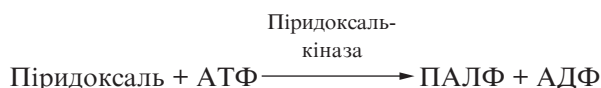


Вітамін В₆ (піридоксин, адермін)

Хімічна структура. В₆-вітамінну активність мають три похідні піридину — піридоксол, піридоксаль, піридоксамін:



Коферментні функції. Хоча всі три вищезазначені сполуки мають вітамінні властивості, до складу коферментів входять тільки піридоксаль і піридоксамін. Такими коферментами є фосфорні ефіри вітаміну піридоксальфосфат (ПАЛФ) і піридоксамінфосфат (ПАМФ). Утворення ПАЛФ і ПАМФ відбувається за участю АТФ і специфічних кіназ. Так, синтез ПАЛФ каталізує піридоксалькіназа:



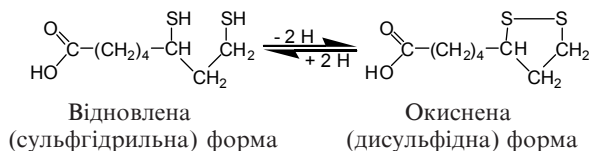
ПАЛФ і ПАМФ входять до складу ферментів амінотрансфераз, що каталізують оборотний перенос аміногрупи від амінокислот на α -кетокислоти. Крім цього, ПАЛФ є коферментом ферментів, що каталізують декарбоксилювання амінокислот з утворенням біогенних амінів. ПАЛФ-залежним ферментом є кінуреніназа, що бере участь у перетворенні триптофану на НАД⁺. Звідси стає зрозумілою причина пелагродірного дерматиту при авітамінізмі В₆. Крім того, ПАЛФ є коферментом амінолевулінатсинтетази, що бере участь у біосинтезі гему, з чим пов'язаний розвиток анемії при авітамінізмі В₆.

Гіповітаміноз

Характерною ознакою дефіциту в організмі вітаміну В₆ є розвиток дерматиту, анемії, судом, психічних розладів. Добова потреба — 2–3 мг.

Ліпоєва кислота

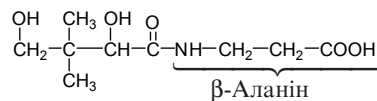
Хімічна структура. За хімічною структурою ліпоєва кислота — похідне валеріанової кислоти, що може існувати у двох формах:



Коферментні функції. Ліпоєва кислота виконує свої коферментні функції завдяки тому, що може існувати у відновленій і окисненій формах. Так, ліпоєва кислота разом з іншими коферментами входить до складу піруватдегідрогеназного й α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексів, тобто є коферментом даних ферментів, беручи участь в окисному декарбоксилюванні α -кетокислот. Ліпоєва кислота функціонально дуже тісно пов'язана з тіамінопірофосфатом, і якщо врахувати, що у комплексах дегідрогеназ кетокислот ТПФ передає ацетильний залишок на ліпоєву кислоту, то дефіцит ліпоєвої кислоти спричинить і порушення функції тіамінопірофосфату. Ліпоєва кислота має низький редокс-потенціал, тому її введення захищає сульфгідрильні групи біологічно активних сполук від окиснення (зокрема антиоксидантних систем). Оскільки ліпоєва кислота має дифільні властивості, вона може виконувати функцію як ліпофільного, так і гідрофільного антиоксиданта.

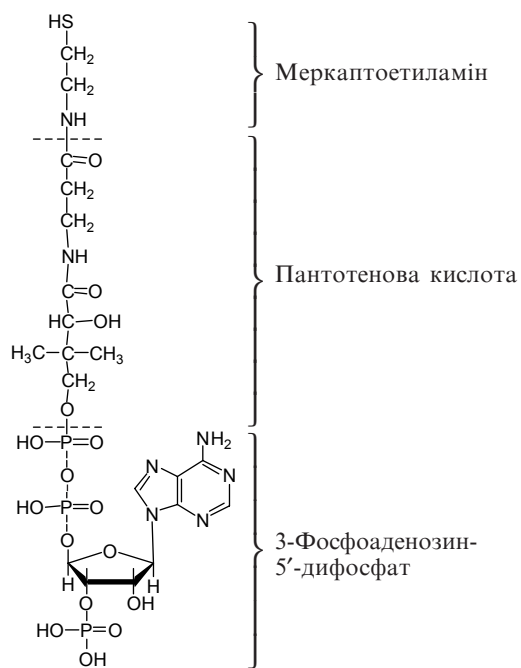
Пантотенова кислота (вітамін В₃)

Хімічна структура. За хімічною природою пантотенова кислота — це сполука β -аланіну з похідним масляної (бутанової) кислоти:



Похідне масляної кислоти

Коферментні функції. Пантотенова кислота міститься у складі коферменту А або коензиму А (КоА). Цей кофермент входить до складу піруватдегідрогеназного й α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексів, тобто бере участь в окисному декарбоксилюванні піровиноградної й α -кетоглутарової кислот. Крім цього, КоА входить до складу ферментів, що каталізують як активацію, так і перенос ацетильного радикала ($\text{CH}_3\text{-C}^{\text{O}}\text{-S-CoA}$), а також активацію і перенос інших кислотних залишків (ацилів).



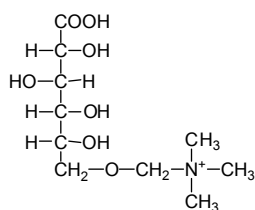
Коензим А

Отже, КоА бере участь у фундаментальних біохімічних процесах: окисне декарбоксилювання α -кетокислот, окиснення і біосинтез вищих жирних кислот, цикл трикарбонних кислот, біосинтез ліпідів, стероїдних гормонів, гемоглобіну, ацетилхоліну і т. ін. Добова потреба — 7–12 мг.

Вітамін В₁₅ (пангамова кислота)

Хімічна структура. Пангамова кислота — складний ефір глюконової та метильованої аміноцтової кислот.

Донатор метильних груп для утворення метил-ТГФК, яка через етап метил-кобаламіну бере участь у біосинтезі метіоніну з гомоцистеїну (останній у формі S-аденозилметіоніну забезпечує процеси метилування). Міститься у печінці, дріжджах. Ефективний при жировій дистрофії печінки, гіпоксіїх.



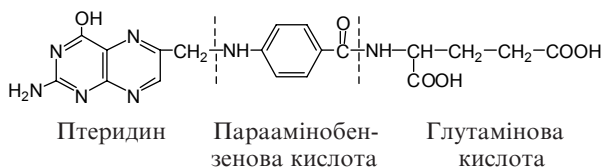
Пангамова кислота

Біологічна дія. Пангамова кислота містить метильні групи, які можуть використовуватися при синтезі метіоніну, холіну, креатину й ін.

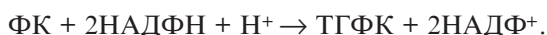
Відомо, що вітамін В₁₅ стимулює енергетичний обмін клітини, активуючи ферменти піруват- і сукцинатдегідрогеназу, а це сприяє біосинтезу АТФ. У вигляді кальцієвої солі використовується в клініці. Гіповітаміноз досліджений недостатньо. Добова потреба не встановлена.

Фолієва (птероїлглутамінова) кислота

Хімічна структура. Фолієва кислота складається із залишків птеридину, параамінобензенової та глютамінової кислот:



Коферментні функції. Фолієва кислота утворює ряд біологічно активних сполук. Так, під дією редуктаз, що містять відновлений НАДФ, вона перетворюється на кофермент — тетрагідрофолієву кислоту (ТГФК):



Відновлення ФК до ТГФК полягає у приєднанні чотирьох атомів Гідрогену в положеннях 5, 6, 7, 8. ТГФК як кофермент входить до складу ферментів, що каталізують перенос одновуглецевих фрагментів (наприклад, метильних груп (-CH₃), гідроксиметильних груп (-CH₂-OH), формільних груп та ін.). Приєднання цих фрагментів до ТГФК є ферментативною реакцією ковалентного зв'язування їх із 5-им або 10-им атомом Нітрогену або з обома атомами разом.

Метил-ТГФК є донором метильних груп для біосинтезу метіоніну з гомоцистеїну. Метіонін є донором метильних груп для синтезу холіну, тиміну з урацилу, креатину, адреналіну.

Гідроксиметил-ТГФК є донором оксиметильних груп для синтезу серину з гліцину.

Форміл-ТГФК є донором формільних груп для біосинтезу пуринових нуклеотидів і т. ін. Наведені дані свідчать про винятково важливу роль фолієвої кислоти в обміні нуклеїнових кислот і білків.

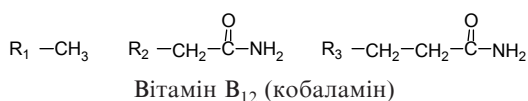
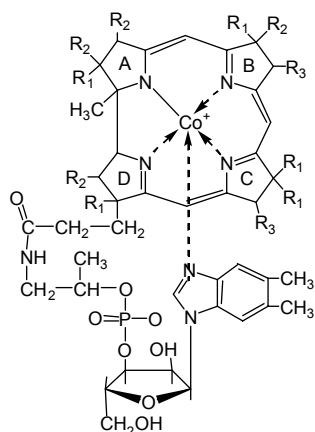
Гіповітаміноз пов'язаний з порушенням ендогенного синтезу мікрофлорою кишечника і всмоктування внаслідок гіпоацидних гастритів і ентеритів, прийому сульфамідів, антибіотиків, через що розвиваються макроцитарні, гіпохромні й гіпопластичні анемії, агранулоцитоз, тромбоцитопенія.

Токсичність великих доз фолієвої кислоти вища, ніж інших вітамінів групи В. Так, розвиток алергічних реакцій пов'язаний з участю ТГФК в утворенні гістаміну з гістидину. Диспептичні явища пов'язані з активацією мікрофлори кишечника. Стимуляція росту пухлин пов'язана з участю ТГФК в обміні нуклеотидів, який у пухлинах є посиленням.

Добова потреба — 0,5 мг. Фолієва кислота міститься у листі салату, петрушки, кропу, може синтезуватися мікрофлорою кишечника, іншими мікроорганізмами тільки у разі наявності ПАБК. Глутамінова кислота, сполучаючись із фолієвою кислотою, затримує всмоктування надлишку її у ШКТ.

Вітамін В₁₂ (кориноїди, антианемічний вітамін)

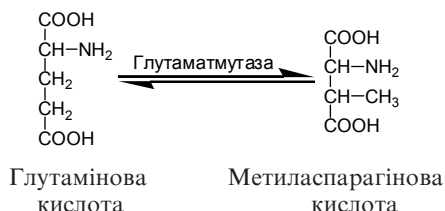
Хімічна структура. Молекула вітаміну В₁₂ складається з хромофорної та нуклеотидної частин, хромофорна частина — з чотирьох пірольних кілець, з якими зв'язані метильні групи, залишки амідів оцтової й пропіонової кислот. У центрі хромофорної частини перебуває атом Кобальту, одна з валентностей якого заповнена однією з таких груп: із ціаногрупою — *ціанкобаламін*, гідроксигрупою — *гідроксибаламін*, нітрогрупою — *нітрокобаламін*, метильною групою — *метилкобаламін*. Нуклеотидна частина складається з 5,6-диметилбензімідазолу, залишків рибози і фосфорної кислоти.



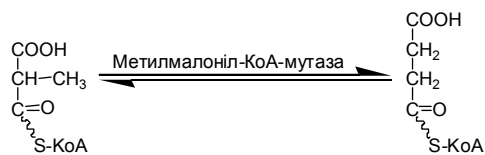
Коферментні функції. З вітаміну В₁₂ утворюються так звані В₁₂-коферменти (кобамідні коферменти) — метилкобаламін і дезоксиаденозилкобаламін.

1. Метилкобаламін входить до складу ферменту, що каталізує перенос метильної групи від метил-ТГФК на гомоцистеїн з утворенням метіоніну.

2. Дезоксиаденозилкобаламін є коферментом ферментів, що каталізують реакції ізомеризації карбонових кислот (наприклад, глутаматмутази, метилмалоніл-КоА-мутази та ін.). Глутаматмутаза каталізує оборотне перетворення глутамінової кислоти на метиласпарагінову:



Метилмалоніл-КоА-мутаза каталізує взаємоперетворення метилмалоніл-КоА на сукциніл-КоА: у такий спосіб амінокислоти з розгалуженим ланцюгом (валін, лейцин, ізолейцин) і жирні кислоти з непарною кількістю атомів Карбону включаються в біоенергетику.



Метилмалоніл-КоА

Сукциніл-КоА

Крім цього, дезоксиаденозилкобаламін входить до складу ферментів, що каталізують перетворення (відновлення) рибонуклеотидів до дезоксирибонуклеотидів шляхом відновлення рибози до дезоксирибози.

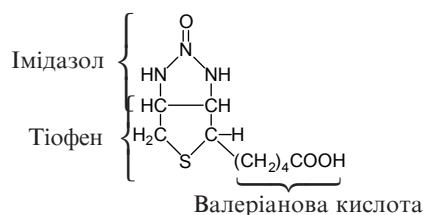
Існує тісний зв'язок між функціями пангамової кислоти, фолієвої кислоти та вітаміну В₁₂. Пангамова кислота, маючи у своїй структурі три метильні групи, є донатором метильних груп для фолієвої кислоти, перетворюючи її на метил-ТГФК, що, в свою чергу, передає метильну групу на вітамін В₁₂. Метилкобаламін бере участь у метилюванні гомоцистеїну і перетворенні його на метіонін, а метіонін у формі S-аденозилметіоніну безпосередньо бере участь у численних реакціях трансметильовання.

Гіповітаміноз пов'язаний з порушенням синтезу гему (сукциніл-КоА) і утворенням ДНК у клітинах кровотворних органів, проявляється як злаякісна перніціозна анемія Аддісона — Бірмера, а також у вигляді глоситу («полірований язик») і виникає при гіпоацидних захворюваннях шлунка.

Добова потреба при парентеральному введенні — 10 мкг, при ентеральному — 2–5 мкг. Потрапляючи в шлунок, вітамін В₁₂ з'єднується з білком транскорином (внутрішній фактор Касла) з утворенням комплексу, з якого мікроорганізми кишечника не можуть асимілювати вітамін В₁₂, він всмоктується в кров і депонується в печінці. Вітамін В₁₂ — єдиний вітамін, синтез якого здійснюється винятково мікроорганізмами. Органом, багатим на вітамін В₁₂, є печінка. Оскільки його всмоктування залежить від наявності транскорину, що синтезується залозами слизової оболонки шлунка, при його захворюваннях (гастрити, післяопераційні стани) порушується надходження вітаміну В₁₂ з продуктами харчування, тому єдиним шляхом його введення в організм є парентеральний.

Біотин (вітамін Н)

Хімічна структура. Молекула біотину складається з імідазолу, тіофену й валеріанової кислоти:



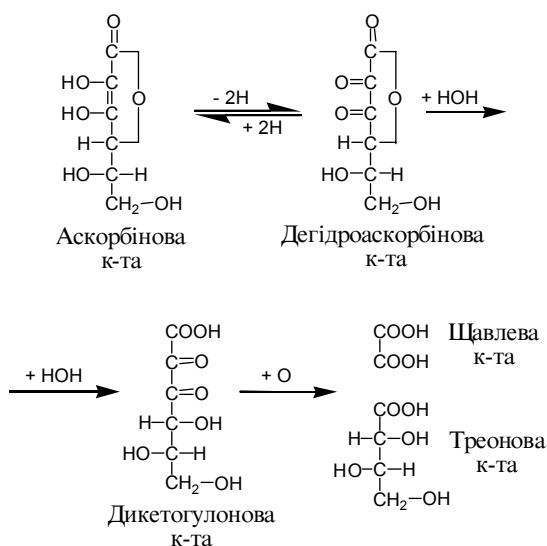
Коферментні функції. Біотин є простетичною групою ферментів, що каталізують реакції кар-

боксильовання. Наприклад, він необхідний як кофермент для утворення малоніл-КоА з ацетил-КоА і CO_2 у процесі біосинтезу вищих жирних кислот (ацетил-КоА-карбоксілаза), утворення оксалоацетату з пірувату, для синтезу пуринових нуклеотидів та ін. Біотин синтезується мікрофлорою кишечника, міститься в багатьох продуктах, але найбільше його в яєчному жовтку. Слід зазначити, що в яєчному білку міститься білок авідин, що затримує всмоктування біотину в кишечнику.

Гіповітаміноз — дерматити, спричинені дисбактеріозом кишечника й надлишковим споживанням сирого яєчного білка. Добова потреба — 150–300 мкг.

Вітамін С (аскорбінова кислота, антискорбутний вітамін)

Хімічна структура. Аскорбінова кислота (АК) близька за структурою до гексоз і являє собою лактон діенолгулонової кислоти:



Вона може окиснюватися, віддаючи два атоми Гідрогену, перетворюючись на дегідроаскорбінову кислоту. Подальше окиснення дегідроаскорбінової кислоти приводить до утворення треонової та щавлевої кислот.

Біологічна дія. Найважливішою властивістю аскорбінової кислоти є її здатність оборотно окиснюватися в дегідроаскорбінову. З огляду на особливості структури, аскорбінова кислота бере участь у реакціях гідроксильовання, підтримуючи у відновленій формі іон Феруму, що входить до структури гідроксилаз, і тим самим сприяє перетворенню проліну на гідроксипролін і лізину на гідроксилізин (синтез колагену) за участю ферментів пролінгідроксилази і лізингідроксилази, синтезу стероїдних гормонів, катехоламінів, інших біогенних амінів, а також знешкоджує токсичні речовини і має антиоксидантну дію. Під її впливом посилюється метаболізм глюкози (син-

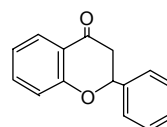
тез глікогену, гліколіз, пентозофосфатний шлях). Вважають, що АК знижує потребу в інших вітамінах, бере участь у перетворенні фолієвої кислоти на ТГФК. Імовірно, АК посилює антигіалуронатліазну активність біофлавоноїдів. Також вітамін С сприяє синтезу глікогену в печінці, біосинтезу ДНК, білків, у тому числі й імуноглобулінів.

Гіповітаміноз (цинга). У цьому випадку синтез колагену порушений на стадії гідроксильовання пролінових і лізинових залишків. У результаті неповного гідроксильовання пептидних ланцюгів утворюються менш стабільні та міцні колагенові волокна, з чим пов'язана ламкість кровоносних судин і виникнення множинних точкових крововиливів.

Добова потреба — 50–70 мг. Міститься вітамін С у свіжих овочах і фруктах, особливо в цитрусових. Багаті на вітамін С шипшина, хвоя, листя чорної смородини, чай. Раніше вважали, що для стимуляції імунної системи, посилення антиоксидантної системи необхідно вводити великі дози вітаміну С (700–1000 мг на добу), але введення в організм гіпердоз вітаміну С призводить до того, що він з антиоксиданту перетворюється на прооксидант. Також розпад вітаміну С призводить до нагромадження ксенобіотиків (щавлева кислота).

Вітамін Р (флавіон, цитрин, рутин, біофлавоноїди, вітамін проникності)

Хімічна структура. Р-вітамінну активність має група речовин — похідних флавону, що підвищують резистентність капілярів. Із них найважливішим є цитрин (гесперидин), рутин і катехін. Цитрин виділений із цитрусових, рутин — із листя гречки, катехін — із листя чаю.



Флавіон

Біологічна дія. Основна біологічна дія — зниження проникності кровоносних капілярів. Біофлавоноїди стабілізують основну речовину сполучної тканини (у тому числі й стінки кровоносних капілярів) шляхом інгібування ферменту гіалуронатліази, охороняючи тим самим від руйнування гіалуронову кислоту, необхідну для зміцнення стінок судин. Існує тісний взаємозв'язок між вітамінами Р і С. Вітамін Р бере участь у відновленні дегідроаскорбінової кислоти і збереженні її тканинних резервів. Вважають, що вітамін С посилює антигіалуронатліазну активність біофлавоноїдів.

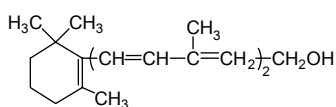
Гіповітаміноз — підвищується проникність кровоносних судин, що супроводжується крововиливами й кровотечами. Добова потреба — 25–50 мг.

16.4. ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ, АНТИОКСИДАНТИ

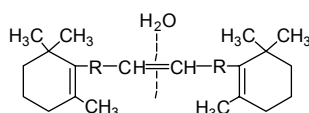
Характерною властивістю цієї групи вітамінів є їхня гідрофобність, спричинена довгими вуглеводневими радикалами. Вони добре розчиняються в жирах, їхнє всмоктування залежить від перетравлювання жирів у ШКТ.

Вітамін А (каротиноїди, антиксерофтальмічний фактор)

Хімічна структура. Відомі дві природні форми вітаміну А — вітамін А₁ (ретинол) і вітамін А₂ (дегідроретинол). Обидві форми мають однакову біологічну дію, тільки вітамін А₂ менш активний.



Вітамін А₁ (ретинол)



β-Каротин

У моркві міститься провітамін β-каротин, що гідролізується в слизовій оболонці кишечника на 2 молекули вітаміну А₁.

Біологічна дія. Біологічно активними формами вітаміну А є вітамін А-спирт (ретинол), вітамін А-альдегід (ретиноаль) і вітамін А-кислота (ретиноева кислота). Вітамін А-спирт у вигляді ефірів із жирними кислотами є основним резервом вітаміну А в тканинах. Вітамін А-альдегід необхідний для утворення родопсину, вітамін А-кислота — для нормального росту тканин і деяких інших процесів. У печінці вітамін А зберігається як ефір у ліпоцитах, можливо, як комплекс ліпоглікопротеїну. Для транспортування в тканині ефір гідролізується, ретинол зв'язується з апопротеїном зв'язуючим білком (*retinol binding protein* — RBP). Результуючий холо-RBP входить в апарат Гольджі й секретується в плазму. У клітині ретинол зв'язується з клітинним ретинолзв'язуючим білком (*cellular retinol binding protein* — CRBP).

Ретинол окиснюється до ретиноевої кислоти, яка зв'язується з рецепторами ядра. Активовані ретиноевою кислотою рецептори стимулюють синтез певних генів, відповідальних за ріст і диференціювання клітин ембріона й організму, що розвивається, поділ і диференціювання швидко проліферуючих тканин (хрящ, кісткова тканина, епітелій шкірних покривів і слизової оболонки, сперматогенний епітелій).

Різні форми вітаміну А (ретиноаль, ретинол, ретиноева кислота і їх ефірні похідні) регулюють такі процеси:

1. Нормальний ріст і диференціювання клітин організму, що розвивається (ембріона, молодого організму).

2. Регуляція поділу і диференціювання швидко проліферуючих тканин хряща, кісткової тканини, епітелію шкіри і слизових оболонок.

3. Участь у фотохімічному акті зору.

4. β-Каротин є антиоксидантом — пасткою для пероксидних радикалів у тканинах при низькому парціальному тиску кисню (при високих концентраціях кисню ефективний вітамін Е).

Однією з найважливіших функцій вітаміну А є його участь в утворенні складного білка родопсину, або зорового пурпуру — сітківки ока. У людини вона містить рецепторні клітини двох типів — палички й колбочки. Палички відрізняються більшою світлочутливістю. Всього п'яти квантів світла досить, щоб викликати нервовий імпульс. Палички призначені для зору при малій освітленості, вони дають чорно-білу картину. Колбочки забезпечують кольоровий зір. Палички містять зоровий пігмент родопсин, а колбочки — йодопсин. Вони є складними білками, що складаються з 11-цис-ретиноалу й опсину. Проте за будовою білкової частини родопсин і йодопсин розрізняються. Речовиною, що сприймає світло в паличках сітківки, є родопсин. Це складний білок, що містить як простетичну групу вітамін А — цис-ретиноаль, пов'язаний з ліпопротеїном опсином. При надходженні кванта світла на сітківку відбувається ізомеризація цис-ретиноалу в транс-ретиноаль за рахунок енергії поглинутого світла. Внаслідок цього втрачається відповідність між структурами ретиноалу і центру зв'язування його на опсині — білковій частині родопсину, що призводить до дисоціації родопсину на опсин і транс-ретиноаль. Внаслідок відщеплення ретиноалу змінюється і конформація опсину, через ряд проміжних сполук він перетворюється на метародопсин II, що сприяє закриттю Na⁺-каналів дисків паличок, їхній гіперполяризації й виникненню нервового імпульсу. Родопсин міститься в мембранних структурах — дисках, що заповнюють зовнішній сегмент палички. Утворення родопсину — складний процес, який перебігає за участю кількох ферментів (рис. 16.4).

Під впливом ферменту алкогольдегідрогенази (кофермент НАД⁺) транс-ретиноаль відновлюється до транс-ретинолу, що під дією ферменту ретинолізомерази переходить у цис-ретинол. Потім під дією ферменту алкогольдегідрогенази цис-ретинол окиснюється до цис-ретиноалу, що утворює разом із білком опсином родопсин. Частково ізомеризуватися в цис-ретиноаль може і транс-ретиноаль під дією сонячного світла.

При відщепленні ретиноалу від родопсину частина його руйнується, тому для ресинтезу молекули родопсину потрібні нові молекули вітаміну А. Якщо їх немає, то утворення родопсину загальмовується. Крім участі у світловідчутті, вітамін А стимулює ріст і диференціацію клітин через транс-ретиноеву кислоту, що утворюється з транс-ретиноалу й активує процеси транскрипції. Вітамін А перешкоджає зроговінню одношарового плоского епітелію і стимулює біосинтез глікопротеїнів, що входять до складу муцинів.

тканини, тобто сприяє переходу Са з крові в кістки і є синергістом кальцитоніну. Вітамін D₃ сприяє також реабсорбції Са в нирках, підвищуючи його концентрацію в крові. Ця регуляція базується на тому, що всмоктування кальцію в тонкому кишечнику відбувається шляхом полегшеної дифузії за участю спеціального кальційзв'язувального білка й активного транспорту за допомогою Са²⁺-Н⁺-АТФази (див. рис. 15.6).

Регуляція синтезу кальцитріолів

Утворення 1,25(ОН)₂D₃ (кальцитріолу) в нирках регулюється за механізмом негативного зворотного зв'язку вмісту Са²⁺ і PO₄³⁻ у плазмі.

Його утворення посилюється паратгормоном: коли рівень Са²⁺ в плазмі низький, то секреція паратгормону збільшується; якщо рівень Са²⁺ в крові високий, то утворюється мало 1,25(ОН)₂D₃, нирки продукують 24,25(ОН)₂D₃.

Пролактин підвищує активність 1α-гідроксилази і кількість 1,25(ОН)₂D₃ (кальцитріолу) під час лактації.

Естроген збільшує загальну кількість кальцитріолу, проте цей вплив, очевидно, пов'язаний зі зменшенням секреції його зв'язувального білка без помітної зміни вільного 1,25-дигідроксихолекальциферолу.

Гіпертиреозидизм пов'язаний зі зменшенням циркулюючого кальцитріолу і збільшенням частоти остеопорозу.

Метаболічний ацидоз зменшує утворення кальцитріолу.

Гормон росту кальцитонін стимулює утворення кальцитріолу.

Біороль 1,25-(ОН)₂-кальцитріолу

1,25(ОН)₂D₃ індукує утворення кальційзв'язувального білка і білкових компонентів Са²⁺-АТФази, можливо, дією на генетичний апарат клітин слизової оболонки тонкого кишечника (сприяє синтезу мРНК). Білок бере участь у регуляції процесів всмоктування Са і Р в кишечнику. 1,25(ОН)₂ сприяє резорбції кісткової тканини і реабсорбції Са і Р у ниркових каналах, сприяє утворенню білків родини кальбіндинів D, які є представниками надродини тропоніну С.

Рецептори 1,25(ОН)₂ (холекальциферолу) виявлені в багатьох тканинах.

24,25-дигідроксихолекальциферол сприяє збільшенню вмісту Са в кістковій тканині, забезпечуючи нормальний остеогенез і мінералізацію кістки, менш активний метаболізм.

Гіповітаміноз. При недостатній кількості вітаміну D у дітей розвивається рахіт. При цьому захворюванні в крові знижується концентрація кальцію і фосфору через ослаблення їхнього всмоктування в кишечнику й ослаблення реабсорбції фосфору в нирках, що призводить до демінералізації кісток. Процес починається з розм'якшення і стоншення кісток черепа, особливо в потиличній ділянці (так званий «пергаментний череп»). Для рахіту в дітей характерне розростання й ущільнення сполучної тканини в місцях

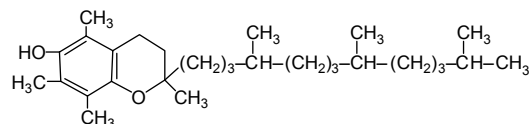
прикріплення ребер («рахітичні чотки») і деформація кісток кінцівок, особливо нижніх, що несуть на собі вагу тіла («шаблеподібні» ноги). Внаслідок зменшення в кістках кількості мінеральних речовин і відносного збільшення кількості органічних речовин кістки стають пористими — настає остеопороз. Кістки втрачають свою міцність, відбувається їхнє розм'якшення — остеомалія. При D-авітамінозі дорослих розвивається остеопороз внаслідок вимивання солей фосфату кальцію, що часто призводить до переломів.

При надлишковому споживанні великих доз вітаміну D можуть виникнути явища *гіпервітамінозу*. При цьому відбувається демінералізація кісток (внаслідок чого можуть виникнути переломи), підвищення концентрації кальцію в крові й сечі (гіперкальціємія, гіперкальціурія), надлишкове відкладення кальцію в нирках, кровоносних судинах, серцевому м'язі, легенях, стінках кишечника й інших органів, що призводить до порушення функції цих органів.

Добова потреба — 12–25 мкг.

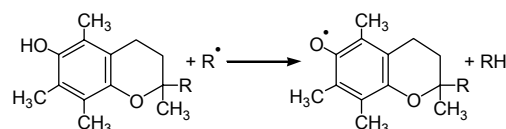
Вітамін Е (токоферол, антистерильний, вітамін розмноження)

Хімічна структура. Е-вітамінну активність мають похідні токолу — α-, β- і γ-токоферолі, вони відрізняються між собою розташуванням метильних груп у бензольному кільці. Найбільш біологічно активним є α-токоферол:



α-Токоферол

Біологічна дія. Найважливіша властивість α-токоферолу — здатність окиснюватися (віддавати електрони) з утворенням малоактивного вільного радикала. Акцепторами електрона можуть бути, зокрема, вільні радикали жирних кислот: відновлюючи їх, α-токоферол перериває ланцюг перекисного окиснення ненасичених жирних кислот. Це так звана антиоксидантна функція вітаміну Е, тобто він захищає організм (клітинні мембрани) від токсичної дії кисню:



Вітамін Е запобігає пероксидним змінам мембран мітохондрій, допомагає переходу фосфатіонів у мітохондрії. Антиоксидантна дія вітаміну Е разом з іншими факторами запобігає пероксидним ефектам O₃, H₂O₂ і NO на мембрану ланцюга дихання, отже, зберігає його від ушкодження. Таким чином збільшується окиснювальне фосфо-

рилування. Крім того, вітамін Е запобігає окисненню білків і ферментів із -SH-групами.

Токоферол запобігають окисненню вітаміну А і каротинів.

Завдяки гідрофобному радикалу вітамін Е чинить мембраностабілізуючий вплив на клітини. Оскільки найбільш уразливими є статеві клітини і клітини крові, то вітамін Е сприяє також розмноженню, зокрема заплідненню і розвитку плода. Існує тісний взаємозв'язок між токоферолом і селеном (селенопротеїни захищають від некрозів), селен є кофактором глутатіонпероксидази.

Похідні токоферолу можуть брати участь у синтезі коензиму Q.

Вітамін Е відіграє певну роль у синтезі нуклеїнових кислот.

Гіповітаміноз. Гіповітаміноз вітаміну Е виявляється порушенням репродуктивної функції, лущенням шкіри, слабкістю й атрофією м'язів. Це пояснюється тим, що при гіповітамінозі, внаслідок посилення перекисного окиснення ліпідів, відбувається uszkodження лізосомальних мембран — вивільнені гідролази руйнують клітину. Патологія мембран тканин при гіповітамінозі Е, очевидно, є причиною різноманіття симптомів захворювання:

— схильність еритроцитів до пероксидного гемолізу;

— атрофія сім'яників (що спричинює безплідність);

— розсмоктування плода при вагітності;

— м'язова дистрофія і втрата внутрішньоклітинних азотних компонентів і білків м'язів;

— некроз печінки;

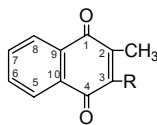
— розм'якшення ділянок мозку, особливо мозочка.

Надмірне споживання продуктів, багатих на токоферол, призводить до посилення вільнорадикального окиснення, руйнування плазматичних і субклітинних мембран, тобто токоферол з антиоксиданта перетворюється на прооксидант.

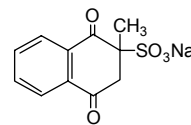
Добова потреба — 10–20 мг. Вітамін Е міститься в маслі, салі. Для всмоктування токоферолу необхідна присутність ліпідів як розчинників і жовчних кислот — як емульгаторів. Всмоктування їх відбувається в тонкому кишечнику шляхом простої дифузії, потім у складі хіломікронів вони транспортуються через лімфатичні шляхи в кров, до органів і тканин. Найбільша кількість токоферолу зосереджується в жировій тканині, печінці й скелетних м'язах.

Вітамін К (філохінон, антигеморагічний, вітамін коагуляції)

Хімічна структура. К-вітамінну активність мають вітаміни K₁ і K₂. Це похідні 2-метил-1,4-нафтохінону. Так, K₁ — це 2-метил-1,4-нафтохінон, з'єднаний із фітильним радикалом у C₃, що має 20 атомів Карбону.



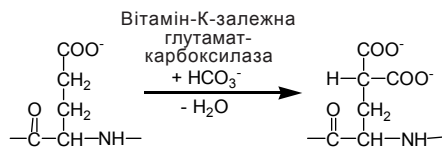
2-Метил-1,4-нафтохінон



Вікасол

Вітамін K₂ також складається з 2-метил-1,4-нафтохінону і бічного вуглеводневого ланцюга, що містить 30 атомів Карбону. У 1942 р. М. М. Шемякін і О. В. Палладін синтезували аналог вітаміну К, розчинний у воді, — вікасол. Це дало можливість використовувати вітамін для парентерального введення.

Біологічна дія. Вітамін К необхідний для нормального утворення білків плазми крові, що беруть участь у згортанні крові (фактори II, VII, IX, X). Щоб активуватися, вони повинні зв'язувати іони кальцію. Їх зв'язує амінокислота — γ-карбоксихлутамінова кислота. Каталізує перетворення (карбоксилювання) залишку глутамату в протромбіні на залишок γ-карбоксихлутамату фермент глутамату карбоксилаза. Для дії цього ферменту необхідний вітамін К — як кофермент. γ-Карбоксилювання білкових факторів коагуляції підвищує їхню спорідненість до іонів Ca²⁺, необхідних для зв'язку з фосфоліпідами мембран і запуску каскаду коагуляції.



Залишок глутамату
в факторах
II, VII, IX, X

Залишок γ-карбоксихлутамату в факторах
II, VII, IX, X

Гіповітаміноз. При дефіциті вітаміну К замість залишків γ-карбоксихлутамату в молекулі протромбіну містяться залишки глутамату. Це призводить до затримки перетворення протромбіну на тромбін та уповільнення згортання крові. Виникають крововиливи, подовжується час згортання крові (норма — 5–7 хв).

Добова потреба — 0,2–0,3 мг. Вітамін К міститься в продуктах рослинного походження (у листі кропиви, люцерни, капусти, шпинату, у кабачках, зелених помідорах, горобині). Із продуктів тваринного походження — тільки в печінці свиней, синтезується мікрофлорою кишечника.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Біохімія харчування людини: компоненти та поживні речовини нормального харчування; біологічна цінність окремих нутрієнтів.

2. Механізми перетворення поживних речовин (білків, вуглеводів, ліпідів) у травному тракті. Ферменти шлунка і кишечника.

3. Порушення перетравлення окремих продуктів харчування у шлунку та кишечника; спадкові ензимопатії процесів травлення.

4. Вітаміни в харчуванні людини. Водорозчинні та жиророзчинні вітаміни; екзогенні й ендогенні причини вітамінної недостатності.

5. Вітамін В₁ (тіамін): будова, біологічні властивості, механізм дії, джерела, добова потреба.

6. Вітамін В₂ (рибофлавін): будова, біологічні властивості, механізм дії, джерела, добова потреба.

7. Вітамін РР (нікотинова кислота, нікотинамід): будова, біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

8. Вітамін В₆ (піридоксин): будова, біологічні властивості, механізм дії, джерела, добова потреба.

9. Вітамін В₁₂ (кобаламін): біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

10. Вітамін В_с (фолієва кислота): біологічні властивості, механізм дії, джерела, добова потреба.

11. Вітамін Н (біотин): біологічні властивості, механізм дії, джерела, добова потреба.

12. Вітамін В₃ (пантотенова кислота): біологічні властивості, механізм дії, джерела, добова потреба.

13. Вітамін С (аскорбінова кислота): будова, біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

14. Вітамін Р (флавоноїди): будова, біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

15. Вітамін А (ретинол, ретиналь, ретиноєва кислота): біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

16. Вітамін К (філохінон, фарнохінон): біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

17. Вітамін Е (α-токоферол): біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

18. Вітамін D₃ (холекальциферол): біологічні властивості, механізм дії, прояви недостатності, джерела, добова потреба.

Глава 17. БІОХІМІЯ ТА ПАТОБІОХІМІЯ КРОВІ

17.1. БІОХІМІЧНИЙ СКЛАД КРОВІ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ: БІЛКИ ГОСТРОЇ ФАЗИ ЗАПАЛЕННЯ, ФЕРМЕНТИ ПЛАЗМИ КРОВІ

Хімічний склад плазми крові й фізико-хімічні властивості крові

Кров — це внутрішнє середовище організму, що, з одного боку, забезпечує взаємозв'язок усіх органів і тканин організму, а з іншого — взаємозв'язок організму з оточуючим його зовнішнім середовищем. Кількість крові в людини становить близько 5 л (у чоловіків у середньому 5,2 л, у жінок — 3,9 л). Кров складається з *плазми* й зв'язаних у ній *формених елементів* — еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів. На частку плазми при-

падає близько 55 % від об'єму крові. Решта 45 % об'єму крові — формені елементи, із них близько 44 % від загального об'єму крові становлять еритроцити і лише близько 1 % припадає на інші клітини (лейкоцити, тромбоцити) (рис. 17.1). Співвідношення між плазмою крові та її форменими елементами називається *гематокритом*.

У процесі еволюції в хребетних виникли два механізми, що забезпечують постачання клітин киснем. Перший — система кровообігу, другий — поява молекул, що переносять кисень і мають низьку розчинність у водному середовищі.

Еритроцити виконують ключову роль у процесах дихання. Кількість еритроцитів у 1 мм³ крові у чоловіків становить 4,5–5 млн, у жінок — 4–4,5 млн. У жителів високогір'я вміст еритроцитів збільшується майже вдвічі, характеризуючи адаптаційні властивості організму. Еритро-

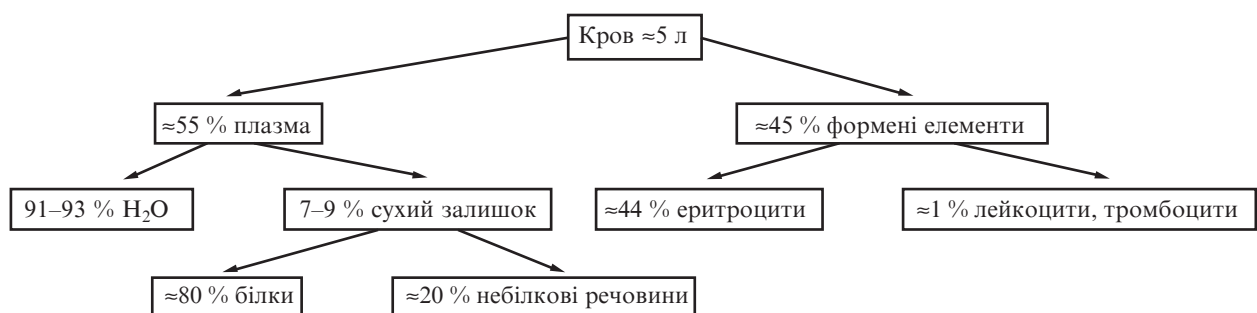


Рис. 17.1. Склад плазми крові

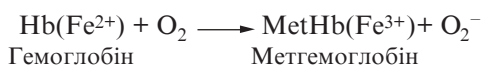
цити — без'ядерні клітини, що містять 57–68 % води і 32–43 % сухого залишку. Основний білок — гемоглобін, це більше 95 % усіх органічних речовин цієї клітини. У кожному еритроциті міститься до 400 млн молекул гемоглобіну. Наявність гемоглобіну значно збільшує здатність крові переносити кисень — від 5 до 250 мл кисню в розрахунку на 1 л крові.

Біохімічні особливості клітин крові

Еритроцити

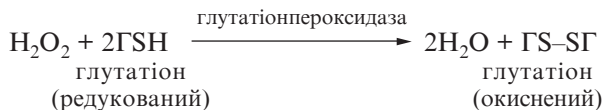
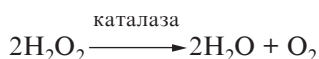
Оскільки в зрілому еритроциті немає ядра, хроматину й апарату трансляції, вони не здатні синтезувати нові білки й адаптуватися до змін факторів середовища. У зрілому еритроциті функціонують тільки ті білки, які утворилися на стадії ретикулоцита або навіть на більш ранніх стадіях його розвитку. Еритроцити не мають мітохондрій, тому АТФ утворюється шляхом анаеробного гліколізу. Вона необхідна для підтримки трансмембранного градієнта іонів Na^+ і K^+ , тому що всередині еритроцита високий вміст K^+ і низький — Na^+ , а в плазмі навпаки. Цей процес здійснює Na^+ , K^+ -АТФаза, високоактивна в мембранах еритроцитів. В еритроцитах приблизно 90 % глюкози розпадається в процесі гліколізу і 10 % — пентозофосфатним шляхом. Продукція НАДФН таким шляхом підтримує цілісність мембран еритроцитів, полегшуючи інактивацію пероксидів ліпідів мембран. Блокада гліколізу — джерела енергії для Na^+ , K^+ -АТФази — вирівнює трансмембранний потенціал і призводить до загибелі еритроцитів.

Концентрація кисню в еритроцитах більша, ніж у клітинах інших тканин, і еритроцити більшою мірою чутливі до його ушкоджуючої дії. Кисень та інші окисники окиснюють гемоглобін у метгемоглобін, в якому залізо тривалентне.

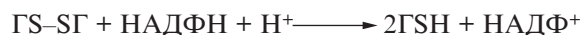


Метгемоглобін не приєднує кисень, тому він не може забезпечити дихання тканин.

Метгемоглобін знову відновлюється в гемоглобін ферментом метгемоглобінредуктазою, що використовує НАДН, тому концентрація метгемоглобіну в крові в нормі невелика. Проте вона може значно підвищуватися при потраплянні в організм деяких речовин (нітрати, нітрити, анілін, нітробензен, деякі ліки або їх метаболіти) — настає метгемоглобінемія. Окиснення гемоглобіну в метгемоглобін (MetHb) киснем спричинює утворення супероксидного аніона (O_2^-). Під дією супероксиддисмутази супероксид перетворюється на H_2O_2 , останній руйнується каталазою, а також глутатіонпероксидазою:



Регенерація відновленого глутатіону відбувається при дії глутатіонредуктази, а донором водню служить НАДФН, що постачається пентозофосфатним шляхом:



Якщо в організм потрапляє велика кількість окиснюючих речовин, системи знешкодження не справляються з усуненням активних форм кисню, може статися гемоліз через ушкодження мембран еритроцитів. Приблизно у 1/20 частини людей знижена активність в еритроцитах глюкозо-6-фосфатдегідрогенази — ферменту пентозофосфатного шляху. Такі люди набагато чутливіші до окисників (зокрема при лікуванні протималарійним препаратом примахіном у них виникає гемоліз).

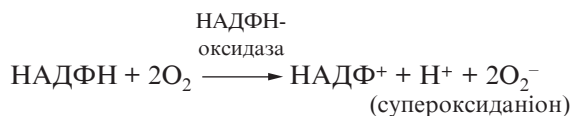
Лейкоцити

У нормі в 1 мікролітрі крові людини міститься 4000–98 000 лейкоцитів. Найчисленнішими з них є гранулоцити (поліморфонуклеарні лейкоцити):

- нейтрофіли — мають нейтрофільні гранули;
- еозинофіли — мають гранули, що забарвлюються кислими барвниками;
- базофіли — мають гранули, що забарвлюються лужними барвниками.

До двох інших клітинних типів належать лімфоцити, які мають велике кругле ядро і невелику цитоплазму, і моноцити з агранулярною цитоплазмою і ядром, форма якого нагадує нирку (рис. 17.2).

Нейтрофіли. Нейтрофіли виконують захисну роль. Вони здатні чинити *антимікробну дію*, а також поглинати і перетравлювати загиблі мікроорганізми, фрагменти ушкоджених клітин. Нейтрофіли виконують одноразовий фагоцитоз, тобто, руйнуючи мікробну клітину, нейтрофіл гине, але при цьому викидає у навколишнє середовище цитокіни, які залучають до фагоцитозу інші імунокомпетентні клітини крові. Нейтрофіли містять різноманітні протеази й антимікробні білки, які називаються дефензимами. У нейтрофілах здійснюється активація мембранозв'язаного ферменту НАДФН-оксидази, що супроводжується утворенням токсичних похідних кисню:



Два O_2^- спонтанно реагують із двома H^+ , утворюючи H_2O_2 , яку каталізує цитоплазматична форма супероксиддисмутази:



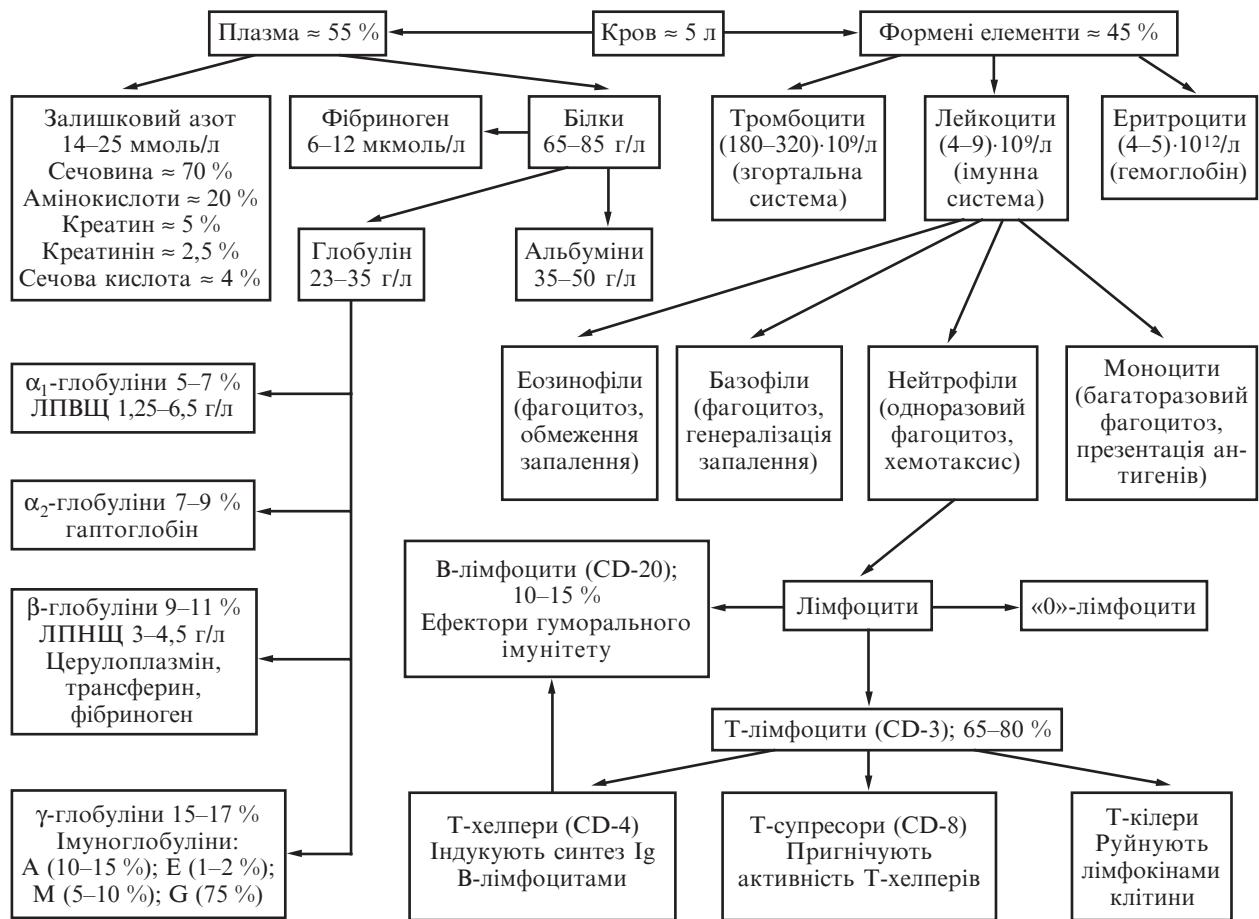


Рис. 17.2. Склад крові та її формених елементів у людини

O_2^- і H_2O_2 є оксидантами зі значною бактерицидною активністю, проте H_2O_2 перетворюється на H_2O ферментом каталазою:



Нейтрофіли містять також фермент *мієлопероксидазу*, яка каталізує перетворення Cl^- , Br^- , I^- , SCN^- на відповідні кислоти ($HOCl$, $HOBr$ та ін.). Ці кислоти є також потенційними оксидантами. Оскільки Cl^- в рідинах організму міститься більше, то головним продуктом буде $HOCl$. Окрім мієлопероксидази і дефензину нейтрофіли містять еластазу, дві металопротеази, які руйнують колаген, і різні протеази, які допомагають знищувати мікроорганізми. Ці ферменти діють разом із O_2^- , H_2O_2 і $HOCl$, які утворюються в результаті дії НАДФН-оксидази і мієлопероксидази. Ще однією особливістю нейтрофілів є наявність великої кількості лізосом, гідролітичних ферментів, які перетравлюють поглинений матеріал. Крім того, нейтрофіли містять лізоцим, лізуючий мікробні клітини. Після спалаху активності нейтрофіли гинуть. Загиблі нейтрофіли становлять основний компонент гною.

Базофіли. Базофіли утворюються в кістковому мозку. Вони беруть участь у:

- алергічних реакціях;
- процесах згортання крові;
- внутрішньосудинному ліполізі.

Базофіли продукують медіатори алергічних реакцій — *гістамін*, *серотонін*, *гепарин*. При розвитку алергії ці речовини виділяються з гранул базофілів і спричиняють місцеву реакцію запалення. Гепарин бере участь в активації ліпопротеїнази і розпаді триацилгліцеролів, також він перешкоджає згортанню крові.

Еозинофіли. Еозинофіли, як і нейтрофіли, виділяють *білки*, *цитокіни*, *хемокіни*, які спричиняють запалення і можуть знищувати мікроорганізми. Еозинофіли беруть участь в алергічних реакціях, тому їх кількість підвищується при сенсibiliзації організму. У клітинах є пероксидаза і набір лізосомальних ферментів, але відсутній лізоцим. Еозинофіли здатні накопичувати й інактивувати гістамін. У них міститься профібринолізин, який бере участь у процесі «розчинення» тромбу, і ферменти, що інактивують брадикініни, кінінази. Еозинофілія виникає при багатьох паразитарних хворобах.

Моноцити. Моноцити надходять у кров із кісткового мозку і циркулюють протягом 72 год. Потім вони потрапляють у тканини і стають тканинними макрофагами. Моноцити здатні до багаторазового фагоцитозу і виявляють антимікробну активність подібно до нейтрофілів. Особливостями обміну речовин (зокрема тими, що визначають їх спеціалізовані функції) моноцити схожі з нейтрофілами. Головна функція моноцитів і утворених із них макрофагів — фагоцитоз.

Лімфоцити

Лімфоцити виконують важливу роль у формуванні імунітету. Після народження частина лімфоцитів утворюється в кістковому мозку, проте значна кількість їх формується в лімфовузлах, тимусі й селезінці з клітин-попередників, що потрапляють до цих органів із кісткового мозку. Спеціалізовані функції лімфоцитів потребують конвеєрного продукування імуноглобулінів, тому особливостями їх є потужний синтез білків і активний гліколіз. Під загальною назвою «лімфоцити» мається на увазі велика кількість різноманітних груп імунокомпетентних клітин.

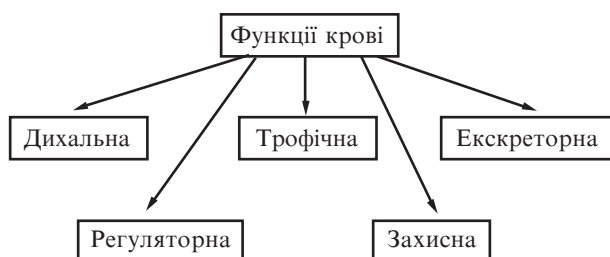
Тромбоцити

Приблизно 60–75 % виділених із кісткового мозку кров'яних пластинок знаходяться в крові, решта — у селезінці. Тромбоцити беруть участь у всіх фазах згортання крові. Вони містять РНК і необхідні компоненти синтезу білка. Утворення АТФ здійснюється в ході гліколізу.

Біохімічні особливості плазми крові

Плазма крові містить близько 91–93 % води і 7–9 % — сухого залишку. Він на 80 % складається з білків, решта 20 % — небілкові речовини плазми крові. Плазма крові, позбавлена фібриногену, називається сироваткою крові.

Функції крові: дихальна, трофічна, видільна (екскреторна), регуляторна, захисна.



Головним складовим компонентом сухого залишку плазми крові є білки.

На частку білків припадає 6,5–8,5 % від загального об'єму крові (65–85 г/л). Методом висолювання нейтральними солями білки плазми крові можна розділити на три групи:

— альбуміни — 35–50 г/л (52–65 % від загального вмісту білків);

— глобуліни — 23–35 г/л (35–48 % від загального вмісту білків);

— фібриноген — 1,5–3,5 г/л.

Коефіцієнт співвідношення між альбумінами й глобулінами А/Г становить 1,5–2,0.

Альбуміни, α -, β -глобуліни і фібриноген синтезуються, головним чином, у печінці (у печінці людини щодня синтезується 10–16 г альбумінів); γ -глобуліни — переважно в кістковому мозку, селезінці й лімфатичних вузлах (ретiculo-ендотеліальній системі).

Фізіологічну роль білків плазми крові ілюструє рис. 17.3:



Рис. 17.3. Фізіологічна роль білків плазми крові

1. Вони підтримують онкотичний тиск крові, отже, її постійний об'єм. Білки, як відомо, є колоїдами, добре зв'язують воду й затримують її, не дозволяючи виходити з кров'яного руслу. Онкотичний тиск крові становить лише 0,02 атм. Попри це, саме він зумовлює переважання осмотичного тиску крові над осмотичним тиском клітинної рідини. У разі відсутності такого переважання вода переходить із крові у тканини, що спричинює набряки. Білки значною мірою визначають в'язкість крові, що в 4–5 разів вище в'язкості води, це забезпечує ламінарність руху крові в судинах.

2. Важливою є транспортна функція білків крові. Вони з'єднуються, наприклад, із жирними кислотами, холестеролом, білірубіном, багатьма гормонами, вітамінами, лікарськими речовинами та ін. і переносяться течією крові в різні органи й тканини.

3. Білки плазми крові відіграють важливу роль у підтримці певної концентрації катіонів у крові. Катіони з білками утворюють сполуки, що не діалізуються. Майже половина Ca^{2+} сироватки крові зв'язана з білками, значна частина Fe, Cu, Mg та інших елементів також пов'язана з білками крові.

4. Білки плазми крові служать резервом амінокислот.

5. Білки плазми крові формують одну з буферних систем крові, тому впливають на підтримку постійного рН крові.

6. Білки плазми беруть участь у згортанні крові, захищаючи організм від крововтрати.

7. Білки плазми крові відіграють важливу роль у функціонуванні гуморального імунітету за рахунок синтезу плазматичними клітинами різних класів імуноглобулінів, компонентів ре-

акції зв'язування комплементу, захищаючи організм від мікроорганізмів.

Білки плазми крові

Залежно від методів виділення й очищення, білки крові можна розділити на 4–5 фракцій (електрофорез на папері), на 14–15 фракцій (електрофорез у ПААГ), на 30–35 фракцій (імуноелектрофорез) (рис. 17.4).

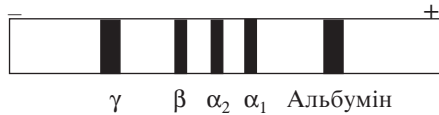


Рис. 17.4. Електрофореграма білків сироватки крові

Альбуміни. Молекулярна маса альбумінів дорівнює близько 69 000 Да. Молекула їх складається з одного поліпептидного ланцюга. Альбуміни добре розчинні у воді, висолюються розчином $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при 80–100 % насичення, мають велику електрофоретичну рухливість. Завдяки високій гідрофільності та значній концентрації в сироватці, альбуміни відіграють важливу роль у підтримці колоїдно-осмотичного тиску крові. Відомо, що 1 г альбумінів може зв'язувати близько 18 мл води; гідратна оболонка, що утворюється навколо них, забезпечує 75–80 % усього онкотичного тиску, зумовленого білками плазми крові. Тому зниження концентрації альбумінів у сироватці крові нижче 30 г/л (наприклад при голодуванні) призводить до значного зниження онкотичного тиску крові й виникнення набряків. Альбуміни виконують транспортну функцію, беручи участь у переносі різних низько- і високомолекулярних сполук: гормонів шитоподібної залози, статевих гормонів, гормонів кори й мозкової речовини надниркових залоз (але кортизол переноситься глобулінами), багатьох вітамінів, холестеролу, жирних кислот, деяких амінокислот, багатьох лікарських речовин, катіонів Ca^{2+} , Cu^{2+} та ін. Загалом за допомогою альбумінів здійснюються зв'язування й транспорт близько 100 різних речовин. Альбуміни виконують також дезінтоксикаційну функцію. Більшість токсичних для організму сполук зв'язуються з альбумінами в комплекси, переносяться в печінку, де ці комплекси розпадаються, токсичні речовини з'єднуються з глюкуроною кислотою, сульфатами, таурином або гліцином і у вигляді нетоксичних кон'югованих (парних) сполук виводяться з організму з сечею. Крім згаданих функцій, альбуміни беруть участь у підтримці сталості рН крові, входячи до складу білкової буферної системи, а також виконують деякі інші функції (резерв амінокислот тощо).

Глобуліни. Молекулярна маса глобулінів у середньому становить 160–180 кДа. Глобуліни розділяють на кілька фракцій. Методом електрофорезу на папері глобуліни плазми крові можна розділити на 4 фракції: α_1 -, α_2 -, β - і γ -глобуліни. α_1 -Глобуліни — це білки, зв'язані з ліпідами (α -ліпопротеїни, або ЛПВЩ) або з білірубіном; α_2 -глобуліни — це білки, зв'язані з вуглеводами

(глікопротеїни); β -глобуліни — це переважно глікопротеїни: церулоплазмін, трансферин, фібриноген, а також ліпопротеїни (β -ліпопротеїни, або ЛПНЩ); γ -глобуліни — здебільшого антитіла. Глобуліни гірше, ніж альбуміни, розчиняються у воді, висолюються розчином $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при 30–50 % насичення, мають слабшу електрофоретичну рухливість.

Плазмові глікопротеїни. Вміст вуглеводів у плазмових глікопротеїнах досить варіабельний і може становити від 10 % усієї молекули і більше. Основними вуглеводними компонентами їх є гексози (галактоза, маноза), фукоза (6-дезоксигексоза), гексозаміни і сіалові кислоти. До найважливіших плазмових глікопротеїнів належать гаптоглобін, церулоплазмін, трансферин, фібриноген та ін.

Часто кінцевим залишком вуглеводного ланцюга глікопротеїнів є сіалова кислота. Якщо вона відщеплюється нейрамінідазою ендотелію, то такі асіалоглікопротеїни є ознакою «старості» молекул білків. Їх розпізнають рецептори гепатоцитів і видаляють із крові ендцитозом. Таким чином, олігосахариди у структурі білка визначають час життя білків плазми, який сягає від кількох днів до кількох тижнів. Ушкодження тканин цитокінами збільшує утворення білків гострої фази запалення, до яких належать С-реактивний білок, гаптоглобіни, фібриноген, інтерлейкін-6, компонент С-3 комплементу.

Білки гострої фази

Гаптоглобін. Він входить до складу α_2 -глобулінової фракції. Гаптоглобін здатний зв'язувати позаклітинний гемоглобін з утворенням високомолекулярного гаптоглобін-гемоглобінового комплексу, що не проходить крізь мембрану ниркових канальців, тобто не виділяється нирками, але інтенсивно поглинається клітинами ретикуло-ендотеліальної системи. Цим він запобігає втраті організмом заліза, що входить до складу гемоглобіну.

Церулоплазмін. Він входить до складу Купруму β -глобулінової фракції. Кожна його молекула містить 8 Cu^{2+} . Церулоплазмін є купрумвмісною фероксидазою, яка підтримує Ферум у (Fe^{3+}) формі, що може зв'язуватися з феритином і використовуватися для синтезу гемоглобіну і цитохромів. Ослаблення синтезу церулоплазміну призводить до нагромадження міді у сполучній тканині й розвитку гепатоцеребральної дегенерації (хвороби Вільсона). Вважають, що церулоплазмін формує неспецифічну гуморальну антиоксидантну систему.

Трансферин. При електрофорезі він перемищається в складі β -глобулінів. Кожна його білкова молекула може зв'язувати два йони Fe^{3+} . Вміст заліза в трансферині становить близько 0,1 % його загальної кількості в організмі. Трансферин здійснює транспорт заліза до клітин, де відбувається синтез гемоглобіну, міоглобіну, цитохромів й інших ферумвмісних білків.

Фібриноген. Він належить до глікопротеїнів, молекулярна маса — 330 000–340 000, входить до складу β -глобулінової фракції. Молекула

фібриногену містить 6 поліпептидних ланцюгів, являє собою димер, що складається з трьох пар поліпептидних ланцюгів, зв'язаних дисульфідними зв'язками. Фібриноген бере участь у згортанні крові.

Крім згаданих білків у плазмі крові циркулюють також інші білки, наприклад, гормони (інсулін, гонадотропні та тиреотропні гормони гіпофіза), фактори гемостазу, ферменти та ін.

При деяких захворюваннях відбувається зміна загальної кількості білків плазми крові або процентного співвідношення окремих білкових фракцій, інколи з'являються білки, відсутні в плазмі крові здорової людини.

Збільшення загального вмісту білків плазми дістало назву *гіперпротеїнемія*. Цей стан спостерігається при блюванні, значних опіках, нецукровому діабеті, холері та інших станах, коли відбувається втрата води організмом, отже, зменшення її у плазмі крові. Найчастіше гіперпротеїнемія є наслідком гіпергаммаглобулінемії.

Зменшення загальної кількості білка в плазмі крові дістало назву *гіпопротеїнемія*. При цьому найчастіше зменшується вміст альбумінів. Цей стан буває при голодуванні, нефритах (запалення ниркових клубочків), коли альбуміни у великих кількостях виводяться з організму з сечею, при захворюваннях через ослаблення біосинтезу альбумінів і при інших захворюваннях.

Стан, при якому загальний зміст білків у плазмі крові залишається в межах норми, але змінюється процентне співвідношення окремих фракцій, називається *диспротеїнемією*. Поява в плазмі крові так званих «патологічних» білків, яких немає у здорової людини, називається *парапротеїнемією*. До таких білків належить, наприклад, С-реактивний білок. Він з'являється в крові хворих на ревматизм, при інфаркті міокарда, при стрептококовій інфекції та інших захворюваннях, що характеризуються активними процесами запалення і некрозу. З переходом захворювання в хронічну стадію С-реактивний білок зникає.

17.2. НЕБІЛКОВІ АЗОТОВМІСНІ ТА БЕЗАЗОТИСТІ ОРГАНІЧНІ КОМПОНЕНТИ КРОВІ. ЛІПОПРОТЕЇНИ ПЛАЗМИ КРОВІ

Небілкові речовини плазми крові

На їхню частку припадає близько 20 % сухого залишку плазми крові. Небілкові речовини плазми крові діляться на 2 групи: азотовмісні та безазотисті.

Азотовмісні небілкові речовини плазми крові

Якщо осадити білки плазми або сироватки крові, то у фільтраті залишається ще деяка кількість азотовмісних речовин, що визначається

кількістю небілкового або залишкового азоту. У нормі вона становить 20–40 мг азоту на 100 мл плазми, тобто 0,2–0,4 г/л, або 15–25 ммоль/л у суцільній крові, або 14,3–21,4 ммоль/л у плазмі крові. Небілковий, або *залишковий азот* включає азот проміжних і кінцевих продуктів білкового обміну: сечовини, амінокислот, сечової кислоти, креатину, креатиніну та ін.

Сечовина становить 60–70 % усієї його кількості — 2,5–8,3 ммоль/л. Сечовина у 18 разів менш токсична, ніж інші азотисті речовини крові. *Амінокислоти* становлять близько 20 % від загальної кількості небілкового азоту, або 2,9–4,3 ммоль/л у плазмі. Частина з них екзогенного походження, тобто потрапляють у кров із шлунково-кишкового тракту, а частина утворюється в результаті розпаду білків тканин. Майже п'яту частину амінокислот, що містяться в плазмі, становить глутамінова кислота, *сечова кислота* — близько 4 % від загальної кількості залишкового азоту. Це кінцевий продукт обміну пуринових основ, тобто аденіну й гуаніну. У нормі її кількість у плазмі становить 0,24–0,29 ммоль/л. Рівень її підвищується в крові при посиленому розпаді нуклеїнових кислот.

Креатин становить близько 5 % від загальної кількості залишкового азоту. У нормі його кількість у плазмі 0,08–0,11 ммоль/л. Вміст його підвищується при розпаді тканинних білків, при ослабленні перетворення креатину на креатинфосфат і креатинін. *Креатинін* становить близько 2,5 % від загальної кількості небілкового азоту. Концентрація його в плазмі — 0,06–0,076 ммоль/л.

У крові також є білірубін, індикан, гіпурова кислота, пептиди, нуклеотиди та інші небілкові азотовмісні сполуки. Підвищення кількості небілкового азоту в крові дістало назву *азотемія*.

Залежно від факторів, що її спричинили, азотемія поділяється на *ретенційну* і *продукційну*. Ретенційна азотемія настає в результаті недостатнього виділення з сечею азотовмісних речовин при нормальному надходженні їх у кров'яне русло. Вона, у свою чергу, може бути нирковою і позанирковою. При нирковій ретенційній азотемії концентрація залишкового азоту в крові збільшується внаслідок ослаблення видільної (екскреторної, очисної) функції нирок. Позаниркова ретенційна азотемія може виникнути в результаті недостатності кровообігу, зниження артеріального тиску і зменшення ниркового кровотоку, а також може бути результатом наявності перешкоди відтоку сечі після її утворення в нирках.

Продукційна азотемія спостерігається при надлишковому надходженні азотовмісних продуктів у кров через посилений розпад тканинних білків. Печінка має великі функціональні резерви. Її здатність до дезамінування і синтезу сечовини зберігається при виключенні з обміну до 85 % її тканини. Тому синтез сечовини порушується при дуже тяжких ураженнях печінки (некрозі, комі, цирозах, отруєннях).

До цієї групи входять вуглеводи, жири, мінеральні речовини та ін. З вуглеводів у плазмі крові містяться глікоген, глюкоза, галактоза, фруктоза тощо. У нормі вміст цукру в плазмі крові людини дорівнює 0,8–1,2 г/л, глюкози — 0,6–1,0 г/л. Концентрація глюкози в плазмі — 3,5–5,7 ммоль/л.

Ліпідів у крові міститься 5–7 г/л, холестеролу — 3–9 моль/л.

Мінеральних речовин в крові загалом близько 10 г/л. Вони відіграють важливу роль у підтримці осмотичного тиску і динамічної сталості рН крові. З катіонів плазми натрій займає провідне місце і становить 93 % від усієї кількості. Серед аніонів слід виділити хлор і бікарбонат. Кількість катіонів і аніонів практично однакова, тобто вся система електронейтральна.

Натрій. Концентрація його в плазмі крові приблизно у 8 разів більша, ніж в еритроцитах. Це головний осмотично активний іон позаклітинного простору.

Концентрація калію в еритроцитах приблизно в 20 разів більша, ніж у плазмі крові.

Плазмові ліпопротеїни

Основна функція плазмових ліпопротеїнів — транспорт ліпідів у організмі, тому вони ще називаються транспортними ліпопротеїнами. Ліпопротеїни мають характерну будову (рис. 17.5).

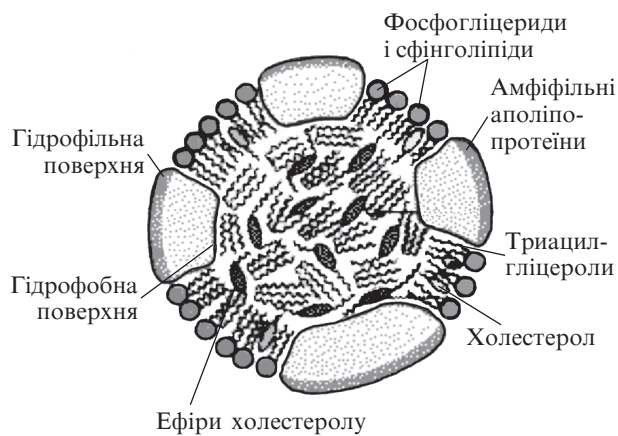


Рис.17.5. Будова ліпопротеїнів плазми крові

Усередині ліпопротеїнової частинки знаходиться жирова крапля (ядро), що складається з триацилгліцеролів і ефірів холестеролу. Жирова крапля оточена оболонкою з фосфоліпідів — фосфоліпідна оболонка. Фосфоліпіди гідрофільними кінцями утворюють зовнішню поверхню, а гідрофобні кінці «розчинені» у ліпідній фазі всередині частинки. Між молекулами фосфоліпідів знаходиться вільний холестерол. Фосфоліпідна оболонка містить білки (периферійні та інтегральні).

За хімічним складом, переміщенням у електричному полі ліпопротеїни розрізняються за щільністю і діляться на кілька груп (табл. 17.1):

1. *α-Ліпопротеїни, або ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ).* При електрофорезі вони

Класифікація ліпопротеїнів

Характеристика	ХМ	ЛПДНЩ	ЛПНЩ	ЛПВЩ
Білок, %	2	10	25	50
Фосфоліпіди, %	5	15	25	30
Холестерол, %	5	15	40	15
Триацилгліцерол, %	85	60	10	5
Транспорт	екзо-ТГ	ендо-ТГ	ХС в клітину	ХС із клітини
Відношення Б/Л	1 : 50	1 : 10	1 : 4	1 : 1
Вміст у крові, г/л	1–2,5	1–1,5	3–4,5	1,5–4

мігрують разом з α_1 -глобулінами. Співвідношення між білковими й ліпідними компонентами в них становить у середньому 1 : 1. Ліпідний компонент представлений переважно фосфоліпідами, а також холестеролом і ефірами холестеролу. Вони забирають холестерол із клітини у вигляді ефірів холестеролу (лецитинхолестеролацилтрансфераза етерифікує холестерол у клітині). Вміст ЛПВЩ у плазмі крові в середньому 1–3 г/л (у чоловіків — 1,25–4,25 г/л; у жінок — 2,5–6,5 г/л).

2. *β-Ліпопротеїни, або ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ).* При електрофорезі вони переміщуються разом із β-глобулінами. Співвідношення між білковим і ліпідним компонентом у них становить у середньому 1 : 4, тобто ЛПНЩ містять значну кількість ліпідів, де домінує холестерол. Вони є транспортною формою холестеролу. Саме тому збільшення в крові β-ліпопротеїнів — одна з ознак нагромадження холестеролу в крові. Вміст ЛПНЩ у плазмі крові дорівнює 2,0–4,0 г/л.

3. *Пре-β-ліпопротеїни, або ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ).* При електрофорезі на папері розташовуються між α- і β-ліпопротеїнами. Співвідношення між білковим і ліпідним компонентами в них 1 : 10. Крім білка, вони містять значну кількість холестеролу, ефірів холестеролу і триацилгліцеролів. Вони є транспортною формою ендогенних триацилгліцеролів. Вміст ЛПДНЩ у плазмі крові людини становить 1–1,5 г/л.

4. *Хіломікрони (ХМ).* Вони електрофоретично нерухливі. До їхнього складу входить близько 2 % білків і 98 % ліпідів (1 : 50), з яких 80 % триацилгліцеролів. Вони є транспортною формою ексogenous триацилгліцеролів. Вміст ХМ у плазмі крові людини — 1–2 г/л.

5. *Неетерифіковані жирні кислоти (НЕЖК).* Це комплекс альбумінів із вільними жирними кислотами, який складається на 99 % із білка і 1 % НЕЖК. Незважаючи на низький вміст у цьому комплексі НЕЖК, ним транспортується за добу 50–150 г жирних кислот, окиснення яких може забезпечувати близько половини всіх енерговитрат організму.

Триацилгліцероли, що синтезуються у клітинах кишечника з продуктів перетравлювання, у цих самих клітинах включаються в ліпопротеїни, переважно хіломікрони, а також ЛПДНЩ. Хіломікрони і ЛПДНЩ надходять у лімфатичні капі-

ляри кишечника, потім через лімфатичні судини — в грудну протоку і звідти через яремну вену в загальний кровотік.

Жири, що утворюються в печінці, містяться, головним чином, у ЛПДНЩ, які надходять у кров. У печінці утворюються також ЛПВП. Печінка виділяє в кров 20–50 г жирів на добу.

Хіломікрони і ЛПДНЩ розподіляють по органам і тканинам за добу 70–150 г екзогенних (що надходять з їжею) і ендогенних (синтезованих у печінці) жирів.

В ендотелії капілярів різних органів є фермент ліпопротеїназа, що гідролізує триацилгліцероли ліпопротеїнів, головним чином, у хіломікронах і ЛПДНЩ (де їх багато). Цей фермент має центр зв'язування ліпопротеїнів і каталітичний центр для гідролізу триацилгліцеролів. Продукти гідролізу гліцерол і вищі жирні кислоти надходять у клітини, де можуть окиснюватися або брати участь в інших перетвореннях. Хіломікрони і ЛПДНЩ, поступово звільнюючись від триацилгліцеролів, перетворюються на ЛПНЩ, а також, імовірно, і на ЛПВЩ. Далі ЛПНЩ і ЛПВЩ поглинаються шляхом ендоцитозу клітинами печінки, кишечника, жирової тканини, нирок, надниркових залоз і руйнуються в лізосомах.

Практично всі жири і весь холестерол плазми крові містяться у ліпопротеїнах. У нормі вміст жирів у плазмі крові людини становить 5–7 г/л, а вміст холестеролу — 3–9 ммоль/л (сума вільного й етерифікованого). У здорових людей через 10–12 год після їди відсутні хіломікрони і виявляються ЛПВЩ (25 %), ЛПНЩ (60 %) і ЛПДНЩ (15 % від усіх ліпопротеїнів).

Гіперліпопротеїнемія

Підвищення вмісту ліпопротеїнів у крові дістало назву гіперліпопротеїнемія. При цьому може одночасно підвищуватися вміст холестеролу і жирів або ж концентрація одного з цих компонентів зростає більшою мірою, ніж іншого. У зв'язку з цим розрізняють ліпопротеїнемії (табл. 17.2):

1. Гіперхіломікронемія:
 - значно підвищені ХМ;
 - трохи підвищені ЛПДНЩ;
 - знижені ЛПНЩ і ЛПВЩ.
2. Гіпербеталіпопротеїнемія:
 - збільшені ЛПНЩ і ХС, а ТГ не змінені;
 - збільшені ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ТГ і ХС.

3. «Флотуюча» дисбеталіпопротеїнемія:

- збільшені ЛПДНЩ із підвищенням вмісту ХС.

4. Гіперпребеталіпопротеїнемія:

— збільшені ЛПДНЩ і ТГ, ХС не змінений.

5. Гіперпребеталіпопротеїнемія і гіперхіломікронемія:

— збільшені ЛПДНЩ і ХМ, знижені ЛПНЩ і ЛПВЩ.

Вторинні гіперліпопротеїнемії — звичайне явище при таких хронічних захворюваннях, як цукровий діабет, нефрози, гепатити, хронічний алкоголізм.

17.3. ДИХАЛЬНА ФУНКЦІЯ ЕРИТРОЦИТІВ. КИСЛОТНО-ОСНОВНИЙ СТАН, БУФЕРНІ СИСТЕМИ КРОВІ

Осмотичний тиск

Важливими фізико-хімічними показниками крові є концентрація іонів Гідрогену (реакція крові рН) і осмотичний тиск. При температурі тіла 37 °С осмотичний тиск плазми крові становить приблизно 7,6–8,0 атм. Він зумовлений наявністю в плазмі крові різних молекул, іонів і колоїдних частинок. В основному ця величина визначається NaCl, концентрація якого в плазмі крові становить 6 г/л, й іншими низькомолекулярними речовинами. Дуже незначна частина осмотичного тиску зумовлена білками плазми крові, переважно альбумінами. Ця частина становить приблизно 0,02 атм і називається колоїдно-осмотичним (онкотичним) тиском. Незважаючи на малий вклад білків у формування осмотичного тиску, зменшення вмісту білків у крові (гіпопротеїнемія) призводить до набряків, що спостерігається при голодуванні, порушенні білоксинтезувальної функції печінки. Постійна величина осмотичного тиску підтримується здебільшого процесами сечовиділення, тому що з сечею і потом виділяється основна маса води і солей.

Буферні системи крові

Реакція крові людини слаболужна, її рН=7,36. Межі фізіологічних коливань рН крові станов-

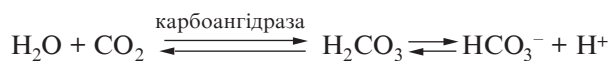
Таблиця 17.2

Класифікація гіперліпопротеїнемії Фредриксона (ВООЗ)

Тип ГЛП	Рівень ліпопротеїнів	Холестерол	Триацилгліцероли	Атерогенність	Частота, %
I	Хіломікрони	Норма	++++	Не доведено	< 1
IIa	ЛПНЩ	++	Норма	+++	10
IIb	ЛПНЩ і ЛПДНЩ	++	++	+++	40
III	ЛППЩ	++	+++	+++	< 1
IV	ЛПДНЩ	N або +	++	+	45
V	ЛПДНЩ і ХМ	++	++++	+	5

лять 0,05–0,07 його значень. В еритроцитах рН дорівнює (7,19±0,02). Динамічну сталість рН крові підтримують буферні системи: бікарбонатна, фосфатна, гемоглобінова і білкова, головною з яких є гемоглобінова буферна система.

Бікарбонатна буферна система. На її частку припадає близько 7–10 % усієї буферної ємності крові.



При рН плазми 7,36 концентрації HCO_3^- і CO_2 знаходяться у співвідношенні 20 : 1.

Прискорене або сповільнене дихання змінює концентрацію CO_2 , що призводить до зміни рН плазми крові (дихальний ацидоз або алкалоз).

Таким чином, легені можуть швидко і дієво впливати на рН плазми без участі систем видалення протонів (нирки).

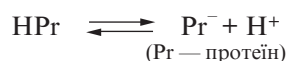
Нирки і легені виконують основну роль у підтримці рН (гомеостаз) міжклітинної рідини в організмі, причому нирки здійснюють активну екскрецію протонів.

Фосфатна буферна система. Вона становить усього лише 1 % буферної ємності крові (у тканинах ця система є однією з головних).

Білкова буферна система. Вона становить близько 15 % буферної ємності крові.

Буферні властивості білків плазми крові пов'язані переважно з вмістом у поліпептидних ланцюгах залишків активно іонізованих амінокислот — моноамінодикарбонових і діаміномонакарбонових.

При зрушенні рН у лужний бік дисоціація основних груп пригнічуться і білок виявляє властивості слабких кислот, дисоціює за схемою:



Гемоглобінова буферна система. Вона становить близько 75 % усієї буферної ємності крові.



У капілярах альвеол вільний гемоглобін приєднує 4 молекули кисню і перетворюється на оксигемоглобін.

Оксигемоглобін у периферичних тканинах, де парціальний тиск кисню значно нижчий, ніж у легенях, віддає кисень клітинам тканин і приєднує два протони, що виникли у клітинах внаслідок дисоціації вугільної кислоти, яка утворилася з діоксиду карбону та води під дією карбоангідрази. У такому вигляді гемоглобін переноситься до легень, де обмінює два протони на 4 молекули кисню, а протони, сполучаючись із бікарбонат-іонами, утворюють вугільну кислоту, яка під дією карбоангідрази у легенях розпадається на воду та діоксид карбону, що виводяться з організму (рис. 17.6).

Капіляри легень

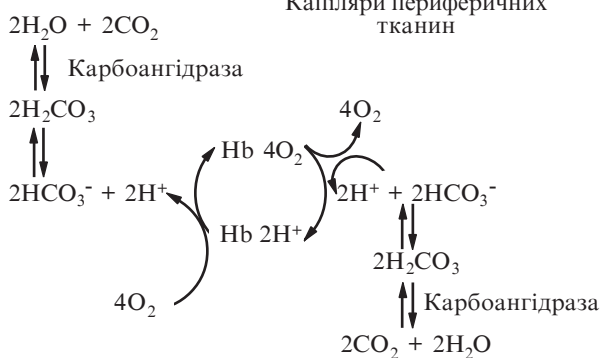


Рис. 17.6. Бікарбонатна і гемоглобінова буферні системи (ефект Бора)

Кислотно-основний баланс

Походження протонів. Існує два джерела протонів — вільні кислоти їжі та сірковмісні амінокислоти білків. Одержані з їжею кислоти (лимонна, аскорбінова, фосфорна) віддають протони в кишковому тракті (при лужній реакції середовища). Найбільший внесок у баланс протонів здійснюють амінокислоти, що утворюються при розщепленні білків. У печінці атоми Сульфуру метіоніну і цистину окиснюються до сульфатної кислоти, яка дисоціює на сульфат-іон і протони.

При анаеробному гліколізі в м'язах і еритроцитах глюкоза перетворюється на молочну кислоту, дисоціація якої приводить до утворення іона лактату і протона. Утворення кетонів тіл у печінці також приводить до вивільнення протонів. Надлишок кетонів тіл (при голодуванні, цукровому діабеті) веде до перевантаження буферної системи плазми і зниження рН (метаболічний ацидоз; молочна кислота — лактацидоз; кетонів тіла — кетоацидоз). У нормальних умовах ці кислоти метаболізуються до CO_2 і H_2O і не впливають на баланс протонів.

Видалення протонів. У нирках протони потрапляють у сечу за рахунок активного обміну на іони Na^+ . При цьому в сечі протони взаємодіють із NH_3 і фосфатом.

Клітини дистального відділу нефрона переносять протони (H^+) з крові в просвіт каналця (у сечу). Секреція йде проти градієнта концентрації, оскільки концентрація протонів у сечі в 1000 разів перевищує їх концентрацію в крові. При цьому з крові в клітини ниркових трубочок дифундує діоксид карбону (CO_2), який у цитоплазмі під дією карбоангідрази перетворюється на H_2CO_3 , що дисоціює на іон бікарбонату HCO_3^- і протон.

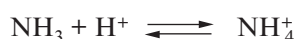
Протон секретується з цитоплазми у просвіт каналця мембранною транспортною АТФ-залежною системою, а іон бікарбонату всмоктується через базолатеральну мембрану назад у кров. Для збереження електронейтральності з каналця в кров за рахунок реабсорбції переносяться іони Na^+ . Сумарний процес полягає в перене-

сенні протонів із крові в обмін на іони Na^+ . Тим самим нирки беруть участь у підтримці стабільного рН плазми крові (рівноваги $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$).

За добу з сечою секретується близько 60 ммоль протонів. Проте в сечі велика частина протонів нейтралізується буферними системами, тому рН сечі лежить у слабкокислої області (приблизно до 4,8). Найважливішою буферною системою сечі є

фосфатна — $\frac{\text{HPO}_4^{2-}}{\text{H}_2\text{PO}_4^-}$. Певний внесок у підтрим-

ку рН вносить аміак за рахунок утворення іонів амонію.



Якщо екскреція фосфатів залежить від кількості фосфору, що надійшов з їжею, виведення аміаку варіює в широких межах залежно від метаболічних потреб організму.

Гемопротейни

За біохімічними функціями гемопротейни діляться на неферментні (гемоглобін, міоглобін) і ферментні (цитохроми, каталаза, пероксидаза). Небілкова частина гемопротейнів — гем — є металопорфіриновим комплексом. Порфірин складається з чотирьох пірольних кілець, сполучених метиленовими містками. Порфірин має багато ізомерів залежно від положення замісників у макроциклі. Один із його ізомерів — протопорфірин IX — має в положеннях 1, 3, 5, 8 метильні групи, у положеннях 2 і 4 — винільні, а в положеннях 6 і 7 — пропіонільні. Комплекс протопорфірину IX з Fe^{2+} називається гемом, а з Fe^{3+} — геміном. Координаційне число Феруму дорівнює шести. У гемі Ферум з'єднаний двома ковалентними зв'язками з атомами Нітрогену двох пірольних кілець і двома донорно-акцепторними зв'язками з атомами Нітрогену решти пірольних кілець. З двох невикористаних координаційних зв'язків один іде на з'єднання з білком глобіном, а другий — на з'єднання з різними лігандами (фізіологічними — кисень, вода і чужорідними — діоксид карбону, ціанід).

Гемоглобін

Гемоглобін має четвертичну структуру, він є сполукою гему з білком глобіном.

До складу молекули гемоглобіну входять 4 геми, кожен з яких зв'язаний з поліпептидним ланцюгом, причому гем у гемоглобінах вищих тварин і людини однаковий, а видові розбіжності зумовлені структурою глобіну. Молекула глобіну дорослої людини (НБА) побудована з 4 поліпептидних ланцюгів: двох α - і двох β -; α -ланцюг містить 141 залишок амінокислот, β -ланцюг — 146.

Молекулярна маса гемоглобіну 66 000–68 000. Третинні структури α - і β -ланцюгів дуже схожі.

Гемоглобін виконує дві важливі біологічні функції.

1. Зв'язування кисню гемоглобіном відбувається в легенях, де парціальний тиск кисню ся-

гає 100 мм рт. ст., і вивільняється кисень у тканинах, де тиск його не перевищує 35 мм рт. ст. Крива насичення гемоглобіну киснем має сигмоїдний характер, що пояснюється взаємодією між субодиницями гемоглобіну. Відомо, що гемоглобін має слабку спорідненість до кисню, однак зв'язування кисню з однією субодиницею гемоглобіну збільшує спорідненість до кисню інших субодиниць, тобто виникає кооперативний ефект.

В еритроцитах міститься 2,3-бісфосфогліцерат у еквімолярній концентрації до гемоглобіну. Бісфосфогліцерат є похідним метаболітів гліколізу, знижує спорідненість гемоглобіну до кисню в 26 разів, що має дуже велике значення для вивільнення кисню в тканинах, тому що гемоглобін легше віддає тканинам зв'язаний кисень. Виходячи з цього, стало зрозумілим, чому при переливанні консервованої крові знижується постачання тканин киснем — це наслідок зменшення вмісту в еритроцитах бісфосфогліцерату і посилення зв'язку кисню з гемоглобіном. Для запобігання цьому явищу до консервованої крові додають інозин, що проникає всередину еритроцитів і перетворюється на бісфосфогліцерат. Збільшення вмісту бісфосфогліцерату в еритроцитах сприяє адаптації організму до гіпоксії (захворювання легенів, перебування на високогір'ї тощо).

2. Гемоглобін переносить діоксид карбону із тканин, де він утворюється в реакціях декарбоксілювання, до легень, де він вивільняється. Однак фіксація вуглекислого газу, на відміну від кисню, відбувається не на гемі, а на глобіні за рахунок приєднання вуглекислого газу до вільних аміногруп з утворенням карбамату.



У присутності вуглекислого газу або при низьких значеннях рН знижується спорідненість гемоглобіну до кисню й відбувається додаткове вивільнення кисню з оксигемоглобіну за рахунок збільшення ступеня дисоціації останнього. Це явище називається ефектом Бора (див. рис. 17.6). Слід зазначити, що основна кількість вуглекислого газу (близько 80 %) транспортується кров'ю у вигляді бікарбонатів.

Частина вуглекислого газу (близько 8–10 %) транспортується плазмою крові, розчиняючись у ній. Близько 2/3 загальної кількості вуглекислого газу крові перебуває в плазмі й 1/3 — в еритроцитах, однак при переносі вуглекислого газу від тканин до легенів майже весь він повинен пройти через еритроцити. У плазмі й еритроцитах вуглекислий газ присутній у вигляді розчиненого газу й гідрокарбонату.

Оксид карбону має дуже високу спорідненість до гемоглобіну, приблизно в 300 разів вищу, ніж до кисню. Це свідчить про високу токсичність чадного газу (CO), який зв'язується з гемоглобіном і не дає йому можливості брати участь у перенесенні кисню. У карбоксигемоглобіні ($\text{CO} + \text{гемоглобін}$) Ферум дво-валентний.

При дії на оксигемоглобін окисників (нітриту натрію) утворюється метгемоглобін, в якому Ферум тривалентний, він не здатний зв'язувати кисень. Поява метгемоглобіну у великих кількостях спричинює кисневе голодування тканин. Проте метгемоглобін має здатність зв'язувати ціаніди (CN-) з утворенням ціанметгемоглобіну і рятує від смертельної дії ціанідів. Тому для лікування отруєнь ціанідами застосовують метгемоглобіноутворювачі (той самий нітрит натрію).

Типи гемоглобіну

Гемоглобіни можуть розрізнятися білковою частиною. Існують фізіологічні й аномальні типи гемоглобіну. Фізіологічні утворюються на різних етапах нормального розвитку, аномальні — внаслідок порушень послідовності амінокислот у глобіні фізіологічних типів гемоглобіну. Фізіологічні типи гемоглобіну відрізняються між собою набором поліпептидних ланцюгів (субодиниць), що утворюються на різних етапах розвитку людини — від ембріонального до дорослого стану. Розрізняють такі фізіологічні типи гемоглобіну:

- примітивний гемоглобін HbP (Говер-1 і Говер-2);
- фетальний гемоглобін HbF (від лат. *fetus* — плід);
- гемоглобін дорослих HbA, HbA₂, HbA₃ (від лат. *adultus* — дорослий).

Примітивний гемоглобін (HbP) з'являється на ранніх стадіях розвитку ембріона. У перші тижні розвитку, коли в жовточному мішку виникають осередки кровотворення, починається синтез перших ланцюгів глобіну (Е-ланцюги). Перший гемоглобін формується з чотирьох Е-ланцюгів, він називається Говер-1 (Gover-1). Потім у ембріона, довжина якого не перевищує 2,5 см, починається синтез α -ланцюгів. Утворюється більш зрілий тип примітивного гемоглобіну Говер-2 (Gover-2), який складається з двох Е- і двох α -ланцюгів. Цей гемоглобін майже повністю зникає приблизно у тримісячного ембріона. Якщо він виявляється у новонародженого, то це є ознакою природжених аномалій розвитку. Примітивний гемоглобін замінюється на HbF, оскільки замість Е-ланцюгів синтезуються γ -ланцюги.

Фетальний гемоглобін (HbF) складається з двох α - і двох γ -ланцюгів.

HbF є головним типом гемоглобіну плода і становить до моменту народження 70 % усього гемоглобіну. На пізніх стадіях розвитку плода з'являється гемоглобін дорослих HbA і HbA₂: HbA складається з двох α - і двох β -ланцюгів; HbA₂ — з двох α - і двох δ -ланцюгів. Протягом 3–4 міс після народження відбувається різке зниження кількості HbF (до 1–2 %) і заміна його на HbA. У крові дорослої людини приблизно 95–96 % HbA; 2–3 % HbA₂; 0,1–2 % HbF.

Гемоглобін HbA₂ і HbF мають більшу спорідненість до кисню, ніж HbA. При старінні еритроцитів у невеликій кількості з'являється HbA₃, у якого є зміни в будові β -ланцюгів.

Аномальних типів гемоглобіну знайдено більше 100. Вони розрізняються складом ланцюгів або, частіше, заміною амінокислот у ланцюгах.

HbC — аномальний гемоглобін, у молекулі якого залишок глутамату в 6-му положенні β -ланцюга замінений на лізін. Еритроцити, які містять такий аномальний гемоглобін, схильні до гемолізу, що призводить до анемії.

HbM — група гемоглобіну, де в поліпептидних ланцюгах гістидин, що бере участь у зв'язуванні Феруму, замінений на іншу амінокислоту. У такому гемоглобіні атом Феруму Fe³⁺ не може відновлюватися метгемоглобінредуктазою до Fe²⁺. Через це в еритроцитах нагромаджується метгемоглобін (містить Fe³⁺). Така метгемоглобінемія найбільш виражена у гомозиготів, тому хворі гинуть в умовах тяжкої гіпоксії.

HbA1c — глікозильований гемоглобін, який з'являється в еритроцитах в умовах некомпенсованого цукрового діабету. Гемоглобін A1c містить глюкозу, приєднану до термінального валіну в кожному β -ланцюзі.

Міоглобін має третинну структуру і складається з одного ланцюга гемоглобіну. На відміну від гемоглобіну, він у п'ять разів швидше зв'язує кисень. Крива насичення його киснем має вигляд гіперболи. У цьому криється велике біологічне значення, оскільки міоглобін знаходиться в глибині м'язової тканини (де низький парціальний тиск кисню). Міоглобін створює резерв кисню, який витрачається в міру необхідності, використовуючи його у разі тимчасового браку кисню.

Мономерний гемоглобін більше схожий за властивостями на міоглобін, оскільки має один поліпептидний ланцюг, пов'язаний з гемом. Очевидно, функція його полягає не в перенесенні кисню, а в його нагромадженні.

Ферментні гемпротеїни

Цитохроми діляться на кілька типів залежно від гему, що входить у молекулу (цитохроми a, b, c, c₁). Вони не здатні зв'язувати кисень, за винятком цитохрому a₃, в який входить іон міді, зв'язаний з глобіном. Цитохроми переносять електрони і входять до складу дихального ланцюга мітохондрій і ланцюга мікросом.

Каталаза і пероксидаза мають той самий гем, що і гемоглобін. Вони беруть участь у розпаді пероксиду водню. Оскільки гем у цих ферментів і гемоглобіну однаковий, то не дивно, що гемоглобін також має властивості каталази і пероксидази розкладати пероксид водню.

Гемоглобінози

Патологічні стани, які розвиваються внаслідок наявності в крові аномальних форм гемоглобіну зі зміненими кисеньтранспортними властивостями, називаються *гемоглобінозами*. За механізмом виникнення молекулярного дефекту гемоглобінози поділяються на гемоглобінопатії і таласемії.

Прикладом гемоглобінопатії є *серпоподібноклітинна анемія*, при якій в β -ланцюгах глобіну глутамінова кислота в 6-му положенні від N-кінця замінена на валін. Такий гемоглобін називається HbS.

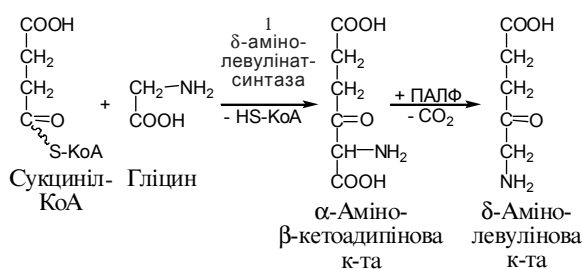
Поява валіну в 6-му положенні сприяє появі нового центру зв'язування. У результаті тетрамери гемоглобіну асоціюють, утворюючи довгі мікротрубочасті структури, які кристалізуються всередині еритроцитів. Кристалізація порушує структуру еритроцитів, вони набувають серпоподібної форми і легко руйнуються. Збудник малярії значну частину свого життя проводить в еритроцитах. Там, де разом із гемоглобіном А міститься HbS, умови для росту збудника менш сприятливі. Тому гетерозиготні носії гена серпоподібності виживають при епідеміях малярії, проте чверть їх потомства гине від серпоподібно-клітинної анемії.

Таласемії α - або β -типу — гемолітичні анемії, які розвиваються в результаті утворення аномальних форм гемоглобінів, у глобіновій частині яких відсутні α - або β -поліпептидні ланцюги.

У крові людини відкрито близько 150 типів мутантних гемоглобінів (аномальних) за хімічними і біологічними властивостями.

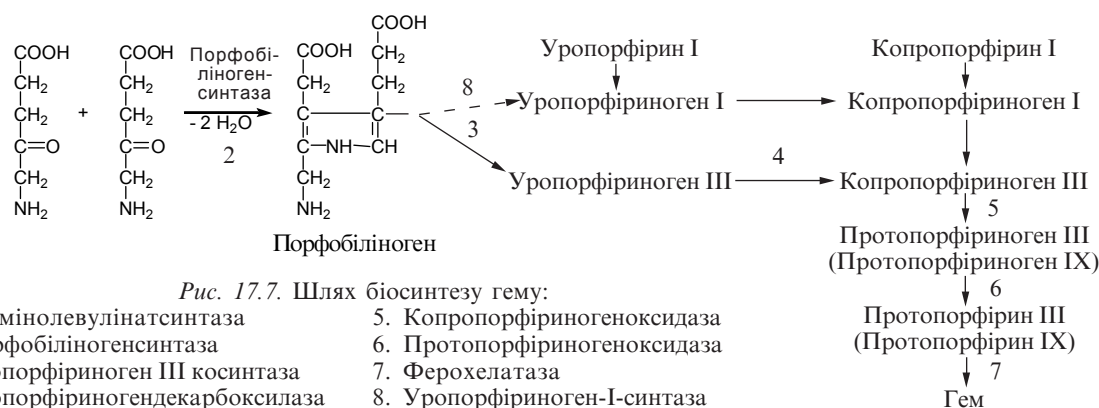
Синтез гему

Синтез гему в організмі відбувається із низькомолекулярних сполук:



Наступний етап характеризується утворенням пірольної сполуки — порфобіліногену — за рахунок конденсації двох молекул δ -амінолевулінової кислоти під дією порфобіліногенсинтази. Конденсація чотирьох молекул порфобіліногену приводить до утворення різноманітних типів порфіринів (уропорфіриноген III, копропорфіриноген III, протопорфіриноген IX, протопорфірин IX) (рис. 17.7).

У синтезі гему беруть участь вітамін B₁₂, фолієва кислота, ТПФ, ліпоева кислота, ПАЛФ та іони Купруму.



- | | |
|------------------------------------|------------------------------|
| 1. δ -Амінолевулінатсинтаза | 5. Копропорфіриногеноксидаза |
| 2. Порфобіліногенсинтаза | 6. Протопорфіриногеноксидаза |
| 3. Уропорфіриноген III косинтаза | 7. Ферохелатаза |
| 4. Уропорфіриногендекарбоксилаза | 8. Уропорфіриноген-I-синтаза |

Порфірини — циклічні сполуки, основою структури яких є гетероциклічна сполука — порфін. Це тетрапірол, утворений із чотирьох кілець гетероциклу піролу.

Регуляція біосинтезу гему

δ -Амінолевулінатсинтаза є регуляторним ферментом, коферментом якого є ПАЛФ, інгібується гемом за принципом зворотного зв'язку. Багато сполук різної структури, включаючи вживані нині інсектициди, канцерогенні та фармацевтичні препарати, можуть значно підвищувати вміст у печінці амінолевулінатсинтази. Більшість лікарських препаратів метаболізується в печінці за допомогою цитохрому P-450 (гемопротейну). У процесі метаболізму таких сполук значно зростає споживання гему системою цитохрому P-450, внаслідок чого внутрішньоклітинна концентрація гему знижується. Це, у свою чергу, спричинює експресію синтезу δ -амінолевулінатсинтази і як наслідок — підвищення швидкості синтезу гему для забезпечення потреб клітини.

Порфірії

Порфіріями називають групу захворювань, що характеризуються підвищеним виділенням порфіринів або їх попередників. Порфірії можуть бути класифіковані на основі органів або тканин, де вони виявляються найбільше. Це переважно органи або клітини, в яких синтез гему особливо активний. Кістковий мозок синтезує значну кількість гемоглобіну, печінка активна щодо синтезу інших гемопротейнів, цитохрому P-450. Отже, порфірії розрізняються як еритропоетичні, печінкові, еритрогенітичні (змішані).

Основними клінічними проявами порфірій є підвищена чутливість до світла і неврологічні порушення. Аномальне відкладення порфіринів різної молекулярної структури в шкірі призводить до фотосенсибілізації та розвитку фотодерматитів. Під дією сонячного світла утворюються активні форми кисню (синглетний кисень ¹O₂) і пероксидні радикали порфіринів типу R-O-O[•], які ушкоджують мембрани клітин і призводять до їх загибелі.

Неврологічні порушення при порфіріях виявляються патологічними симптомами як із боку периферичної (порушення моторики кишечника,

нервово-м'язової провідності, параліч дихальних м'язів), так і центральної нервової системи.

1. *Еритропоетична порфірія* (хвороба Гюнтера) — захворювання, для якого характерний дисбаланс уропорфіриноген-III-косинтази й уропорфіриноген-I-синтази. Циркуючі еритроцити містять велику кількість уропорфірину-I, найбільші його концентрації в клітинах кісткового мозку. З сечею екскретується велика кількість ізомерів типу I (сеча набуває червоного кольору).

Протопорфірія (або еритропоетична протопорфірія) зумовлена недостатністю ферохелатази у мітохондріях усіх тканин. Клінічно хвороба виявляється як гостра кропивниця, спричинена дією сонячного світла. Еритроцити, плазма, фекалії містять підвищені кількості протопорфірину IX, а ретикулоцити (незрілі еритроцити) і шкіра (при дослідженні за допомогою біопсії) часто флуоресцює червоним світлом.

2. *Гостра печінкова порфірія* (гостра інтермітуюча порфірія) звичайно виявляється тільки після досягнення статевої зрілості. Її причиною є часткова недостатність уропорфіриноген-I-синтази. Хворі екскретують із сечею великі кількості порфобіліногену й δ -амінолевулінату (обидві сполуки безбарвні). Порфобіліноген на світлі й повітрі перетворюється на два забарвлені продукти — порфобілін і порфірин. Це приводить до потемніння сечі при її стоянні на світлі при доступі повітря. Порфобіліноген і δ -амінолевулінат наявні в плазмі крові та спинномозковій рідині хворих, особливо у період загострення. Лікарські препарати і стероїдні гормони, метаболізм яких потребує участі цитохрому P-450 (гемовмісного білка), можуть прискорювати настання загострення. Підвищення споживання гемових білків знижує концентрацію гемому, а це спричинює підвищення синтезу δ -амінолевулінатсинтази, значне нагромадження δ -амінолевулінату і порфобіліногену. Це супроводжується гострим болем у животі, блюванням, серцево-судинними порушеннями, а також нервово-психічними розладами. Зниження вмісту гемому пригнічує активність триптофанпіролази і приводить до нагромадження нейроактивних сполук — триптофану і серотоніну. У пацієнтів не спостерігається підвищеної чутливості до світла, оскільки не відбувається нагромадження порфіринів або порфіриногенів у шкірі.

3. *Спадкова копропорфірія* зумовлена дефіцитом копропорфіриногеноксидази — мітохондріального ферменту, відповідального за перетворення копропорфіриногену III на протопорфіриноген IX, що у великих кількостях виділяється з організму з фекаліями, які на світлі й повітрі окиснюються до червоного кольору через пігмент копропорфірин.

4. *Мозаїчна порфірія* зумовлена дефіцитом протопорфіриногеноксидази, звідси — недостатній вміст гемому, що призводить до підвищеної активності амінолевулінатсинтази. Підвищена активність печінкової δ -амінолевулінатсинтази спричинює перепродукування всіх інтермедіатів синтезу гемому на ділянках перед заблокованою

стадією. Таким чином, пацієнти екскретують з сечею надмірну кількість δ -амінолевулінату, порфобіліногену, уропорфірину і копропорфірину. Сеча пігментується і флуоресцює, а шкіра чутлива до світла.

5. *Пізня шкірна порфірія* є найпоширенішою формою порфірії. Звичайно вона пов'язана з тими чи іншими ураженнями печінки, особливо при надмірному споживанні алкоголю. Вірогідною причиною метаболічних порушень є часткова недостатність уропорфіриногендекарбоксилази. Головним клінічним проявом при шкірній порфірії є підвищена світлочутливість шкіри.

6. *Набута (токсична) порфірія*. Цей тип порфірії може бути спричинений дією токсичних сполук (таких, як солі свинцю).

17.4. ЗГОРТАЛЬНА, АНТИЗГОРТАЛЬНА І ФІБРИНОЛІТИЧНА СИСТЕМИ КРОВІ

Гемостаз — це процеси, спрямовані на збереження крові в кровоносному руслі, які запобігають крововиливам і відновлюють кровотік у випадку утворення тромбу. Здійснюється гемостаз, в основному, чотирма функціонально-структурними компонентами, що взаємодіють між собою:

1. Стінки кровоносних судин (їх звуження).

2. Клітини крові (тромбоцити, еритроцити) — тромбоцитарна пробка (білий тромб), еритроцитарний червоний тромб.

Компоненти 1 і 2 — це судинно-тромбоцитарний гемостаз.

3. Ферментативна система згортання (формування кров'яного згустка — коагуляційний гемостаз).

4. Ферментативна фібринолітична система (часткове або повне розчинення згустка).

У судинно-тромбоцитарному гемостазі провідна роль у зупинці кровотечі належить судинній стінці й тромбоцитам, у коагуляційному — системі згортання крові.

Судинно-тромбоцитарний гемостаз

Судинно-тромбоцитарний гемостаз представлений ендотелієм, гладкими м'язами судин і тромбоцитами. На ушкодження першими реагують самі кровоносні судини (спазм, відкриття шунтів та ін.) і клітини крові — тромбоцити і частково — еритроцити.

І. Ендотелій контролює судинний тонус. Це найбільший ендокринний орган, що здійснює зв'язок між кров'ю і гладкими м'язами судин.

Факторами, що стимулюють клітини ендотелію, є: зміна швидкості кровотоку, нейрогормони (катехоламіни, вазопресин, ацетилхолін, бра-

дикінін та ін.), а також фактори тромбоцитарного походження (серотонін, АДФ, тромбін).

У нормі у відповідь на ці стимули клітини ендотелію посилюють синтез речовин, що викликають розслаблення гладком'язових клітин судинної стінки (оксиду азоту, простацикліну).

При гострій гіпоксії або кровотечі клітини ендотелію стають причиною звуження судин як за рахунок зниження вмісту оксиду нітрогену, так і посиленої продукції вазоконстрикторів (ендотеліну-1, супероксиданіона, тромбоксану A_2). При ушкодженні судини з ендотелію можуть виділятися тканинні фактори згортання, які беруть участь у зовнішньому шляху згортання.

Ендотеліоцити продукують оксид нітрогену, ендотеліні, простагландини, фактор активації тромбоцитів і передсердні натрійуретичні пептиди. Ефект оксиду нітрогену — антиагрегуючий, антикоагулянтний і судинорозширювальний. Він запобігає росту і міграції гладких м'язів судин, гальмує продукування адгезивних молекул, перешкоджає розвитку спазму судин. Судинорозширювальна дія оксиду нітрогену спрямована проти судинозвужувального ефекту ендотелінів — амінопептидів, які діють як паракринні речовини, їх виробляє ендотелій у відповідь на ушкодження. Синтез ендотелінів підсилюють тромбін і тромбоцити.

Основний механізм дії ендотелінів полягає у вивільненні кальцію, що викликає:

- стимуляцію всіх фаз гемостазу, починаючи з адгезії й агрегації тромбоцитів і закінчуючи утворенням червоного тромбу;
- скорочення й ріст гладких м'язів судин, що спричинює вазоконстрикцію.

Судинозвужувальний ефект ендотеліну 1 (ЕТ-1) в 10 разів вищий, ніж у ангіотензину II.

Тромбоспондин виробляється ендотелієм, утворює комплекси з колагеном, гепарином, є сильним агрегуючим фактором.

II. Відомо, що тромбоцитам, а не системі згортання крові належить провідна роль у первинній зупинці крововиливів із мікросудин за рахунок адгезії й агрегації тромбоцитів, що характеризуються найбільшою вразливістю і найчастіше стають джерелом геморагії. Саме тому час кровотечі з дрібних судин шкіри зростає при тромбоцитопеніях і тяжких гемофіліях.

Ушкодження судини спричинює низку відповідних реакцій:

- звуження просвіту ушкодженої судини через скорочення гладком'язових волокон стінок судин і виділення серотоніну;
- нагромадження тромбоцитів;
- активація факторів згортання й утворення тромбу;
- активація фібринолізу.

Тромбоцитарний гемостаз — утворення тромбів у судинах мікроциркуляції шляхом:

- місцевої вазоконстрикції при дії серотоніну, адреналіну, тромбоксану A_2 ;
- адгезії тромбоцитів до ушкодженого колагену ендотелію судин;
- утворення білого тромбу. В адгезії тромбо-

цитів беруть участь іони Ca^{2+} й синтезований в ендотелії фактор Віллебранда.

При контакті з колагеном тромбоцити змінюють свою форму з плоскої дископодібної на неправильну мішкоподібну, з'являються псевдоподії, що складаються з актинових філаментів, здатних прикріплюватися до колагенових волокон. При цьому з гранул тромбоцитів виходять активні речовини, стимулюючи подальше тромбоутворення, а сам тромбоцит через кілька годин гине. Перебудова відбувається раніше, ніж вони досягнуть ушкодженої ділянки, потім тромбоцити приклеюються до субендотеліальної структури судинної стінки (адгезія). Тромбоцитарна пробка утворюється за 3–10 с, протягом 1–3 хв збільшується в розмірі й закриває просвіт судини за рахунок склеювання тромбоцитів у грудки (агрегація).

Перший крок у коагуляційному каскаді — взаємодія тромбоцитів з екстрацелюлярним матриксом у місці ушкодження. Основна роль у цьому процесі належить колагену, який не тільки підтримує адгезію тромбоцитів, але й активує клітини, що спричинюють агрегацію й коагулянтну активність. Усього існує 20 різних типів колагенів, 9 з яких (I, III–VI, VIII, XII–XIV) є компонентами судинної стінки й беруть участь в адгезії тромбоцитів.

Стимулятори процесу адгезії:

- колаген, що служить центром зв'язування для тромбоцитів;
- АДФ (джерела АДФ — тромбоцити, ушкоджені стінки судин);
- адреналін, серотонін, тромбін.

У тромбоцитарній пробці виявляються окремі волокна фібрину. Запальні дози тромбіну утворюються на зовнішньому шляху згортання, але тромбіну необхідно значно менше, ніж для активації фібриногену. Тому при дії факторів зовнішнього шляху згортання частково страждає тромбоцитарний гемостаз. Надалі відбуваються стискання і ущільнення пробки (ретракція), у присутності скорочувального білка — тромбостеніну (фактор 8) тромбоцитів.

Процес агрегації регулюється такими речовинами:

1. Тромбоксан A_2 — синтез його відбувається в тканині мозку, селезінки, легенів, нирках, у тромбоцитах. Тромбоксан A_2 сприяє тромбоутворенню, є потужним судинозвужувальним засобом.

2. Простациклін — його синтез здійснюється в ендотелії судин, серцевому м'язі, тканині матки, слизовій шлунка. Простациклін сприяє дезагрегації тромбоцитів, фібринолізу. Для фізіологічного статусу організму особливе значення має співвідношення тромбоксану A_2 до простацикліну PCI_2 (TxA_2/PCI_2).

3. Речовиною, що зупиняє агрегацію тромбоцитів, є плазмовий антитромбін.

Через ці особливості судинно-тромбоцитарна реакція на ушкодження судин часто позначається як «початковий» (або «первинний») гемостаз, хоча обидва ці механізми включаються не обо-

в'язково послідовно один за одним, а значний час функціонують поєднано.

Ферментативна система згортання

Згортання крові (коагуляція), відповідно до сучасної ферментативної теорії згортання, — це утворення волокон фібрину, що становлять каркас будь-якого згустка крові, шляхом ферментативного відщеплення від молекул фібриногену невеликих фрагментів, після чого основні частини цих молекул, що залишаються (фібрин-мономери), з'єднуються між собою у довгі ланцюги фібрину-полімеру.

Всі запропоновані в літературі схеми згортання не можуть претендувати на повноту відображення, однак для всіх схем згортання крові характерні такі ознаки:

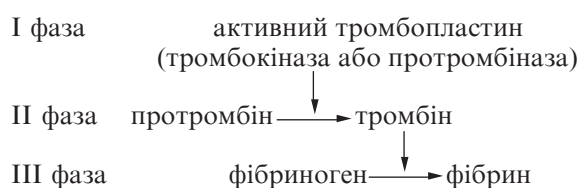
— процес згортання — багатоступінчастий, ферментативний;

— більшість факторів згортання крові — проферменти, які активуються обмеженим протеолізом;

— процес згортання — автокаталітичний, невелика кількість фактора веде до активації системи, що забезпечує його нагромадження;

— більшість білкових факторів згортання й антизгортання синтезуються в печінці.

Всі плазмові фактори, що беруть участь у процесі згортання крові, мають єдину міжнародну нумерацію і позначаються римськими цифрами. Активовані фактори згортання, тобто перетворені з проферментів на ферменти, маркуються додаванням до номера фактора літери «а». Фермент крові, що спричинює відщеплення фібринопептиду і перетворення фібриногену на фібрин, дістав назву тромбіну. Готового тромбіну в плазмі немає, але там є його неактивний попередник — протромбін, який у присутності іонів кальцію й під впливом протромбінази (або активного тромбoplastину — тромбокінази) перетворюється на тромбін. Історично склалася така схема:



У фібриногені є шість поліпептидних ланцюгів, розділених на три пари і з'єднаних дисульфідними зв'язками. Тромбін розщеплює чотири зв'язки між аргініном і гліцином, у результаті вивільняються чотири пептиди, які називаються фібринопептидами. Молекула фібриногену, позбавлена фібринопептидів, являє собою мономер фібрину.

Мономери фібрину спонтанно утворюють фібрили (довгі нерозчинні нитки). Чим пояснити, що мономери фібрину здатні агрегуватися, а фібриноген, з якого вони утворюються, — ні? Всі

фібринопептиди мають великий негативний заряд. У них виявлено значну кількість залишків глутамінової й аспарагінової кислот. Наявність цих, а також інших негативно заряджених молекул фібриногену спричинює відштовхування молекул фібриногену між собою.

Вивільнений тромбіном мономер фібрину має поверхню з цілком іншими електричними властивостями, що зумовлюють здатність до агрегації й утворення великих конгломератів, нерозчинних у плазмі крові. Вони з'єднуються між собою з утворенням тривимірних ґрат, у які включаються тромбоцити й інші формені елементи крові.

Білок фібронектин, наявний у плазмі крові й міжклітинному матриксу, теж з'єднується з фібрином. Завдяки фібронектину фібриновий тромб прикріплюється до матриксу в ділянці ушкодження судини. Цей щойно утворений тромб не дуже міцний: фібриновий гель легко можна зруйнувати механічним впливом.

Стабілізація гелю. Фермент трансглутаміназа (XIIIa) сприяє стабілізації гелю. Процес завершується трансформацією фібриногену спочатку в нестабілізований фібрин Is (soluble), який потім, стабілізуючись фактором XIIIa, перетворюється на нерозчинний фібрин Ii (insoluble). Через деякий час за допомогою фактора 8 (тромбостеніну) відбувається ретракція згустка шляхом скорочення ниток фібрину й видавлювання зі згустка формених елементів.

Плазмові фактори, що беруть участь у згортанні крові

I — фібриноген. Складається з 3 пар неіdentичних поліпептидних ланцюгів, зв'язаних дисульфідними зв'язками. Синтезується в печінці.

II — протромбін. Глікопротеїн, що містить до 14 % вуглеводів. Зв'язує 10–12 іонів Ca^{2+} . Синтезується в печінці за участю вітаміну K.

III — тканинний тромбoplastин, фосфоліпопротеїновий фрагмент ушкоджених клітинних мембран. З'являється завжди в активній формі, додавання його до плазми крові різко скорочує час згортання.

IV — іони кальцію або комплекс кальцію з білками (1,0–1,2 ммоль/л), бере участь на всіх стадіях згортання крові (активація II, III, VII, X). Його дефіцит призводить до геморагічних діатезів; хелатні сполуки Ca з цитратом або іншими органічними кислотами (оксалатом) не беруть участі в процесі згортання, тому стає зрозумілим використання цитрату або оксалату як антикоагулянтів.

V — проакцелерин — глобулінова фракція крові, синтезується в печінці.

V^I — акцелерин, активує фактор Xa за алостеричним механізмом.

VII — проконвертин (VIIa конвертин). Синтезується в печінці за участю вітаміну K, бере участь у зовнішньому шляху згортання.

VIII — антигемофільний глобулін A, попередник VIII^I. Активує фактор IXa за алостеричним механізмом (гемофілія A при дефіциті фактора VIII).

IX — антигемофільний глобулін В (фактор Кристмаса) — плазмовий компонент тромбопластину (при дефіциті фактора IX — гемофілія В).

X — протромбіназа (фактор Стюарта — Прауера). Належить до α -глобулінової фракції, синтезується в печінці за участю вітаміну К, при дефіциті — збільшений час згортання крові, особливо після хірургічного втручання.

XI — плазмовий попередник тромбопластину (фактор Розенталя) — антигемофільний фактор. При його дефіциті виникає гемофілія С.

XII — фактор Хагемана, бере участь у пусковому механізмі згортання крові. Стимулює фібринолітичну активність, кінінову систему і деякі інші захисні системи організму. Хвороба Хагемана — збільшення часу згортання крові за відсутності геморагій.

XIII — фібринстабілізуювальний фактор (фібриніаза плазмова, трансклутаміназа). Профермент фактора XIIIa, бере участь в утворенні міцних міжмолекулярних зв'язків у фібрині-полімері.

Крім згаданих факторів, у плазмі містяться речовини, що беруть участь у згортанні крові, які поки не одержали нумерації, оскільки належать до інших систем:

Прекалікреїн — фактор Флетчера.

Кініноген — фактор Фіджеральда.

XIII, XII, XI, X, VII, прекалікреїн і протромбін — проферменти, які після обмеженого протеолізу перетворюються на активні ферменти.

Інші фактори — кініноген, VIII, V — не є справжніми ферментами, але мають важливі регуляторні властивості.

Фактори, пов'язані з тромбоцитами

Їх прийнято позначати арабськими цифрами. Із тромбоцитарних факторів для згортання крові мають значення такі.

Фактор 1 (ф1) — адсорбований на поверхні тромбоцитів проакцелерин, що становить 5 % усього акцелерину.

Фактор 3 (ф3) — фосфоліпідний компонент, у контакті з яким на матриці прискорюються активація і взаємодія плазмових факторів.

Фактор 4 (ф4) — антигепариновий фактор, бере участь в агрегації тромбоцитів, гальмує антитромбінову й антитромбопластинову дію гепарину.

Фактор 8 (ф8) — бере участь у ретракції фібрину (тромбостенін).

Вивчення даного процесу довело, що є два різних шляхи згортання крові (шляхи активації). Один із них позначається як «зовнішній шлях», а другий шлях — «внутрішній».

Зовнішній і внутрішній шляхи згортання

Зовнішній шлях — первинна реакція індукується фактором, наявним у міжклітинній рідині. Утворюється тканинний тромбопластин, що проникає в кров і включає механізм згортання.

Внутрішній шлях — всі фактори, присутні в крові.

Зовнішній шлях запускається надходженням з ушкодженої стінки судини тканинного тромбопластину (III). Якщо врахувати, що травма, яка порушує цілісність судин, сприяє деструкції клітин, то тканинний тромбопластин може являти собою фосфоліпідні уламки плазматичних мембран. Цей фактор за алостеричним механізмом активує фактор VII (проконвертин), який у незначних кількостях циркулює в крові, і його ферментативна активність ще більше зростає за рахунок білкового компонента тканинного тромбопластину. Взаємодія між факторами VIIa і X приводить до активації фактора X і перетворення його на фактор Xa. Він забезпечує перетворення протромбіну (II) на тромбін (IIa), що, у свою чергу, прискорює перетворення фібриногену (I) на фібрин (Ia). Час — 10–12 с, завдяки позитивним зворотним зв'язкам (рис. 17.8).

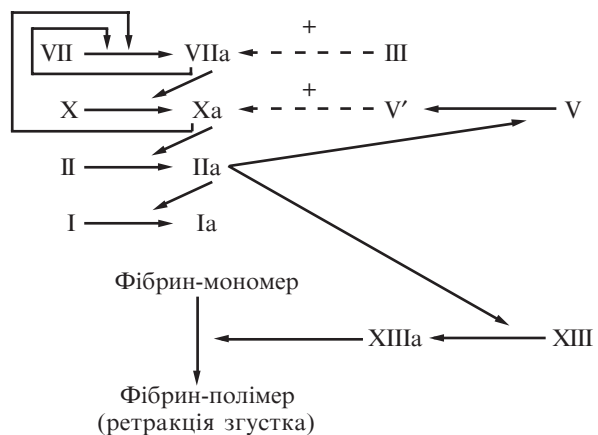


Рис. 17.8. Зовнішній шлях згортання (+ регуляція за алостеричним механізмом)

Внутрішній шлях починається з активації фактора XII (фактора Хагемана). Умови можуть бути різними: внаслідок контакту зі зміненими клітинними мембранами, під впливом гормонів або хімічних речовин. У літературі часто зустрічається пусковий механізм — контакт з аномальною поверхнею (нею може бути позбавлена ендотелію стінка судини). Це дійсно спостерігається, але неможливо пояснити утворення тромбів без травм при тромбофлебіті. Активованний фактор XIIa разом із калікреїном і кініном перетворюють фактор XI (фактор Розенталя, попередник плазмового тромбопластину) на активну форму — фактор XIa, який активує фактор IX (антигемофільний глобулін В), а той, у свою чергу, активує фактор VIII (антигемофільний глобулін А) і разом із ними активує фактор X (фактор Стюарта — Прауера), що сприяє формуванню протромбіназої активності. А далі відбувається утворення тромбіну, фібрину (рис. 17.9).

Таким чином, починаючи з активації фактора X, обидва шляхи мають однаковий розвиток (фаза II і III). Який же із цих двох шляхів є найважливішим? При нормальному гемостазі оби-

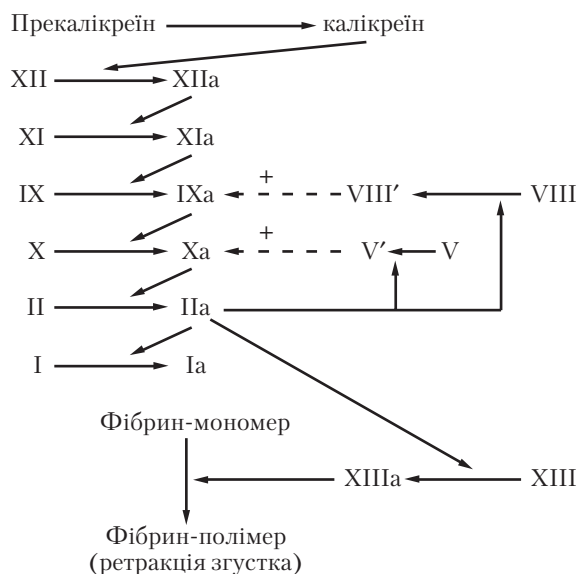


Рис. 17.9. Внутрішній шлях згортання (+ регуляція за алостеричним механізмом)

два шляхи утворення згустка крові однаково необхідні. При гемофіліях (дефіциті факторів VIII або IX) зовнішній шлях неушкоджений, однак труднощі при здійсненні гемостазу великі. Хворі зі спадковим дефіцитом фактора VII мають неушкоджену внутрішню систему, проте в них відзначаються виражені геморагії.

Чому процес згортання став настільки складним у процесі еволюції?

1. Проміжні етапи процесу виконують роль підсилювача (ампліфікатора) слабого сигналу на вході, що приводить до вибухової реакції на виході.

2. Процес згортання залежить від присутності іонів Ca^{2+} . Згортання не відбудеться, якщо іони Ca^{2+} існують у вигляді хелатів із цитратом, оксалатом.

Протромбін і фактори VII, IX і X — чотири окремих самостійних проферменти, що мають безліч схожих характеристик. Через це їх часто називають «протромбіновим комплексом». Найбільш специфічною загальною рисою цих білків є наявність значної кількості γ -карбоксіглютамінових кислот у пептидному ланцюзі, що утворюються в результаті посттрансляційного синтезу шляхом карбоксилювання в присутності вітаміну K на рівні гепатоцита, де синтезується більша частина факторів згортання крові. Карбоксилювання білкових факторів коагуляції збільшує їхню спорідненість до іонів Ca^{2+} , необхідних для зв'язування білків із фосfolіпідами мембран. Таким чином, фактори II, VII, IX і X є тими чотирма факторами згортання крові, чий синтез здійснюється під впливом і залежно від вітаміну K. При його дефіциті або при наявності його антагоністів (кумарину) карбоксилювання глутамінової кислоти не відбувається і гепатокит продукує ці фактори в неповноцінному вигляді. Функціонально вони практично неактивні.

Типовим для процесів згортання крові є те, що більшість реакцій перебігає на рівні поверхні,

для факторів II, VII, IX і X каталізуюча поверхня представлена фосfolіпідом. Тимчасом у рідкій фазі, при їх дуже малій концентрації в плазмі, ці фактори взаємодіють дуже повільно, фосfolіпіди прискорюють їхню взаємодію за рахунок фіксації та створення оптимальних стеричних відносин. Фіксація протромбіну, факторів VII, IX і X на фосfolіпідах здійснюється за допомогою іона кальцію і γ -карбоксіглютамінової кислоти. У тому випадку, якщо згортання крові відбувається за зовнішнім шляхом, фосfolіпідна поверхня представлена тканинним тромбoplastином (фосfolіпід III). Якщо ж згортання крові відбувається за внутрішнім шляхом, фосfolіпідна поверхня забезпечується активними тромбоцитами (ф3).

Крім того, фактор V у нормі присутній на мембрані тромбоцитів і тим самим забезпечує утворення фактора Xa.

Останнім часом у класичну каскадну схему згортання вносяться зміни і доповнення.

Комплекс I:

$XIIa + XI \rightarrow$ активація IX за внутрішнім шляхом.

Комплекс II:

$III + VIIa + Ca^{2+} \rightarrow$
 \rightarrow активатор X за зовнішнім шляхом.

Комплекс III:

$IXa + VIII + Ca^{2+} +$ фосfolіпід \rightarrow
 \rightarrow активатор X за внутрішнім шляхом.

Комплекс IV:

$Xa + V' + Ca^{2+} +$ фосfolіпід \rightarrow
 \rightarrow активатор протромбіну.

Антизгортальна система крові

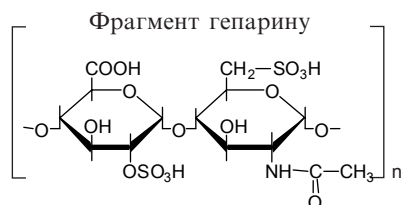
Чому, незважаючи на згортання крові в одній ділянці, загальна маса крові в судинному руслі не згортається? Певну роль у цьому відіграють різні фактори: згортання здійснюється на рівні певної поверхні; вона представлена ушкодженою ділянкою судинної стінки. Імовірно, що тромбін утворюється в достатній кількості лише на цьому рівні й адсорбується на навколишньому фібрині; за рахунок цього кількість вільних молекул тромбіну значно зменшується. Для припинення кровотечі тромбін продукується в надлишку, створюючи загрозу тромбозів. Однак у процесі утворення гемостатичного тромбу поширення тромбоутворення не відбувається, тому що цьому перешкоджають антикоагуляційна і фібринолітична системи крові.

Природні механізми регуляції функціонування тромбіну полягають у гальмуванні процесу утворення тромбіну й в активації тромбіну плазмовими інгібіторами протеїназ. Ці процеси супроводжуються утворенням комплексу тромбін-тромбомодулін на ендотелії, активацією протеїну C і блокуванням утворення тромбіну, що перериває згортання крові на ранніх етапах. Тучні клітини секретують гепарин, а клітини ендотелію продукують гепариноподібні глікозаміноглікани, тканинний активатор плазміногену

й антиагрегаційні простагландини. Молекули тромбіну, що залишилися вільними, можуть зв'язуватися з білком плазми, *антитромбіном III*, що також зветься кофактором гепарину. Фіксація і нейтралізація тромбіну антитромбіном здійснюється повільно (кілька хвилин) такою схемою:

1. Антитромбін III + гепарин →
→ антитромбін III-гепарин.
2. Антитромбін III-гепарин + тромбін →
→ антитромбін III-тромбін + гепарин.

Гепарин спричинює певні морфологічні зміни антитромбіну (реакція 1), після чого він стає ефективнішим і нейтралізує тромбін (реакція 2). Зв'язування антитромбіну з гепарином, очевидно, спричинює конформаційні зміни, що сприяють взаємодії зі специфічними протеазами (трипсин, плазмін, хімотрипсин). Цей факт є біохімічною основою використання гепарину як антикоагулянта. Клініка підтвердила провідну роль цього антикоагулянта в запобіганні тромбозам: при спадковому порушенні синтезу антитромбіну III виникає тяжке тромбоемболічне захворювання — тромбофілія.



Залишок D-глюкуро-нат-сульфату Залишок N-ацетилгалактозамін-6-сульфату

Фактори протизгортальної системи також синтезуються в печінці. Майже всі фактори згортання крові мають своїх антагоністів (антиконвертин, антиакцелерин та ін.) Чому ж протизгортальна система спрямована на II етап — утворення тромбіну? Імовірно, це відбувається тому, що травма має перевагу в часі перед протизгортальною системою. На I етап протизгортальна система спізнюється, очевидно, у процесі еволюції залишилася тільки протизгортальна система, орієнтована на II етап згортання.

α_2 -Макроглобулін. На його частку припадає 25 % всієї антитромбінової активності. У ньому є ділянки — субстрати для протеїназ, вони приєднуються, змінюється конформація і α_2 -макроглобулін захоплює фермент (пастка). Багато факторів згортання крові мають антикоагуляційну активність (наприклад, фібрин, що утворюється в результаті фібринолізу, адсорбує й інактивує майже весь тромбін — його називають антитромбін I).

Фібриноліз. Ретрагований згусток під впливом плазміну розсмоктується з утворенням розчинних пептидів. Активація плазміногену відбувається за допомогою активаторів крові (внутрішній шлях) або тканин (зовнішній шлях).

Тканинні активатори в найбільшій кількості містяться у легенях, матці, передміхуровій залозі. У кров'яному руслі може виникнути гострий

фібриноліз. Активація плазміногену може бути зумовлена згортанням крові, вивільненням лейкоцитарних, еритроцитарних і тромбоцитарних активаторів, а також стимуляцією з боку інших систем крові (калікреїн-кінінової, комплементу тощо).

Інший шлях активації фібринолізу *зовнішній* — здійснюється надходженням у кровотік тканинних кіназ. У нирках переважає тканинний активатор фібринолізу — урокіназа, що у великій кількості міститься у сечі. Деякі продукти життєдіяльності мікроорганізмів (стрептокіназа) активують плазміноген і відповідають за дифузні крововиливи. Концентрація активаторів плазміногену підвищується при шоку і деяких формах раку.

Таким чином, фібринолітична система, як і згортальна, має два механізми активації — *внутрішній*, здійснюваний ферментними системами самої крові, і *зовнішній*, здійснюваний тканинними активаторами. Після активації плазміногену плазмін швидко зникає з кровотоку — блокується швидко діючими антиплазінами і видаляється (рис. 17.10).

Отже, система гемостазу містить згортання крові, антикоагулянтну систему і фібриноліз. Процес згортання крові став складним у процесі еволюції. При масивних крововтратах порушується система згортання. Імовірно, рецептори визначають масивну крововтрату як масивне тромбоутворення в результаті зменшення обсягу циркулюючої крові, спрацьовує антикоагуляційна система, що збільшує кровотечу.

Уроджені порушення згортання крові

Клінічно гемофілії A і B не відрізняються між собою і можуть бути диференційовані тільки за лабораторними даними. Основна клінічна ознака — гематогенний тип кровоточивості. Харак-

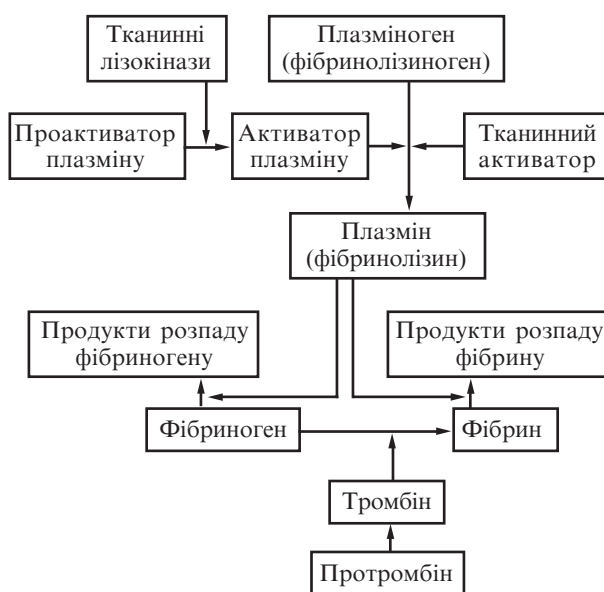


Рис. 17.10. Схема фібринолізу

терні крововиливи з великих судин, внутрішньо-м'язові гематоми, масивні й тривалі кровотечі при травмах.

Гемофілія А передається за рецесивним, зчепленим із Х-хромосою типом. Локалізований у Х-хромосомі ген гемофілії рецесивний, це захворювання передається через жінок, вони мають нормальну другу Х-хромосому, як правило, не страждають від кровотеч, але активність VIII фактора знижена (при низьких показниках можуть спостерігатися кровотечі при травмах, операціях, під час пологів).

Дисеміноване внутрішньосудинне згортання крові (ДВЗ-синдром)

Те, що кровотечі можуть виникнути внаслідок підвищеного згортання крові, здається парадоксальним і складним для розуміння, оскільки геморагії та тромбози є явищами-антагоністами. З такою трагічною ситуацією зіштовхується акушер, коли слідом за тяжкими або ускладненими пологамі починається катастрофічна маткова кровотеча й одночасно виникають синці на шкірі, носі, шлунку та інші геморагії, що поєднуються з порушенням кровообігу в легенях або нирках. З трохи іншим варіантом зіштовхується хірург, коли після операції у хворого розвиваються множинні геморагії, глибока тромбоцитопенія, що поєднується з блокадою кровообігу і недостатністю легень, нирок і печінки. В інфекційній клініці аналогічна катастрофа розгортається при багатьох вірусних захворюваннях, у кардіологічній — при інфаркті міокарда, в онкологічній — при злоякісних пухлинах.

ДВЗ-синдром (від лат. *disseminare* — розповсюджувати) перебуває під контролем нейроендокринної системи. Це складний патологічний процес, в основі якого лежить дисеміноване і часто повсюдне згортання крові, що веде до блокади циркуляції, розвитку геморагій, гіпоксії тканин, тканинного ацидозу, глибокого порушення функції органів. Синдром неспецифічний і універсальний, він може виникнути при найрізноманітніших патологічних процесах. Спочатку кров усюди згортається, блокує пухкими масами фібрину й агрегатами клітин крові судинну мережу, а потім, вичерпавши коагуляційний потенціал, втрачає здатність до згортання, що призводить до неконтрольованих кровотеч.

Патогенез

1. Травматичне ушкодження клітин (розріз плаценти, ішемія, злоякісна пухлина), вивільнення тканинної рідини, що містить фактор III, у присутності фактора VII активує зовнішній шлях згортання крові.

2. У результаті ушкодження або модифікації ендотеліальних клітин гальмується синтез простагландинів, що призводить до адгезії тромбоцитів, контактної активації фактора Хагемана і запуску внутрішнього механізму.

3. Вивільнення внутрішньоклітинних ферментів та іншого клітинного вмісту з еритроцитів (переливання несумісної крові, малярія), з лейкоцитів або тромбоцитів призводить до виходу фос-

фоліпідів, які підсилюють активацію як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів.

ДВЗ-синдром дозволяє пояснити патогенез великої кількості захворювань. Найбільша кількість фібрину міститься в судинах малого діаметра (визначається місцевим кровотоком — кірковий шар нирок, легені, гіпофіз, надниркові залози, печінка, мозок, селезінка). Виникає ішемія органа і навіть інфаркт (за рахунок фібринової облітерації судин). Еритроцити, проходячи через фібринову мережу, деформуються, вивільняється АДФ, що підсилює агрегацію тромбоцитів.

Розрізняють такі стадії ДВЗ-синдрому:

1-ша стадія — гіперкоагуляція — поява великої кількості активного тромбопластину.

2-га стадія — коагулопатія споживання — зменшення рівня прокоагулянтів і одночасна активація фібринолізу.

3-тя стадія — різке зниження в крові рівня всіх прокоагулянтів, характеризується тяжкими геморагіями. Якщо хворий залишається живим, то виникає наступна стадія.

4-та стадія — відновна — поступова нормалізація системи згортання крові, поява ускладнень ДВЗ-синдрому: гостра печінкова, ниркова, дихальна недостатність, порушення мозкового кровообігу.

17.5. БІОХІМІЯ ІМУННИХ ПРОЦЕСІВ І БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ІМУНОДЕФІЦІТНИХ СТАНІВ

Імунна система (від лат. *immunitas* — звільнення від чогось) — анатоμο-функціональна система антигенного гомеостазу. Імунна система за допомогою клітинних і гуморальних механізмів забезпечує розпізнавання, зв'язування й руйнування антигенів (генетично чужорідних матеріалів) інфекційного і неінфекційного походження. Морфологічним синонімом імунної системи є лімфоїдна система, що складається з тимуса, селезінки, лімфатичних вузлів, лімфатичних фолікулів, лімфоцитів кісткового мозку й крові. Лімфоцити є ключовими елементами у формуванні імунітету. Крім лімфоцитів, у реакціях імунітету беруть участь білки й пептиди-ефектори імунних процесів — імуноглобуліни, система комплекменту, гормони й медіатори імунітету.

Залежно від функції, етапності включення в захисні реакції організму, клітини й гуморальні речовини поділяються на 2 групи:

1. Фактори неспецифічного захисту.

2. Фактори специфічного реагування.

Фактори неспецифічного захисту — це:

— епітеліальні клітини шкіри й слизових;

— макрофаги (моноцити, легеневі макрофаги, клітини Купфера) і мікрофаги (зернисті лейкоцити);

— натуральні кілери, або НК-клітини (від англ. *natural killers*) (руйнування уражених вірусом клітин) і еозинофіли (руйнування гельмінтів);

— нейтрофіли (фагоцитоз у тканинах), моноцити;

— гуморальні речовини — система комплементу, ферменти (лізоцим, пероксидаза), інтерферони, С-реактивний білок, α_1 -антитрипсин, церулоплазмін, інгібітори ферментів бактеріальних клітин, вірусів, бактерицидні речовини.

Фактори специфічного захисту включаються після контакту з генетично чужорідним матеріалом (антигеном), у результаті чого формується специфічна імунна відповідь. До них належать:

- імунокомпетентні клітини (всі лейкоцити);
- білки-імуноглобуліни.

У людей вроджений імунітет утворює першу лінію захисту від інфекцій. Головними у цій системі є рецептори, що приєднуються до певних послідовностей цукрів, жирів і амінокислот звичайних бактерій та активують різноманітні захисні механізми. Внаслідок активування захисних механізмів у різних організмах фіксують виділення інтерферонів, фагоцитоз, утворення антибактеріальних пептидів, активування системи комплементу і кількох протеолітичних каскадних систем.

У людей вроджений імунітет доповнений набутим імунітетом — системою, у якій Т- і В-лімфоцити активовані специфічними антигенами. Наслідком такого активування є утворення клонів клітин, що атакують сторонні білки, а після припинення інвазії продовжують існувати у вигляді невеликої групи клітин пам'яті, щоб у випадку повторного контакту з тим самим антигеном зумовити швидку та масивну імунну атаку.

Механізми природженого та набутого імунітету можуть бути спрямовані також проти пухлин і трансплантатів від інших тварин.

Порушення функції фагоцитозу

Описано близько 15 первинних дефектів діяльності *нейтрофілів* і не менше 30 інших станів, у яких простежується вторинне порушення функції нейтрофілів. Хворі з такими порушеннями схильні до інфекцій, які мають легкий перебіг у разі порушення функцій тільки нейтрофілів. Якщо ж порушена функція й системи моноцитів — *тканинних макрофагів*, то захворювання тяжкі.

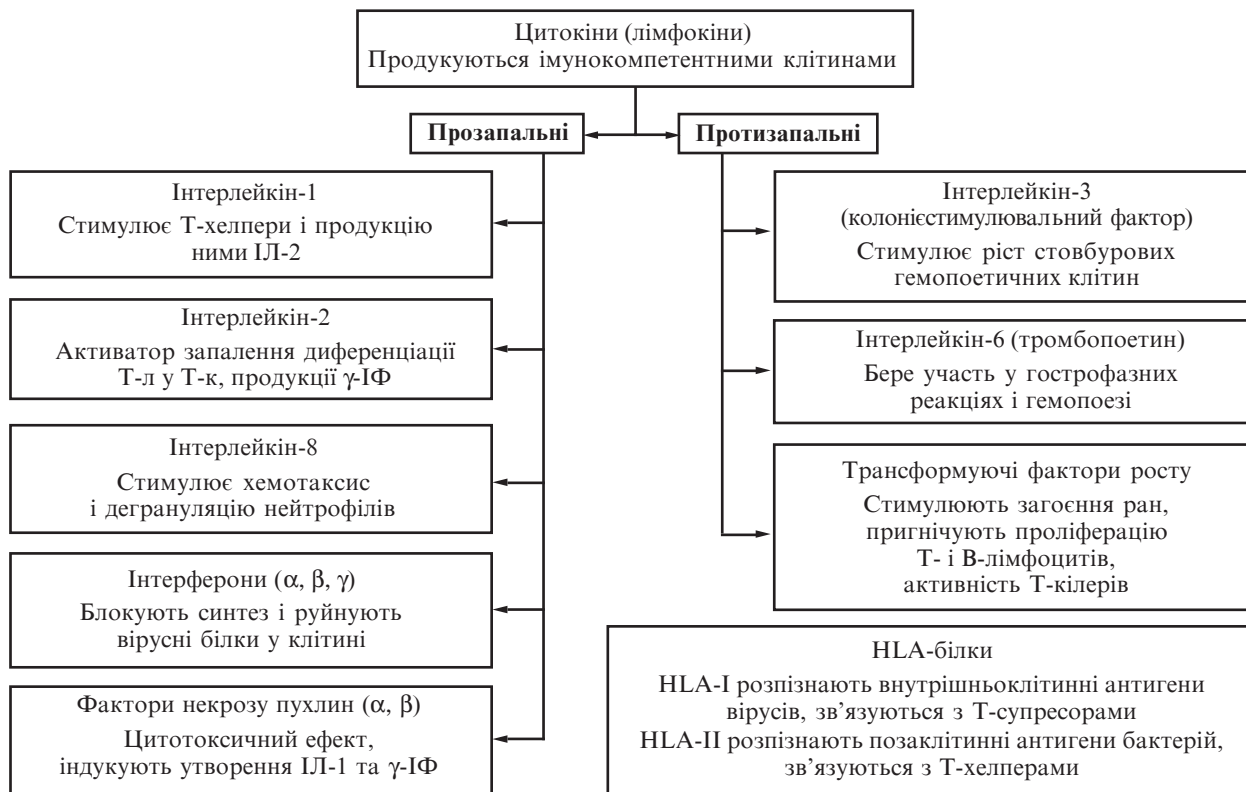
При тяжких захворюваннях фіксують неможливість утворення O_2^- , як у нейтрофілах, так і в моноцитах, внаслідок чого клітини не можуть знищувати фагоцитовані бактерії. При вираженій спадковій недостатності глюкоза-6-фосфатдегідрогенази виникають множинні інфекції, оскільки неможливе утворення НАДФН, необхідного для утворення супероксиданіона O_2^- . У разі спадкової недостатності мієлопероксидази ефективність знищення мікроорганізмів зменшується через неможливість утворення іонів гіпогалогідів, проте здатність знищувати мікроби повністю не зникає, оскільки зберігаються інші механізми.

Цитокіни

Цитокіни — це гормоноподібні молекули, що регулюють імунну відповідь паракринним шляхом. Їх виділяють не тільки лімфоцити і макрофаги, а й ендотеліальні клітини, нейрони та інші види клітин. Однак є домовленість, за якою в разі виявлення послідовності амінокислот певного фактора у людини назву фактора змінювали на інтерлейкін (табл. 17.3).

Таблиця 17.3

Компоненти імунної системи



Іншою надродиною цитокінів є родина хемокінів. Хемокіни — це сполуки, що залучають нейтрофіли та інші лейкоцити у ділянку запалення чи імунної реакції.

В- і Т-лімфоцити

Попередниками лімфоцитів є ембріональні стовбурові клітини кісткового мозку, які утворюються на ранніх етапах внутрішньоутробного розвитку. На відміну від інших імунокомпетентних клітин, лімфоцити у відповідь на антигенне подразнення здатні до розмноження й диференціювання. У кровотоку перебуває 1–2 % всіх лімфоцитів організму.

Решта лімфоцитів здебільшого містяться у лімфоїдних органах.

Т-лімфоцити відповідають за клітинний імунітет, В-лімфоцити — за гуморальний (рис. 17.11).

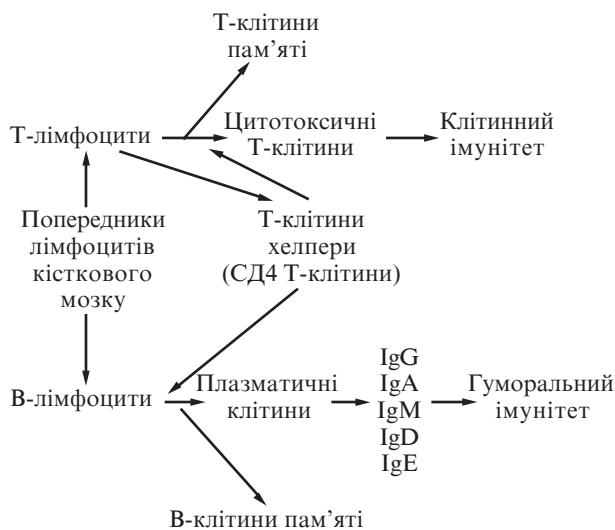


Рис. 17.11. Розвиток системи, що виконує реакції набутого імунітету

Морфологічно Т- і В-лімфоцити розрізнити неможливо, ідентифікувати їх можна за допомогою маркерів, розміщених на клітинній мембрані.

Представники В-клітин диференціюються у плазматичні клітини та В-клітини пам'яті. Розрізняють головні види Т-лімфоцитів: цитотоксичні Т-клітини (Т-кілери), Т-клітини хелпери, Т-клітини супресори, Т-клітини пам'яті. Крім того, є два підтипи клітин хелперів: Т-хелпери першого типу (Тн1) виділяють ІЛ-2 та γ -інтерферон (γ -ІФ) і пов'язані переважно з клітинним імунітетом; Т-хелпери другого типу (Тн2) виділяють ІЛ-4 та ІЛ-5 і взаємодіють переважно з В-клітинами щодо гуморального імунітету.

Цитотоксичні Т-клітини (Т-кілери) руйнують трансплантовані й інші сторонні клітини, причому їхній розвиток регульований Т-хелперами.

Більшість цитотоксичних Т-клітин мають на поверхні глікопротеїн СД8, а Т-клітини хелпери

— глікопротеїн СД4 (від англ. *Clusters of differentiation* — CD — кластери диференціювання). Ці білки можуть діяти і як корецептори.

Після контакту з антигеном невелика кількість активованих В- і Т-клітин залишаються у вигляді В- і Т-клітин пам'яті. Ці клітини швидко перетворюються на ефекторні клітини під час повторного контакту з тим самим антигеном. Здатність розвивати прискорену імунну відповідь у разі повторного контакту з антигеном — ще одна важлива риса набутого імунітету.

Він може зберігатися протягом тривалого часу в лімфоїдній тканині, де розвивалась імунна реакція, і ще довше — у плазмі крові.

Розпізнавання та презентування антигену

У разі першого потрапляння антигену в організм він може зв'язуватися безпосередньо з відповідними рецепторами на В-клітинах. Однак повна гуморальна відповідь потребує взаємодії В-клітин із Т-клітинами хелперами.

В-клітини та макрофаги можуть виконувати функцію антигенпрезентувальних клітин. У цих клітинах поліпептидні продукти розпаду антигену приєднуються до білкових продуктів генів основного комплексу гістосумісності (від англ. *major histocompatibility complex* — МНС) і локалізовані на поверхні клітин. Сполуки, кодовані генами МНС, називають лейкоцитарними антигенами людини (від англ. *human leukocyte antigens* — HLA). Гени МНС поділяють на два класи залежно від поширення та функції.

Рецептори Т-клітин розпізнають МНС білки та фрагменти антигенів, з якими вони зв'язуються.

Білки СД8 на поверхні Т-кілерів посилюють приєднання МНС-I білків, а білки СД4 на поверхні Т-хелперів — приєднання МНС-II білків до рецепторів Т-клітини, а також прискорюють розвиток лімфоцитів (див. табл. 17.3).

Активовані СД8 цитотоксичні Т-клітини знищують клітини-мішені безпосередньо, тоді як активовані СД4 Т-клітини хелпери виділяють цитокіни для активування інших лімфоцитів.

В-клітини можуть безпосередньо зв'язуватися з антигеном, однак для розвитку повного активування й утворення антитіл вони повинні взаємодіяти з Т-клітинами хелперами. Активовані В-клітини проліферують і перетворюються на В-клітини пам'яті й плазматичні клітини, що виділяють велику кількість антитіл у крові. Антитіла (імуноглобуліни) циркулюють у складі глобулінової фракції плазми.

Імуноглобуліни

За хімічною будовою імуноглобуліни — глікопротеїни, що складаються з двох важких Н-ланцюгів (від англ. *heavy* — важкий) і двох легких L-ланцюгів (від англ. *light* — легкий), з'єднаних між собою дисульфідними містками. У кожному ланцюзі є окремі ділянки (домени):

а) константні (С-домени) — характеризуються сталим складом у різних класах імуноглобулінів, розташовані з С-кінця; б) варіабельні (V-домени) — розташовані з N-кінця, характеризуються гіперваріабельністю амінокислотного складу і формують активний центр імуноглобуліну, комплементарний тому чи іншому антигену. Розрізняють 5 типів Н-ланцюгів (α , γ , μ , δ , ϵ) і 2 типи L-ланцюгів (λ , κ). Залежно від типу Н-ланцюга, розрізняють 5 класів імуноглобулінів (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM); IgD і IgE є мінорними у сироватці крові (рис. 17.12).

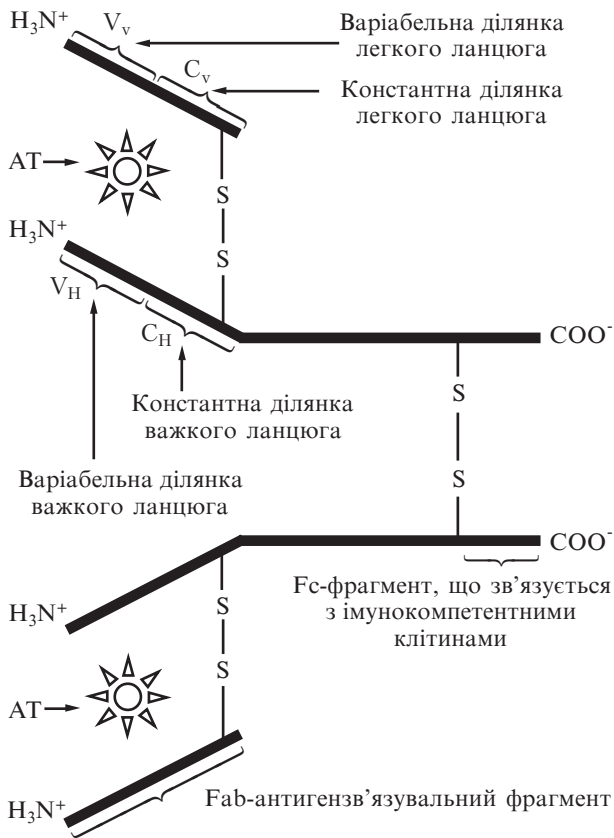


Рис. 17.12. Будова молекули імуноглобуліну

IgM становлять 5–10 % від загальної кількості Ig у сироватці крові. Вони з'являються першими після потраплення антигену (АТ). Через велику молекулярну масу вони не здатні виходити з русла крові й проникати через плацентарний бар'єр, знаходяться на поверхні зрілих В-лімфоцитів. Зниження їх рівня свідчить про недостатність гуморального імунітету.

IgG становлять близько 75 % від загальної кількості Ig у сироватці крові. Вони легко виходять із крові, проникають через плаценту, слизову оболонку кишечника. З'являються після потраплення АТ пізно — на 5-ту добу, але при повторній імунній відповіді синтезуються одразу. Вони активують комплемент, сприяють утворенню імунних комплексів, нейтралізують токсини, викликають хемотаксис лейкоцитів, беруть участь у алергічних реакціях негайного типу. Антитіла цього класу є головним захисним фактором у дитини перших тижнів життя. Головними класами імуноглобулінів крові людини, що реалізують гуморальну імунну відповідь, є IgG і IgM.

IgA становлять 10–15 % від усіх імуноглобулінів сироватки крові й містяться у найбільшій кількості у секретах слизових оболонок. Синтезуються плазматичними клітинами, але остаточне складання відбувається у залозистих клітинах епітелію дихальної та травної системи. IgA є антитілами біологічних рідин, вони перешкоджають прикріпленню мікроорганізмів до клітин епітелію і проникненню їх через слизові оболонки. При запальних захворюваннях на слизових оболонках підвищується кількість IgA.

IgE міститься у крові у дуже малих кількостях, нагромаджується в тканинах слизових оболонок і шкіри, прикріплюючись до мембран тучних клітин, базофілів, еозинофілів. При з'єднанні IgE з АТ ці клітини руйнуються, вивільнюються БАР і розвивається гіперчутливість негайного типу із залученням IgG, комплементу, формених елементів. IgE відіграє роль другої лінії захисту слизових після IgA. Підвищення у крові рівня IgE може спостерігатися при вірусному гепатиті, алергічних захворюваннях.

IgD виконує роль рецепторів В-лімфоцитів. Взаємодія специфічних антигенів із рецепторами на поверхні В-лімфоцитів спричинює передачу цих сигналів в клітину і включення механізмів, що забезпечують розмноження даного клону лімфоцитів.

Система комплементу

Комплемент — ферментна система, що лізує чужорідні клітини після їхньої взаємодії зі специфічними антитілами (рис. 17.13).

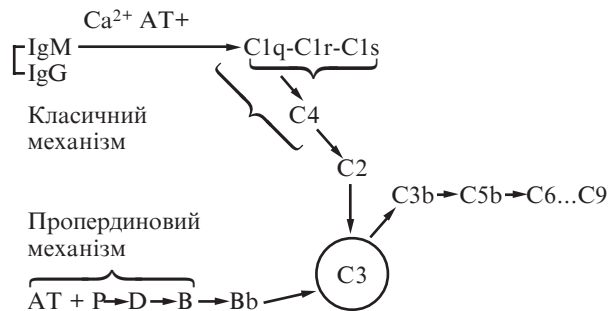


Рис. 17.13. Механізми активації комплементу: АТ — антиген; P, D, B — білки; Bb — активований фактор В

Це каскадна система протеаз, які послідовно активуються після утворення комплексу антиген-антитіло й руйнують мембранні структури клітин. Існує 9 білкових субодиниць системи комплементу C1–C9. Компонент C1 складається з трьох білків: C1q, C1r, C1s (у фізіологічних умовах система комплементу перебуває в плазмі крові в неактивному стані; активні форми комплементу позначаються штрихом над літерою — C1', C2'). Активація системи комплементу відбувається за класичним або альтернативним (пропердиновим) шляхом, які розрізняються початковими етапами, спрямованими на активацію компонента C3, що має автокаталітичні властивості й запускає каскад активації термінальних компонентів C5–C9.

Класичний шлях починається з розпізнавання (фактор С1q) і зв'язування компонента С1 з антитілом, у результаті чого активується фактор С1r, що перетворює фактор С1s на активну серинову протеазу, яка послідовно активує фактори С4 і С2, що утворюють С3-конвертазу.

С3-конвертаза відщеплює від компонента С3 активну С5-конвертазу, що активує систему термінальних компонентів комплементу (С5–С9), які викликають руйнування ліпідно-білкового бішару чужорідних клітин.

Пропердиновий шлях активації комплементу не потребує участі імуноглобулінів і функціонує на ранніх етапах зараження до нагромадження антитіл. На першому етапі бактеріальні антигени взаємодіють із білком пропердином, що активує білок D, який є сериною протеазою і перетворює неактивний білок В на активний. Останній впливає на компонент С3 комплементу й відщеплює від нього С5-конвертазу. Наступні етапи активації комплементу повторюють класичний шлях активації.

Синдром набутого імунодефіциту (СНІД)

Синдром набутого імунодефіциту (СНІД) унікальний тим, що ВІЛ (вірус імунодефіциту людини — ретровірус, що спричинює захворювання) приєднується до СД4, зумовлюючи значне зменшення кількості СД4 Т-клітин хелперів. Втрата лімфоцитів хелперів призводить, відповідно, до порушення проліферації СД8 і В-клітин із втраченою імунною функцією та до загибелі від інфекції, зумовленої непатогенною флорою, або розвитку злоякісних пухлин.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Біохімічні та фізіологічні функції крові в організмі людини. Дихальна функція еритроцитів.
2. Гемоглобін: механізми участі в транспорті кисню та діоксиду карбону. Варіанти та патологічні форми гемоглобінів людини.
3. Буферні системи крові. Порушення кислот-

но-основного балансу в організмі (метаболічний та респіраторний ацидоз, алкалоз).

4. Біохімічний склад крові людини. Білки плазми крові та їх клініко-біохімічна характеристика.

5. Ліпопротеїни плазми крові: ліпідний та білковий (апопротеїни) склад. Гіперліпопроінемія.

6. Ферменти плазми крові; значення в ензімо-діагностиці захворювань органів і тканин.

7. Калікреїн-кінінова система крові та тканин. Лікарські засоби — антагоністи кініноутворення.

8. Небілкові органічні сполуки плазми крові. Неорганічні компоненти плазми.

9. Біохімічні та функціональні характеристики системи гемостазу.

10. Згортальна система крові; характеристика окремих факторів; механізми функціонування каскадної системи згортання крові.

11. Роль вітаміну К в реакціях коагуляції. Лікарські засоби — агоністи й антагоністи вітаміну К.

12. Антизгортальна система крові; характеристика антикоагулянтів. Спадкові порушення процесу згортання крові.

13. Фібринолітична система крові. Лікарські засоби, що впливають на процеси фібринолізу.

14. Імуноглобуліни; біохімічна характеристика окремих класів імуноглобулінів людини.

15. Медіатори та гормони імунної системи: інтерлейкіни; інтерферони; білково-пептидні фактори регуляції росту та проліферації клітин.

16. Система комплементу; біохімічні компоненти системи комплементу людини; класичний та альтернативний шляхи активації.

17. Біохімічні механізми імунодефіцитних станів: первинні (спадкові) та вторинні імунодефіцити.

18. Метаболізм порфіринів: будова гему; схема реакцій біосинтезу протопорфірину IX та гему.

19. Спадкові порушення біосинтезу порфіринів, типи порфірій.

20. Катаболізм гемоглобіну та гему (схема); утворення і будова жовчних пігментів.

21. Патобіохімія та види жовтяниць. Біохімічна діагностика жовтяниць.

Глава 18. ФУНКЦІОНАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ОРГАНІВ І ТКАНИН

18.1. БІОХІМІЧНІ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ. МЕТАБОЛІЗМ ПОРФІРИНІВ: ОБМІН ЖОВЧНИХ ПІГМЕНТІВ, БІОХІМІЯ ЖОВТЯНИЦЬ

Печінка — найбільший орган в організмі людини і тварин, у дорослої людини вона важить 1,5 кг. Хоча печінка становить 2–3 % маси тіла,

на неї припадає від 20 до 30 % споживаного організмом кисню.

Гепатоцити

Печінка складається приблизно з 3000 млрд клітин, 80 % з яких — це гепатоцити. Клітини печінки займають центральне місце в реакціях проміжного метаболізму.

Гепатоцит характеризується розвиненою системою ендоплазматичного ретикулула (від лат. *reticulum* — сіточка) (ЕР). Це комплекс окремих порожнин, утворених за рахунок укладання клітинної мембрани всередину клітини і пов'язаних з ядерною мембраною.

Ендоплазматичний ретикулум дає простір перебігу реакцій синтезу білків, фосфоліпідів, триацилгліцеролу, холестеролу або для зберігання і пересування отриманих сполук; ЕР із рибосомами на його поверхні називається шорстким ЕР, а без рибосом — гладким.

З гладким ретикулом пов'язана функція детоксикації метаболітів організму і чужорідних сполук.

Гепатоцити контактують із синусоїдами і жовчними каналцями. Синусоїди — це видозмінені капіляри, по яких циркулює змішана кров: венозна з портальної вени й артеріальна з печінкової артерії. Венозна кров із речовинами, що всмокталися в кишечнику, і артеріальна, насичена киснем із печінкової артерії, надходять у вузькі синусоїди і омивають клітини печінки. Клітини вилучають частину речовин, піддають їх метаболічним перетворенням і виділяють продукти перетворень у синусоїди або жовчні каналці. Вони збираються в дрібні жовчні протоки, а потім — у головну жовчну протоку. Кров із синусоїд збирається в центральну вену часточки, далі — в сублобулярну і, нарешті, в печінкову вени.

Функції печінки

Метаболічна. Продукти розщеплення поживних речовин надходять у печінку з травного тракту через портальну вену. У печінці перебігають процеси обміну білків і амінокислот, ліпідів, вуглеводів, біологічно активних речовин (гормонів, біогенних амінів і вітамінів, мікроелементів), регуляція водного обміну. У ній синтезується багато речовин, необхідних для функціонування інших органів.

Депонуюча. У печінці відбувається нагромадження вуглеводів (глікогену), білків, жирів, гормонів, вітамінів, мінеральних речовин. Із печінки в організм постійно надходять сполуки, необхідні для синтезу складних макромолекул.

Бар'єрна. У печінці здійснюється знешкодження (мікросомальне окиснення) чужорідних і токсичних сполук, що надійшли з їжею або утворилися в кишечнику, а також токсичних речовин екзогенного походження.

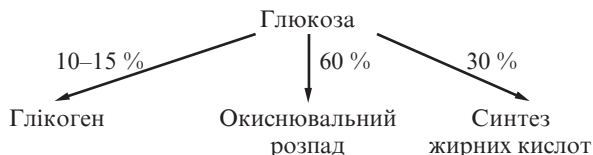
Екскреторна. Різні речовини ендогої екзогенного походження з печінки надходять у жовчні протоки і виводяться з жовчю (близько 40 сполук) або потрапляють у кров, а звідти виводяться нирками.

Гомеостатична. Печінка виконує важливі функції по підтримці постійного складу крові (гомеостазу), забезпечує синтез, нагромадження і виділення в кров різних метаболітів, а також поглинання, трансформацію й екскрецію багатьох компонентів плазми крові.

Роль печінки в метаболізмі вуглеводів, ліпідів і білків

Печінка стоїть на шляху руху речовин із травного тракту в загальний кровотік. Це дозволяє їй регулювати концентрацію в крові багатьох метаболітів, у першу чергу глюкози, ліпідів і амінокислот. Печінка поглинає велику кількість глюкози, перетворюючи її на глікоген (запаси енергетичного матеріалу). Печінка підтримує рівень глюкози в крові, розщеплює глікоген і здійснює глікогонеогенез. Для синтезу глюкози печінка використовує переважно лактат і α -аланін м'язової тканини, а також гліцерол жирової тканини. При недостатньому енергозабезпеченні (голодування, цукровий діабет, інтенсивні енерговитрати, не поповнювані за рахунок надходження вуглеводів ззовні) у печінці швидшають процеси розпаду жирних кислот, що супроводжуються інтенсифікацією кетогенезу (утворення ацетоацетату, β -гідроксибутирату, ацетону). Якщо ж енергозабезпечення організму достатнє, у цьому випадку жирні кислоти використовуються в синтезі триацилгліцеролів і фосфоліпідів, транспортних форм ліпідів. Свої енергетичні потреби печінка забезпечує переважно за рахунок α -кетокислот, що утворюються при дезамінуванні та трансамінуванні — інтенсивно перебігаючих процесах.

Вуглеводи. Печінка виконує важливу роль у підтримці фізіологічної концентрації глюкози в крові. Із загальної кількості глюкози, що надходить з їжею, печінкові клітини засвоюють велику її частину.



При незбалансованому харчуванні ці співвідношення змінюються (наприклад, при переважанні в дієті вуглеводів збільшується частка, що витрачається на синтез глікогену). При фізіологічній гіпоглікемії (велика перерва між їжею або інтенсивна м'язова робота) печінка здійснює внесок у відновлення нормального рівня глюкози за рахунок прискорення процесу розпаду глікогену (мобілізація глікогену) під дією глюкозо-6-фосфатази. Якщо запас глікогену вичерпаний, глюкоза може синтезуватися в процесі глікогонеогенезу з лактату, гліцеролу або вуглецевих скелетів майже всіх амінокислот, за винятком лейцину. Надмірне надходження глюкози з їжею збільшує в гепатоциті інтенсивність усіх шляхів її перетворення. Розпад жирних кислот і мобілізація ліпідів сповільнюється. Основна роль печінки — розщеплення глюкози — зводиться, перш за все, до нагромадження метаболітів-попередників, необхідних для біосинтезу жирних кислот і гліцеролу, отримання резервного полісахариду глікогену і, меншою мірою, до окиснення її до CO_2 і H_2O .

Фруктоза і галактоза, що надходять до печінки, фосфорилуються за допомогою специфічних ферментів фруктокінази і галактокінази. Перетворення фруктозо-1-фосфату поповнює пул гліцеральдегід-3-фосфату. Галактокіназа печінки плода і дитини характеризується показниками K_m (константа Міхаеліса) і V_{max} (максимальна швидкість ферментативної реакції) приблизно в 5 разів вищими, ніж у ферменту дорослої людини. Велика частина галактозо-1-фосфату в печінці перетворюється на глюкозо-1-фосфат, під дією гексозо-1-фосфат-уридилтрансферази. Спадкова втрата гексозо-1-фосфат-уридилтрансферази призводить до галактоземії — захворювання, для якого характерні розумова відсталість і катаракта кришталика.

Ліпіди. У печінці синтезуються жовчні кислоти — емульгатори жиру й активатори панкреатичної ліпази. У разі їхньої відсутності перетравлювання ліпідів практично не відбувається. Утруднене і всмоктування жирних кислот, для яких жовчні кислоти служать солюбілізаторами. З гепатоцита жовчні кислоти виділяються в жовчний каналець. Концентрація жовчі відбувається під час її переміщення в жовчний міхур, а також у ньому (утворення жовчі міхура). Печінка виділяє за добу 500–700 г жовчі, що містить до 90 % води. При високому вмісті жирних кислот у плазмі їх поглинання печінкою зростає, посилюється синтез триацилгліцеролів, а також β -окиснення жирних кислот відбувається в матриксі мітохондрій гепатоцитів. Жирні кислоти проникають у матрикс мітохондрій у вигляді ацилкарнітину, який утворюється з ацил-КоА і карнітину під дією ацил-КоА-карнітинтрансферази. Інгібує цей фермент малоніл-КоА, субстрат синтезу вищих жирних кислот. При дефіциті джерел енергії концентрація малоніл-КоА падає, активується ацил-КоА-карнітинтрансфераза, і починається перехід жирних кислот у матрикс, де вони залучаються до β -окиснення. При дефіциті карнітину або його попередників (холіну, метіоніну) активність цього ферменту різко падає. У результаті недостатності карнітину спостерігаються ліподистрофічні зміни гепатоцитів і міокарда (жирове переродження, або жирова інфільтрація). При розвитку жирової інфільтрації в гепатоцитах нагромаджуються нейтральні ліпіди, може відбутися розрив клітин, виникають жирові кісти і розростається сполучна тканина.

При дефіциті головного енергетичного матеріалу — глюкози — у печінці прискорюється β -окиснення жирних кислот, що призводить до підвищеного утворення кетонових тіл. З печінки вони надходять з течією крові до органів і тканин (м'язи, нирки, серце, мозок), де перетворюються на ацетил-КоА, який окиснюється за участю відповідних ферментів (цикл Кребса, ланцюг дихання). У самій печінці кетонові тіла не окиснюються.

При надлишку глюкози жирні кислоти використовуються для синтезу триацилгліцеролів і фосфоліпідів. Джерелами жирних кислот є кислоти, що надходять із травного тракту, з жирової

тканини (за рахунок ліполізу триацилгліцеролу), а також жирні кислоти, синтезовані в печінці. У цитоплазмі печінкових клітин синтезується здебільшого пальмітинова кислота, а в мітохондріях відбувається подовження існуючих ланцюгів жирних кислот.

У печінці здійснюються інтенсивний розпад фосфоліпідів і їхній синтез. Синтез фосфоліпідів лімітується кількістю азотних основ (етаноламін, холін) або сполуками, які можуть бути донорами метильних груп і брати участь в утворенні холіну (наприклад метіонін). Останні дістали назву ліпотропних речовин.

При недостатньому надходженні або утворенні холіну синтез фосфоліпідів із жирних кислот стає неможливим або різко знижується, у результаті триацилгліцероли відкладаються в печінці. У цьому випадку говорять про жирову інфільтрацію печінки, яка може перейти в жирову дистрофію.

Печінці належить важлива роль у регуляції обміну холестеролу. Початкова речовина для синтезу холестеролу — ацетил-КоА, що є компонентом енергетичного фонду клітини (ацетил-КоА \rightarrow цикл Кребса \rightarrow дихальний ланцюг \rightarrow АТФ). Отже, швидкість синтезу холестеролу залежить від рівня забезпечення організму енергією. Надмірне харчування, що супроводжується надмірним утворенням у гепатоцитах ацетил-КоА, стимулює процеси ліпогенезу взагалі й синтезу холестеролу — зокрема. Особливо активні щодо цього прості вуглеводи і насичені жири. Гальмують синтез холестеролу (за принципом негативного зворотного зв'язку) холестерол і жовчні кислоти, які надходять у печінку з кров'ю. Ці два продукти гальмують β -гідрокси- β -метил-глутарил-КоА-редуктазу, що каталізує синтез мевалонінової кислоти — проміжного продукту синтезу холестеролу.

Розпад і виведення холестеролу з організму в результаті його окиснення. Ключовий фермент процесу — холестерол-7- α -гідроксилаза, що локалізується в мембранах ендоплазматичного ретикулула гепатоцитів. Основні продукти перетворення холестеролу — холева і дезоксихолева кислоти, які в реакціях кон'югації перетворюються на гліко- і таурохолеві кислоти.

Значною є роль гепатоцитів в утворенні транспортних форм ліпідів, а саме ЛПДНЩ і ЛПВЩ. У печінці нагромаджуються ліпідні компоненти ліпопротеїнів (жирні кислоти, моно-, ди- і триацилгліцероли, холестерол, фосфоліпіди) і синтезуються їх білкові компоненти — апопротеїни.

Білки й амінокислоти. Печінка виконує центральну роль в обміні білків. Її функції: синтез специфічних білків плазми; утворення сечовини і сечової кислоти; синтез холіну і креатину; трансамінування і дезамінування амінокислот.

Всі альбуміни плазми (13–18 г щодня), 75–90 % α -глобулінів і 50 % β -глобулінів синтезуються гепатоцитами. Лише γ -глобуліни продукуються не гепатоцитами, а системою макрофагів, до якої належать зірчасті ретикулоендотеліоцити

(Купфера). В основному ж γ -глобуліни утворюються поза печінкою.

У гепатоцитах синтезуються специфічні білки згортання крові: фібриноген, протромбін, проконвертин, проакцелерин, а також ліпопротеїни крові (ЛПДНЩ, ЛПВЩ).

При захворюваннях печінки визначення функціонального складу білків плазми (або сироватки крові) нерідко являє інтерес в діагностичному і прогностичному плані.

Так, патологічний процес у гепатоцитах різко знижує їх синтетичні можливості, внаслідок чого вміст альбуміну в плазмі крові різко падає, що може призвести до зниження в ній онкотичного тиску, розвитку набряків, а потім асцити. Відмічено, що при цирозах печінки, що перебігають з явищами асцити, вміст альбумінів у сироватці крові на 20 % нижчий, ніж при цирозах без асцити.

Печінка посідає центральне місце в обміні амінокислот, тут інтенсивно перебігають процеси дезамінування, трансамінування. Висока швидкість цих процесів у гепатоцитах забезпечується високою активністю глутаматдегідрогенази. Через це печінка займає ключові позиції в підтримці амінокислотного балансу організму. Лише мала частина амінокислот, що всмоктуються в процесі травлення, проходить через печінку транзитом, велика їх частина затримується в гепатоцитах, включаючись у біосинтез білків або катаболізм.

При ураженнях печінки порушується процес дезамінування амінокислот, що призводить до збільшення їх концентрації в крові та сечі (норма — 2,9–4,3 ммоль/л, при тяжких захворюваннях печінки — до 21 ммоль/л), що спричинює аміноацидурію.

Утворення сечовини відбувається в печінці. Синтез сечовини пов'язаний з витратою досить значної кількості енергії (на утворення 1 молекули сечовини витрачається 3 молекули АТФ). При захворюваннях печінки, коли кількість АТФ зменшена, синтез сечовини порушується. Показове в цих випадках визначення в сироватці відношення азоту сечовини до азоту амінокислот. У нормі це відношення становить 2 : 1, а при тяжкому ураженні печінки — 1 : 1. Значна частина сечової кислоти у людини утворюється в печінці, де багато ферменту ксантинооксидази, за допомогою якого гіпоксантин і ксантин перетворюються на сечову кислоту.

Синтез креатину відбувається в печінці (попередник гуанідинацетат синтезується в нирках), звідки з течією крові надходить у м'язи. Існує два види креатину: екзогенний, тобто креатин харчових продуктів (м'ясо, печінка) і ендогенний — що синтезується в тканинах.

Гомеостатична функція печінки. Тканини вищих організмів потребують постійного надходження макроергічних речовин і попередників для синтезу складніших макромолекул. Потреби організму забезпечуються за рахунок харчування, проте воно не завжди буває регулярним і рівномірним. Перерви в надходженні поживних речовин компенсуються печінкою, яка разом з

іншими тканинами, перш за все жировою тканиною, виконує компенсаторні й депонуючі функції.

У біохімії харчування розрізняють фазу резорбції (всмоктування) і фазу пострезорбції, яка охоплює стани організму під час розвантажувальних днів (зокрема при дотриманні поста), аж до повного голодування. Перехід між цими двома фазами визначається концентрацією макроергічних сполук і в плазмі крові регулюється гормонами й вегетативною нервовою системою.

Фаза резорбції. Фаза резорбції починається безпосередньо під час їди й триває приблизно 2–3 год. За рахунок перетравлювання їжі в плазмі крові тимчасово збільшується концентрація глюкози, амінокислот, жирів (триацилгліцеролів). Підшлункова залоза відповідає на це зміною викиду гормонів: збільшенням секреції інсуліну і зменшенням секреції глюкагону. Збільшення співвідношення інсулін/глюкагон в поєднанні з багатими на енергію субстратами стимулює перехід тканин (особливо печінки, м'язової та жирової тканин) в анаболічну фазу. У печінці з субстратів, що надходять, синтезуються глікоген і жири. Глікоген депонується в печінці, жири у вигляді ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) потрапляють у кров. У м'язовій тканині також за рахунок глюкози поповнюється запас глікогену, а з амінокислот синтезуються білки. У жирову тканину жири надходять із печінки і шлунково-кишкового тракту (у складі ліпопротеїнів), а потім депонуються у вигляді жирових крапель. Серце і нервова тканина використовують глюкозу як джерело енергії. Клітини серцевого м'яза є у певному розумінні «всеїдними», оскільки можуть одержувати енергію і з інших субстратів.

Фаза пострезорбції. При припиненні надходження їжі незабаром розпочинається фаза пострезорбції. Спочатку відбувається зміна секреції гормонів підшлункової залози: тепер α -клітини секретують більше глюкагону, а β -клітини припиняють секрецію інсуліну. При низькому значенні співвідношення інсулін/глюкагон у плазмі крові запускається процес проміжного метаболізму в зворотному напрямку. Тепер організм змушений повернутися до використання власних енергетичних резервів: починається розщеплення запасних речовин — глікогену, жирів, білків, запускається продукування макроергічних субстратів у печінці, де відбувається мобілізація глікогену (глікогеноліз). Отримана глюкоза використовується для забезпечення інших тканин, перш за все мозку, кори надниркових залоз і еритроцитів, які не мають у своєму розпорядженні власних резервів глюкози. Якщо через кілька годин резерви глюкози в печінці вичерпуються, посилюється процес глюконеогенезу. Субстрати надходять із м'язів (амінокислоти) і жирової тканини (гліцерол). Вивільнені жирні кислоти використовуються печінкою для синтезу кетонних тіл (ектогенез), які потрапляють у кров і служать найважливішим джерелом енергії в пострезорбційній фазі. У м'язах різноманітні резерви

глюкози використовуються виключно для власних потреб. Амінокислоти, що утворюються за рахунок повільного розщеплення білків, надходять у печінку й утилізуються в процесі глюконеогенезу. У жировій тканині гормони ініціюють ліполіз із утворенням гліцеролу і жирних кислот. Жирні кислоти служать джерелом енергії в багатьох тканинах (за винятком мозку й еритроцитів).

Розпад гемоглобіну в тканинах (утворення жовчних пігментів)

Розпад гемоглобіну відбувається в результаті руйнування еритроцитів, спричиненого фізіологічними (старіння і загибель клітин) або патологічними (гемоліз) процесами. Тривалість життя еритроцитів — 90–120 діб, потім вони руйнуються і вивільняється гемоглобін. Органами, в яких відбувається руйнування еритроцитів і розпад гемоглобіну, є печінка, селезінка і кістковий мозок. Розпад гемоглобіну починається з розриву метинового зв'язку ($-CH=$) між кільцями порфірину. Цей процес каталізує НАДФ-вмісна гемоксигеназа, утворюється зелений пігмент вердоглобін, у молекулі якого зберігаються атом Феруму і білковий компонент. У цьому окиснювальному перетворенні беруть участь вітамін С, НАДФН та іони Fe^{2+} .

У зв'язку з частковим розкриттям порфіринового кільця відбувається окиснення Fe^{2+} у Fe^{3+} . Потім вердоглобін розщеплюється на білок глобін і вердогематин зеленого кольору, який,

втрачаючи залізо, перетворюється на білівердин, що також має зелений колір. Білівердин відновлюється білівердинредуктазою за участю $НАДФН+H^+$ і перетворюється на білірубін — жовчний пігмент червоно-жовтого кольору, токсичний, що не розчиняється у воді (рис. 18.1).

Білірубін утворює комплекси з білками крові (здебільшого альбумінами) й у вигляді таких комплексів надходить у кров. Утворюючи комплекси з альбумінами плазми, білірубін у вигляді асоційованого колоїду циркулює в крові, не виділяючись із сечею. Білірубін значною мірою зумовлює жовтий колір плазми. Цей білірубін називають «вільним», «некон'югованим» або «непрямим», тому що для його визначення в крові необхідно спочатку осадити білки спиртом чи іншим осаджувачем, а потім провести реакцію з діазореактивом Ерліха (тобто відбувається непряма реакція). Білірубін, що утворився в клітинах макрофагів, адсорбований на альбуміні, надходить течією крові в печінку, де знешкоджується шляхом сполучення з глюкуроною кислотою (реакція кон'югації), що каталізує фермент глюкуронілтрансфераза (УДФ-глюкуронілтрансфераза). Цей фермент міститься переважно в гладкій ендоплазматичній мережі. Кожна молекула білірубину взаємодіє з двома молекулами уридиндифосфоглюкуронової кислоти (УДФГК), утворюючи диглюкуронід білірубину, який добре розчиняється у воді й дає пряму реакцію з діазореактивом Ерліха. Тому такий білірубін називають «зв'язаним», «кон'югованим» або «прямим».

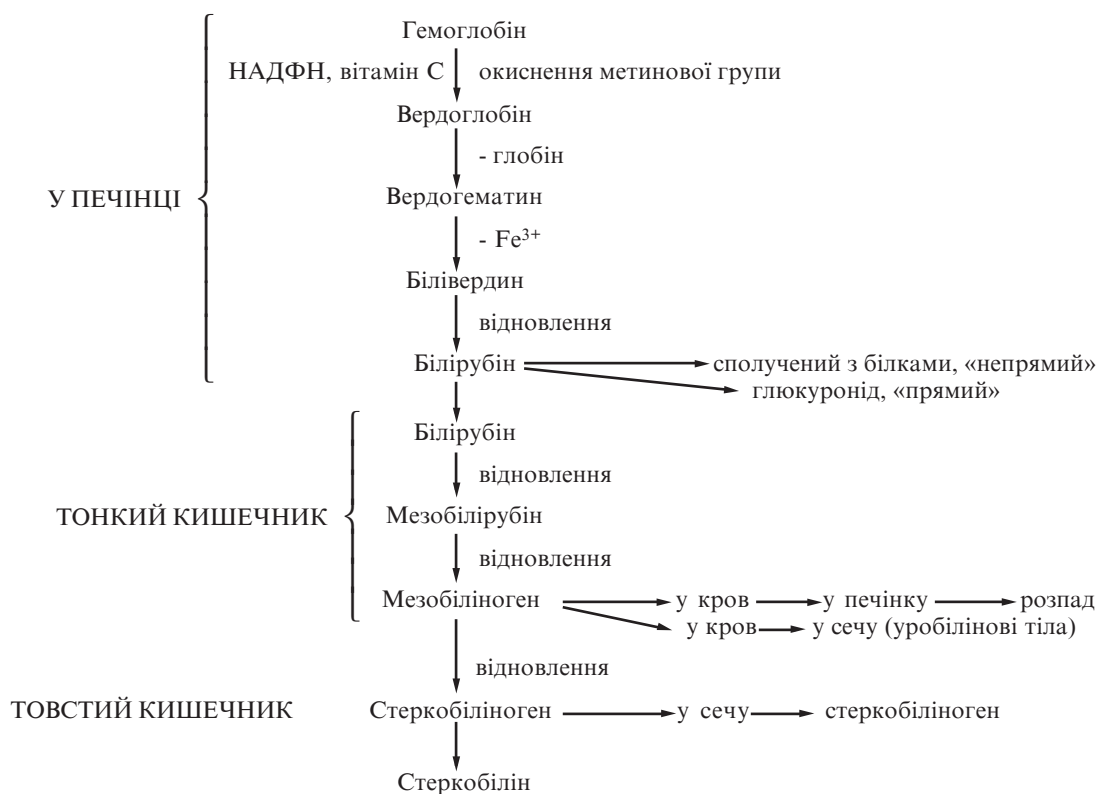
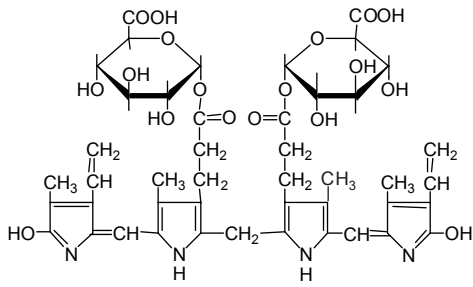


Рис. 18.1. Розпад гемоглобіну в тканинах



Диглюкуронід білірубину

У крові здорової людини відносно постійна кількість загального — кон'югованого («прямого») і некон'югованого («непрямого») білірубину — 7–25 мкмоль/л, причому непрямого білірубину майже 75 %. Якщо врахувати, що білірубін токсичний (особливо виявляється його нейротоксична і капіляротоксична дія), а диглюкуронід білірубину менш токсичний, то можна дійти висновку, що в результаті кон'югації білірубину з глюкуроною кислотою відбувається його детоксикація і полегшується виведення у порожнину кишечника. Зв'язаний з глюкуроною кислотою, водорозчинний кон'югований білірубін надходить у жовч і виводиться з нею в тонку кишку. Тут під дією мікрофлори від нього відщеплюється глюкуронова кислота і відбувається його відновлення з послідовним утворенням мезобілірубину і мезобіліногену. З тонкої кишки частина мезобіліногену резорбується через кишкову стінку, потрапляє в порталну вену і течією крові переноситься в печінку, де розщеплюється до ди- і трипіролів. Отже, у нормі в загальне коло кровообігу і сечу мезобіліноген не потрапляє. Якщо печінка уражена патологічним процесом, то мезобіліноген, що потрапив до печінки, не руйнується, надходить у загальний кровообіг, проходить нирковий бар'єр і з'являється у сечі (уробіліноген). Основна кількість мезобіліногену з тонкої кишки потрапляє в товсту і тут відновлюється до стеркобіліногену. У нижній ділянці товстої кишки основна кількість стеркобіліногену окиснюється в стеркобілін і виділяється з калом (до 400 мг на добу). Незначна частина стеркобіліногену всмоктується в кров і через гемороїдальні вени і нижню порожнисту вену потрапляє до нирок, а потім у сечу (до 4 мг на добу). Оскільки в сечі, крім стеркобіліногену, може міститися мезобіліноген, їх разом називають *уробілінові тіла*.

Уробілінурія — це уробілінові тіла в сечі:

1. Ураження гепатоцитів супроводжується порушенням їх здатності руйнувати до ди- і трипіролів мезобіліноген, що всмоктався з тонкого кишечника, і тому його вміст у сечі зростає. У розпал вірусного гепатиту можливе зниження і навіть зникнення уробілінових тіл (за рахунок мезобіліногену) в сечі. Це пояснюється тим, що застій жовчі, який збільшується в печінкових клітинах, веде до зменшення виділення білірубину, отже, до зменшення утворення мезобіліногену. Надалі, коли функція печінкових клітин починає відновлюватися, жовч виділяється у ве-

ликій кількості, при цьому знову з'являються уробілінові тіла у великих кількостях, що в даній ситуації розцінюється як сприятлива прогностична ознака.

2. Збільшення інтенсивності гемолізу спостерігається при гемолітичних анеміях. Крім збільшення рівня некон'югованого білірубину, у крові при гемолітичній жовтяниці підвищується виділення уробілінових тіл із сечею, оскільки у кишечнику у великих кількостях утворюються стеркобіліноген, стеркобілін, які всмоктуються в систему нижньої порожнистої вени (потрапляють спочатку в гемороїдальні вени) і надалі виводяться з сечею.

3. При кишковій непрохідності, ентероколітах у сечі визначають уробілінові тіла (стеркобіліноген, стеркобілін).

Залежно від того, який тип білірубину присутній в сироватці крові — некон'югований або кон'югований, гіпербілірубінемії класифікуються як постгепатитна (некон'югована) і регургітаційна (кон'югована). У клінічній практиці найширше розповсюджений поділ жовтяниць на гемолітичні, паренхіматозні й обтураційні. Гемолітичні та паренхіматозні жовтяниці — це некон'югована, а обтураційні — кон'югована гіпербілірубінемія. У деяких випадках жовтяниця може бути змішаного патогенезу.

Збільшення вмісту білірубину в крові може зумовлюватися такими причинами:

1. Збільшення інтенсивності гемолізу еритроцитів.

2. Ураження паренхіми печінки з порушенням її білірубінвідільної функції.

3. Порушення відтоку жовчі з жовчних шляхів у кишечник.

4. Випадання ферментної ланки, що забезпечує біосинтез глюкуронідів білірубину.

5. Порушення печінкової секреції кон'югованого білірубину в жовч.

Збільшення інтенсивності гемолізу спостерігається при *гемолітичних анеміях*. Гемоліз також посилюється при В₁₂-дефіцитних анеміях, малярії, масивних крововиливах у тканини, легеневих інфарктах, синдромі розтрощування.

У результаті посиленого гемолізу відбувається інтенсивне утворення в ретикулоендотеліальних клітинах вільного (некон'югованого) білірубину з гемоглобіну. Проте навіть при посиленому гемолізі, внаслідок значної здатності печінки до кон'югації білірубину, некон'югована білірубінемія переважно незначна (менше 68,4 мкмоль/л). Окрім збільшення рівня загального білірубину, при гемолітичній жовтяниці підвищується виділення уробілінових тіл із сечею, яскраво забарвлюється кал, оскільки в кишечнику у великій кількості утворюються стеркобіліноген і стеркобілін.

Отже, для гемолітичної жовтяниці в типових випадках характерні такі клініко-лабораторні показники:

— у крові підвищений рівень непрямого (некон'югованого) білірубину;

— у сечі — відсутність білірубину і позитивна реакція на уробілінові тіла (уробілінурія);

— яскраво-забарвлений кал (стеркобіліноген, стеркобілін);

— збільшення розмірів селезінки.

При *обтураційній (механічній) жовтяниці* порушений відтік жовчі (закупорка загальної жовчної протоки каменем, рак голівки підшлункової залози, глистна інвазія). Це призводить до деструктивних змін у печінці й потраплення елементів жовчі (білірубін, холестерол, жовчні кислоти) у кров:

— загальна кількість білірубину в крові підвищена (за рахунок кон'югованого білірубину);

— у сечі — високий рівень кон'югованого білірубину, негативна проба на уробілінові тіла; — незабарвлений кал;

— свербіж шкіри (подразнення нервових закінчень жовчаними кислотами, що відкладаються в шкірі).

При *паренхіматозній жовтяниці*, що виникає при вірусному ураженні печінки, при цирозах печінки, під дією токсичних речовин (хлороформ, чотирихлористий карбон), розвиваються запально-деструктивні процеси в печінці, що порушують її функції. На початкових етапах гепатиту процес утворення кон'югованого білірубину зберігається, проте в умовах деструкції печінкової паренхіми він частково потрапляє у велике коло кровообігу.

Для паренхіматозної жовтяниці характерні такі ознаки:

— підвищення в крові концентрації загального білірубину за рахунок переважно кон'югованого;

— у сечі високий рівень кон'югованого білірубину (білірубінурія);

— реакція на уробілінові тіла позитивна (уробілінурія), оскільки ураження гепатоцитів супроводжується порушенням їх здатності руйнувати до ди- і трипіролів мезобіліноген, що всмоктався з кишечнику;

— кал гіпохолічний, оскільки в ньому знижений вміст стеркобіліногену, стеркобіліну.

Найчастішою формою некон'югованої гіпербілірубінемії є *«фізіологічна жовтяниця» у новонароджених*. Причини її — прискорений гемоліз еритроцитів і незрілий стан печінкової системи поглинання, кон'югації (знижена активність УДФ-глюкуронілтрансферази) і секреції білірубину. Через те, що білірубін, накопичений у крові, знаходиться в некон'югованому стані, коли його концентрація в крові перевищує рівень насичення білірубину (34,2–42,75 мкмоль/л), він здатний подолати гематоенцефалічний бар'єр. Це може призвести до гіпербілірубінемічної енцефалопатії. Для лікування такої жовтяниці ефективно стимулювання системи кон'югації білірубину фенобарбіталом.

Крім того, у немовлят наявна значна кількість гемоглобіну F, який домінував у плода, а після народження розпадається і заміщується на гемоглобін A.

Також у немовлят може виникати жовтяниця через резус-конфлікт матері й плода, у результаті чого в немовляти відбувається посилений гемоліз еритроцитів. У таких випадках виконують масивне переливання крові.

18.2. СЕЧОУТВОРЮВАЛЬНА ФУНКЦІЯ НИРОК. НОРМАЛЬНІ ТА ПАТОЛОГІЧНІ КОМПОНЕНТИ СЕЧІ

В організмі вищих тварин і людини існують механізми збереження сталості реакції крові й інших тканин і динамічної сталості вмісту органічних і неорганічних речовин. Серед цих механізмів найголовніше місце посідає сечоутворення та виділення з сечею різних кінцевих і шкідливих продуктів. Органом сечоутворення є нирки, які беруть участь у регуляції водно-електролітного балансу, підтриманні кислотно-лужної рівноваги, осмотичного та кров'яного тиску, виведення кінцевих продуктів азотистого обміну.

Нирки витрачають велику кількість енергії на виконання фізіологічних функцій, тому в них активно перебігають аеробні окиснювальні процеси. Незважаючи на незначну масу нирок (близько 300 г), вони використовують до 10 % поглинутого кисню. У кірковому шарі нирок переважають аеробні окиснювальні процеси, а у мозковому — анаеробні. Про це свідчить характер ізоферментного спектру лактатдегідрогенази. У нирках досить активно відбувається глюконеогенез, реакції трансамінування. Нирки беруть активну участь у синтезі креатину на етапі утворення гуанідинацетату з аргініну і гліцину. Гліцинамідинотрансфераза є тканинноспецифічним ферментом для нирок, підвищення його активності у крові свідчить про ураження нирок (хронічний пієлонефрит, хронічний нефрит).

Головна структурно-функціональна одиниця ниркової паренхіми — нефрон. Він складається з капілярного клубочка, оточеного двошаровою капсулою, яка переходить у систему каналців. У нефроні відбуваються три процеси: клубочкова фільтрація, реабсорбція і секреція у каналцях. Характерною особливістю будови капілярних клубочків є те, що капіляр, який приносить кров у клубочок, має більший діаметр, ніж капіляр, який виносить кров із клубочка. Виникає надлишок тиску в клубочку — з 9 до 30 мм рт. ст.), що лежить в основі фільтрації. Внаслідок фільтрації крізь стінки капілярів із плазми крові в капсулу переходять усі речовини, крім білків, оскільки вони не проходять через стінку капіляра. Цей безбілковий ультрафільтрат крові дістав назву первинної сечі. Кількісний вміст її компонентів дорівнює вмісту цих речовин у плазмі крові. За добу в людини утворюється до 180 л первинної сечі. Ультрафільтрат потрапляє у звивисту частину проксимального каналця, де відбувається майже повна реабсорбція у кров тих органічних речовин, які ще можуть бути використані організмом (амінокислоти, глюкоза, креатин та ін.), води, солей (хлориду натрію). Зворотному всмоктуванню не підлягають майже 50 % сечовини, сечова кислота, креатинін, кон'юговані (парні) сполуки та деякі інші кінцеві продукти обміну. У дистальних каналцях нефрону відбувається секреція лугів, кислот, деяких пігментів, лікарських препаратів. Внаслідок реабсорбції та секреції з

первинної сечі утворюється вторинна сеча, яка вже значно відрізняється за своїм складом від плазми крові. Цей процес пов'язаний з функціональними особливостями клубочків, проксимальних і дистальних каналців нирок. Дуже важливим є визначення стану клубочкової фільтрації — «кліренсу» — кількості крові у мілілітрах, яка звільняється від певних речовин за 1 хв при проходженні крові через нирки:

$$C = \frac{K_c}{K_{кр}} \cdot V,$$

де C — кліренс, мл/хв; K_c — концентрація сполуки у сечі; $K_{кр}$ — концентрація сполуки у крові; V — кількість сечі за 1 хв, мл.

Реабсорбція і секреція речовин регулюються ЦНС і гормонами. Реабсорбція води зростає під впливом вазопресину, який активує гіалуронідазу, що деполімеризує гіалуронову кислоту і збільшує проникність стінки каналців для води. Тобто вазопресин знижує осмотичний тиск у тканинах організму. Кількість реабсорбованого натрію залежить від загального рівня його в організмі й регулюється альдостероном, який посилює реабсорбцію натрію й екскрецію калію. Кожний іон Натрію зв'язує майже 25 молекул води, під впливом альдостерону відбувається затримка води в організмі та з'являються набряки. На відміну від вазопресину, альдостерон підвищує осмотичний тиск. На екскрецію натрію впливає натрій-уретичний гормон (пептид). Посилюючи екскрецію натрію, він сприяє виведенню води з організму, зниженню об'єму циркулюючої рідини, осмотичного тиску крові й артеріального тиску.

У проксимальних каналцях реабсорбція фосфатів залежить від вмісту у плазмі крові кальцію, паратгормону, кальцитоніну і вітаміну D_3 . Паратгормон, кальцитонін і вітамін D_3 виявляють синергізм у посиленні реабсорбції кальцію у нирках, але паратгормон і кальцитонін також синергічно посилюють виведення фосфатів, тимчасом як кальцитріолі посилюють реабсорбцію фосфатів.

Нирки відіграють значну роль у регуляції артеріального тиску. В крові людини наявний глікопротеїн ангіотензиноген — неактивний попередник гормону. При зниженні кровотоку в капілярних клубочках нефрону, що спостерігається при гіпотонії, розвивається гіпоксія, клітини паренхіми нирок, що знаходяться в юстомедулярній зоні, починають продукувати протеолітичний фермент ренін (див. рис. 15.17). Відбувається обмежений протеоліз ангіотензиногену, він перетворюється на ангіотензин I, який під впливом ще однієї пептидази — карбоксикаптепсину (ангіотензинперетворювального ферменту) — перетворюється на ангіотензин II — найпотужніший вазоконстриктор. Внаслідок звуження діаметра судин посилюється кровообіг, зокрема у судинах нирок, відбувається насичення тканини киснем, зникає гіпоксія, і ренін перестає продукуватися нирками. При гострих запа-

леннях паренхіми нирок розвивається гіпоксія, яка стимулює продукцію нирками реніну, що викликає звуження судин і подальше посилення гіпоксії, що, у свою чергу, спричинює нове продукування реніну. Виникає хибне коло, яке призводить до розвитку ниркової форми артеріальної гіпертензії.

Нирки відіграють значну роль у регуляції кислотно-лужної рівноваги за рахунок реабсорбції іонів Натрію й екскреції іонів Гідрогену. Механізм полягає у тому, що реабсорбція іонів Натрію сприяє перетворенню двозаміщених фосфатів на однозаміщені й замість іонів Натрію у ниркові каналці виділяються протони, які перетворюються з бікарбонатів на вугільну кислоту. Під впливом карбоангідази з вугільної кислоти утворюються протони, які обмінюються на еквівалентні іони Натрію і виводяться з організму. Ще один шлях збереження натрію в організмі — утворення у нирках аміаку з глутаміну, що в різних органах є тимчасовою транспортною формою аміаку, який використовується для нейтралізації та виведення кислих еквівалентів із сечою.

Загальні властивості сечі

Дослідження складу сечі має велике значення для діагностики багатьох захворювань нирок, а також інших органів. Кількість екскретованої сечі може збільшуватися (*поліурія*) після вживання деяких продуктів харчування (кавуни, кабаки), при захворюваннях нирок (хронічні нефрити та пієлонефрити), ендокринних захворюваннях (цукровий та нецукровий діабет).

Зменшення кількості сечі (олігурія) спостерігається при зменшенні вживання рідини, захворюваннях, що супроводжуються втратою рідини (ентерити, блювання), отруєннях важкими металами, ураженнях паренхіми нирок, сечокам'яній хворобі.

Забарвлення сечі може залежати від продуктів харчування, наявності в ній крові, гемоглобіну та продуктів його перетворення, вживання ліків (саліцилатів).

Прозорість сечі може залежати від наявності в ній солей (фосфатів, оксалатів, уратів), клітинних елементів, бактерій.

Відносна щільність сечі коливається у широкому діапазоні — від 1,002 до 1,035 (найчастіше — 1,016–1,022). За зміною щільності сечі можна оцінювати концентраційну здатність нирок. При нирковій недостатності постійно виділяється сеча з однаковою відносною щільністю, що дорівнює щільності первинної сечі ($\approx 1,010$) — це явище дістало назву *ізостенурії*. Нецукровий діабет характеризується виділенням сечі, щільність якої близька до щільності води (1,001–1,004). Висока щільність сечі на фоні олігурії характерна для гострого нефриту, а на фоні поліурії — спостерігається при цукровому діабеті.

Концентрація іонів Гідрогену у сечі, на відміну від крові, варіює у досить широкому слабкислому діапазоні (рН=5,3–6,5). На реакцію сечі суттєво впливає їжа (м'ясна їжа сприяє кислій ре-

акції, а рослинна — лужній). Кислу реакцію зумовлюють однозаміщені фосфати (вона спостерігається при цукровому діабеті — за рахунок кетонних тіл, при голодуванні), лужну — двозаміщені фосфати, бікарбонати, мікробні ураження сечовивідних шляхів, деякі ліки.

Органічні речовини, що входять до складу сечі, можна розділити на обов'язкові компоненти (містяться у сечі здорових людей), кількість яких може змінюватися при захворюваннях, і патологічні компоненти (яких немає у сечі здорових людей), що виявляються при захворюваннях.

Азотомісні органічні речовини. За добу з сечею виділяється до 18 г азотомісних речовин (загальний азот сечі). У принципі, формують структуру загального азоту сечі компоненти залишкового азоту крові. Саме вони фільтруються у нирках, і значна їх частина екскретується. Кількість загального азоту сечі може збільшуватися при споживанні великої кількості продуктів тваринного походження.

Сечовина становить до 90 % загального азоту сечі. Кількість сечовини збільшується після споживання великої кількості білкової їжі, при розпаді клітин (кахектичні стани, післяопераційний період), після прийому деяких лікарських препаратів (зокрема гормонів). Зниження вмісту сечовини, особливо на фоні підвищення екскреції азотомісних речовин, свідчить про тяжке ураження печінки, що супроводжується порушенням знешкоджувальної (сечовиноутворювальної) функції печінки.

Креатинін утворюється у м'язах у результаті креатинкіназної реакції та є ангідридом креатину. Кількість креатиніну в сечі залежить від маси м'язів. Екскреція креатиніну — величина досить стала, він виводиться з сечею практично повністю, тому кліренс його досить високий. Існує система оцінки екскреції різних речовин по відношенню до екскреції креатиніну.

Креатин у дорослих абсорбується майже повністю і тому у сечі не виявляється. У дітей він з'являється у сечі за фізіологічних умов через посилення синтезу креатину і запізнювання його фіксації у м'язах. Креатин з'являється у сечі жінок після пологів унаслідок інволюції матки і деструкції великої кількості міофібрил. Але найголовнішою причиною креатинурії є м'язові дистрофії, коли м'язи нездатні фіксувати і використовувати креатин, тоді виявлення креатину в сечі — об'єктивний критерій міодистрофії.

Амінокислоти у дорослих також майже не виводяться з сечею. Їх появу можна спостерігати у малих дітей. Гіпераміноацидурія виникає при захворюваннях печінки через порушення дезамінування і трансамінування, при злоякісних пухлинах внаслідок розпаду білків, при лікуванні кортикостероїдами унаслідок їх катаболічної дії. У сечі можуть з'являтися окремі амінокислоти при спадкових порушеннях їх метаболізму (фенілаланін, пролін, валін, цитрулін).

Сечова кислота екскретується з сечею — менше 1 г на добу. Кількість її може зростати при вживанні значної кількості м'яса, риб'ячої ікри,

тобто продуктів, багатих на нуклеопротейни. Вміст її у сечі зростає при деструкції нуклеарних структур клітин, при подагрі, а також при вживанні лікарських препаратів (саліцилатів, кортикостероїдів).

Гіпурова кислота є кон'югованою сполукою, що утворюється у печінці шляхом сполучення бензенової кислоти з гліцином. Такою ж сполукою є індикан — продукт взаємодії індолу і сірчаної кислоти. Кількість цих кон'югованих сполук є показником посиленого розпаду білків ендогенного або екзогенного походження в організмі з вивільненням циклічних амінокислот, а також знешкоджувальної функції печінки.

Білки у нормі не виявляються, а їх поява у сечі (*протеїнурія*) є наслідком порушення фільтраційної функції нирок (ниркова протеїнурія) або ураження сечовивідних шляхів запального, деструктивного характеру (*позаниркова протеїнурія*).

Кров у сечі у здорових людей також не виявляється, а її поява (*гематурія*) свідчить про порушення фільтраційної функції нирок (*ниркова гематурія*) або ушкодження сечовивідних шляхів запального, деструктивного чи травматичного походження (*позаниркова гематурія*). Диференційною ознакою цих гематурій може бути мікроскопія осадку сечі. При позанирковій гематурії еритроцити «свіжі».

Глюкоза в сечі у здорових людей не виявляється, а її поява (*глюкозурія*) — наслідок порушення процесу реабсорбції, коли концентрація глюкози у крові перевищує «нирковий бар'єр» (10 ммоль/л). Глюкозурія може бути аліментарного походження (вживання великої кількості солодкого) або проявом цукрового діабету, коли зростання вмісту глюкози у крові є одним із проявів захворювання.

Слід підкреслити ще один важливий момент. Оскільки реабсорбція є енергозалежним процесом, а при цукровому діабеті біоенергетика страждає, то при однаковій концентрації глюкози у крові за умов аліментарного та діабетичного її підвищення у сечі вміст глюкози буде вищим при цукровому діабеті. У сечі можуть з'являтися інші моносахариди (фруктоза, галактоза) внаслідок спадкової недостатності ферментів їхнього метаболізму.

Кетонові тіла у здорових людей у сечі не виявляються, попри те, що печінка постійно продукує і виводить у кров ацетоацетат. Пояснюється це тим, що тканини поглинають із крові ацетоацетат і залучають його до окиснення у ЦТК з отриманням 24 молекул АТФ на молекулу ацетоацетату. Коли ж порушується біоенергетика і функціонування ЦТК, оксалоацетат нагромаджується у крові й потрапляє у сечу, спричинюючи кетонурію. Найбільших рівнів вона досягає при цукровому діабеті, але може спостерігатися при голодуванні, тиреотоксикозі, черепно-мозкових травмах. У дитячому віці кетонурія може бути наслідком недосконалості захисних систем і генералізованої відповіді організму на інфекційні захворювання або реакцією на перегодовуван-

ня дітей висококалорійною їжею і «перевантаження» ЦТК. У сечі може збільшуватися кількість метаболітів пігментного обміну (білірубину — білірубінурія; уробілінових тіл — уробілінурія) через порушення процесів утворення і виведення їх у печінці. Це спостерігається при захворюваннях, токсичних ураженнях печінки, жовтяницях. Диференційна значущість виявлення метаболітів пігментного обміну докладно розглядалася вище.

18.3. БІОХІМІЯ М'ЯЗІВ, М'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ ТА СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ

Біохімія м'язів

М'язова тканина становить 40–42 % від маси тіла людини. Розрізняють три типи м'язової тканини: скелетну мускулатуру, серцевий м'яз і гладку мускулатуру. Існує також поділ м'язової тканини на гладкі та смугасті м'язи.

До смугастих м'язів належать скелетні м'язи, а також м'язи язика, верхньої третини стравоходу, зовнішні м'язи очного яблука та деякі інші. Морфологічно міокард належить до смугастої мускулатури, а за деякими іншими ознаками він займає проміжне положення між гладкими і смугастими м'язами. Смугастий м'яз складається з м'язових клітин, або м'язових волокон. Діаметр функціонально зрілої м'язової клітини дорівнює 10–100 мкм, а довжина часто відповідає довжині м'яза. Клітини м'язів складаються з клітинної оболонки — *сарколеми*, яка оточує внутрішньоклітинну рідину — *саркоплазму*. Практично всю м'язову клітину займають паралельні пучки скоротливих елементів — *міофібрил*. Для смугастої м'язової клітини характерна наявність *саркоплазматичного ретикулула* — розгалуженої системи каналців і цистерн, що пронизують саркоплазму. Саркоплазматичний ретикулум акумулює практично весь запас кальцію в м'язах. Він здатний сприймати електричне подразнення сарколеми і викидати у відповідь на нього частину іонів Ca^{2+} в саркоплазму, що необхідно для м'язового скорочення. По периферії м'язової клітини може бути розташовано кілька сотень ядер, тобто ця клітина є багатоядерною. Крім того, в саркоплазмі є також мітохондрії (саркосоми), рибосоми й інші субклітинні утворення.

У м'язовій тканині дорослої людини і тварин міститься від 72 до 80 % води. Близько 20–28 % від маси м'язів припадає на частку сухого залишку, переважно білка. Крім білків, до складу сухого залишку м'язів входять різні ліпіди, екстрактивні азотовмісні речовини (АТФ/АДФ, креатинфосфат, карнозин, ансерин, глутамінова кислота, глутамін та ін.), екстрактивні безазотисті речовини (глікоген, молочна кислота й інші продукти гліколізу), різні мінеральні речовини, інші хімічні сполуки.

Білки м'язової тканини ділять на три основні групи: білки саркоплазми (35 %), білки міофібрил (45 %) і білки строми (20 %). Ці три групи білків різняться між собою за розчинністю у воді й сольових розчинах із різною іонною силою.

Білки саркоплазми

Вони належать до протеїнів, розчинних у сольових розчинах із низькою іонною силою — це міоген, міоглобін, глобулін Х і міоальбумін.

Міоген. До його складу входить група білків, близьких за фізико-хімічними властивостями (тобто термін «міоген» є збірним поняттям). Білки, що належать до міогену, виявляють ферментативну активність альдолази, гліцеральдегідфосфатдегідрогенази (тобто каталізують реакції гліколізу), а також каталітичні властивості ферментів тканинного дихання.

Міоглобін — це складний білок, що належить до групи хромопротеїнів. Він активно з'єднується з киснем у м'язовій тканині, створюючи у ній значний резерв кисню. Його спорідненість до кисню в 5 разів вища, ніж у гемоглобіну. У людини міоглобін містить 14 % кисню, що надходить в організм, а у тварин, які значний час перебувають у воді (наприклад у тюленя), — близько 47 %. Міоглобін забезпечує інтенсивність забарвлення м'язів у червоний колір. Чим інтенсивніше м'язи працюють, тим більше в них міоглобіну.

Глобулін Х є сумішшю різних білків саркоплазми з властивостями глобулінів.

Міоальбумін міститься в значних кількостях у гладких м'язах і в м'язах ембріонів. За властивостями він подібний до альбумінів сироватки крові.

Білки міофібрил

До цих білків належать міозин, актин, актоміозин, тропонін і тропоміозин.

Міозин — основний білок міофібрил, на який припадає близько 50–55 % від сухої маси міофібрил (30–40 % усіх білків м'язової тканини). Молекула міозину має сильно витягнуту форму, довжину 150 нм. Вона складається з двох великих ідентичних важких поліпептидних ланцюгів (субодиниць), які утворюють довгу закручену α -спіраль і кількох легких поліпептидних ланцюгів. Легкі ланцюги створюють глобулу («голівка» молекули), здатну з'єднуватися з актином (S_1 -фрагменти).

Кожний S_1 -фрагмент має ділянку з АТФазною активністю і ділянку зв'язування актину.

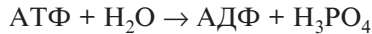
Міозин має такі біологічно важливі властивості:

1. При фізіологічних значеннях іонної сили і рН молекули міозину в розчині спонтанно утворюють волокна. Товсті нитки в саркомері утворюються шляхом з'єднання великої кількості (близько 10) певним чином орієнтованих у просторі молекул міозину (рис. 18.2).



Рис. 18.2. Схема будови товстого міозинового філамента

2. Міозин — це фермент з АТФазною активністю:



Ця реакція є безпосереднім джерелом вільної енергії, необхідної для м'язового скорочення.

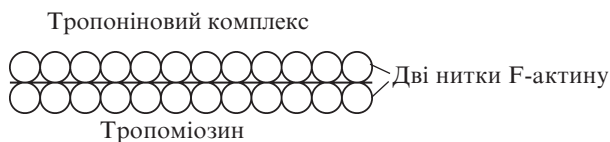
3. Міозин зв'язує полімеризовану форму актину — основного компонента тонких ниток. Саме ця взаємодія відіграє ключову роль у генерації сили, що забезпечує зсув товстих і тонких ниток одна відносно одної.

До складу актинових ниток входять білки *актин*, *тропоміозин*, *тропонін*. Основа ниток — молекули актину.

Актин. Цей білок становить близько 14 % загального білка смугастих м'язів, або близько 20 % від сухої маси міофібрил. Це глобулярний білок (G-актин). Його молекули можуть нековалентно з'єднуватися, утворюючи фібрилярний актин (F-актин). Його молекули виглядають як дві нитки намиста, закручені одна навколо іншої. У м'язових клітинах весь актин знаходиться у формі F-актину.

Актоміозин. При м'язовому скороченні, а також при додаванні до розчину міозину розчину актину міозин з'єднується з F-актином, утворюючи новий білковий комплекс — актоміозин. Як природний, так і штучний актоміозин має АТФазну активність. Проте АТФазна активність актоміозину відрізняється від АТФазної активності міозину. Фермент актоміозину активується іонами Магнію й інгібується високою концентрацією АТФ, тоді як міозинова АТФаза інгібується Mg^{2+} і не інгібується високою концентрацією АТФ. Актоміозин, імовірно, є тимчасовим сполученням актину і міозину в момент скорочення м'яза.

Тропоміозин. Це фібрилярний білок, що складається з двох поліпептидних ланцюгів. На його частку припадає 4–7 % усіх білків міофібрил. Вони розташовуються поблизу жолобків стрічки F-актину, уздовж неї, причому кожна молекула тропоміозину сполучена з сімома молекулами G-актину. Тропоміозин, з'єднуючись із тропоніном, утворює комплекс, названий нативним тропоміозином. Цей комплекс зміщується з активних ділянок F-актину і надає йому властивість зв'язуватися з S_1 -фрагментом міозину.



Тропонін — глобулярний білок, він є комплексом із трьох поліпептидних ланцюгів (субодиниць). Тропонін I (Tn-T) забезпечує зв'язок із тропоміозином. Тропонін II (Tn-I) зв'язується з актином, інгібує взаємодію актину й міозину і блокує гідроліз АТФ. Тропонін III (Tn-C) додає тропоніновому комплексу чутливості до кальцію, він приєднує чотири іони Ca^{2+} .

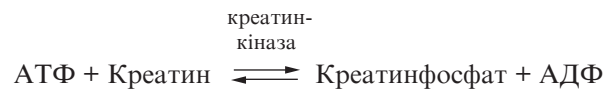
Вміст міозину, актину, тропоміозину і тропоніну в міофібрилах становить близько 55; 25; 15 і 5 % відповідно.

Білки строми. У смугастій мускулатурі вони представлені здебільшого колагеном, еластином і деякими іншими білками сполучної тканини. Це білки стінок судин, нервів, а також сарколеми і деяких інших структур. Загальна кількість білків строми становить близько 15–20 % усіх білків м'язів вищих тварин.

Екстрактивні речовини — це речовини, які розчиняються у воді й слабких кислотах і через це екстрагуються у вигляді розчинів із м'язів (або інших тканин). До екстрактивних речовин належать азотомісні та безазотисті речовини.

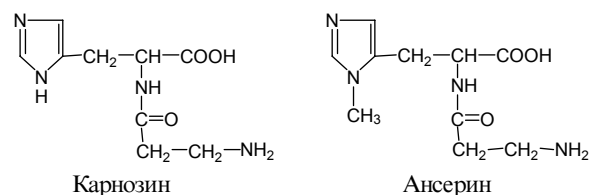
До азотомісних екстрактивних речовин належать різні нуклеотиди (аденилові, цитидилові, уридилові та ін.), серед яких велике значення для функції м'язів мають АТФ/АДФ і АМФ. До екстрактивних речовин м'язів належать також креатин, креатинфосфат, креатинін, ансерин, глутамінова й інші амінокислоти, глутамін.

Як відомо, креатин синтезується переважно в нирках і печінці за участю трьох амінокислот: гліцину, аргініну та метіоніну. З печінки течією крові він надходить у м'язову тканину, де взаємодіє з АТФ з утворенням креатинфосфату. Калілізує реакцію креатинкіназа.



Креатин, приєднавши фосфат, перетворюється на креатинфосфат, що має макроергічний зв'язок. Під час роботи м'язів фосфат від креатинфосфату може переноситися на АДФ з утворенням АТФ і креатину (реакція Ломана). За термодинамічними показниками ця реакція майже повністю оборотна, однак у фізіологічних умовах рівновага її зрушена в бік утворення АТФ, тобто креатинфосфат є тимчасовим депо і постачальником енергії для біосинтезу АТФ. Оскільки креатинкіназа майже повністю зосереджена у м'язах, то енергією креатинфосфату не може скористатися жодна тканина. Коферментом і активатором реакції є АДФ, яка водночас є інгібітором актоміозинової АТФази, що сприяє підтриманню запасів АТФ у м'язах. На частку креатину і креатинфосфату припадає до 60 % небілкового азоту м'язів. Отже, перетворення креатинфосфату на креатин є одним із джерел синтезу АТФ у м'язах.

У м'язах є дипептиди, які в інших тканинах не зустрічаються. Карнозин — дипептид, що складається з амінокислотних залишків гістидину і β -аланіну. Ансерин — це метильований карнозин (метилкарнозин):



Карнозин і ансерин сприяють м'язовому скороченню. Доведено, що ці сполуки фосфорилуються, перетворюючись на дифосфокарнозин і дифосфоансерин і, можливо, беруть участь у біоенергетиці м'язів, оскільки вміст цих дипептидів збільшується внаслідок тренування і зменшується при дистрофіях.

Із вільних амінокислот у м'язах найвищою є концентрація глутамінової кислоти, а також її аміду — глутаміну. Глутамінова кислота бере участь у знешкодженні аміаку в м'язах. При взаємодії з аміаком вона перетворюється на глутамін — транспортну форму аміаку.

Однією з основних безазотистих речовин м'язів є глікоген, концентрація якого коливається від 0,3 до 2 % і вище.

У м'язах знайдені всі мінеральні речовини, які є і в інших тканинах. Із катіонів у м'язах найбільше Na^+ , K^+ , а також Ca^{2+} і Mg^{2+} , із аніонів — найбільше аніонів фосфорної та соляної кислот.

Біохімічні особливості міокарда і гладкої мускулатури

Міокард. У міокарді порівняно з скелетними м'язами дещо менше сумарного білка, у тому числі й актоміозину. Проте швидкість оновлення білків у міокарді в 3–5 разів перевищує таку в скелетних м'язах. За вмістом глікогену серцевий м'яз посідає проміжне положення між скелетною і гладкою мускулатурою. Скелетні м'язи синтезують глікоген переважно з молочної кислоти, а міокард — із глюкози. Обмін глікогену в міокарді відбувається значно інтенсивніше, ніж у скелетних м'язах.

Вміст ліпідів у міокарді більший, ніж у скелетних м'язах (12–16 % у міокарді та 9,8 % — у скелетних м'язах).

Головний енергетичний матеріал для міокарда — жирні кислоти (≈ 70 %), окиснення вуглеводів становить ≈ 30 %. Із жирних кислот у міокарді особливо легко окиснюється олеїнова кислота.

У міокарді значно інтенсивніше, ніж у скелетних м'язах перебігають аеробні окиснювальні процеси. Це пов'язано з тим, що в міокарді в 4–5 разів більше мітохондрій, ніж у скелетних м'язах. Серце поглинає у 60 разів більше кисню, ніж скелетний м'яз. Саме тому серцевий м'яз дуже чутливий до дефіциту кисню.

У гладких м'язах вміст міофібрилярних білків ще нижчий, ніж у міокарді. Як уже відзначалось, у міофібрилах скелетних м'язів вміст актоміозину становить приблизно 80 % від усіх білків міофібрил, а в міофібрилах гладкої мускулатури — від 25 % (матка) до 40 % (шлунок), тобто приблизно в 2–3 рази нижче. У гладкій мускулатурі значно менше міститься креатинфосфату, АТФ, карнозину, ансерину та інших екстрактивних речовин, ніж у скелетних м'язах і міокарді. АТФазна активність міозину гладкої мускулатури в 10–20 разів нижча, ніж АТФазна активність міозину скелетних м'язів.

Біохімічні механізми скорочення і розслаблення м'язів

Під дією нервового імпульсу в міоневральній пластинці виділяється ацетилхолін, під впливом якого підвищується проникність сарколеми. Це зумовлює перерозподіл іонів K^+ , Na^+ . Із позаклітинного середовища Na^+ переміщається всередину м'язових клітин (його більше в позаклітинному середовищі), а K^+ за градієнтом концентрації виходить із клітин у позаклітинне середовище. Перерозподіл іонів K^+ і Na^+ спричинює деполяризацію сарколеми. Деполяризація передається на саркоплазматичний ретикулум, що приводить до зміни проникності його мембрани і виходу іонів Ca^{2+} з ретикулума в саркоплазму. Підвищення концентрації іонів Ca^{2+} у саркоплазмі до 10^{-6} – 10^{-5} М — причина того, що Ca^{2+} зв'язується з тропоніном III (Tn-C). Після приєднання Ca^{2+} до Tn-C тропоніновий комплекс піддається конформаційним змінам і взаємодіє з тропоміозином з утворенням тропонін-тропоміозинового комплексу (нативного тропоміозину). Конформаційні зміни нативного тропоміозину приводять до переміщення по F-актину всього тропонін-тропоміозинового комплексу і деблокування активних центрів F-актину, здатних взаємодіяти з S_1 -фрагментами (голівками) міозину з утворенням актоміозинового комплексу. У ділянці активних центрів міозину знаходиться I-білок, який також є чутливим до збільшення концентрації Ca^{2+} . Тимчасом I-білок, переміщуючись по міозиновому волокну, звільняє голівки міозину для взаємодії з активними центрами актину, сприяючи утворенню актоміозинового комплексу.

Після деблокування активних центрів F-актину до них приєднується S_1 -фрагмент міозину (ділянкою зв'язування актину) під кутом 90° з утворенням актоміозинового комплексу. Приєднання голівки міозину до актину супроводжується розщепленням АТФ на АДФ і H_3PO_4 з виділенням енергії, тобто приєднання відбувається за рахунок енергії АТФ. Каталізує розщеплення АТФ міозинова АТФаза, що активується іонами кальцію. Потім настає спонтанний поворот голівки міозину на 45° щодо нитки актину, що приводить до просування («ковзання») актинової нитки уздовж міозинової нитки. При максимальному скороченні саркомер коротшає на 20–50 %.

У результаті приєднання нової порції АТФ до міозинових головок відбувається дисоціація (роз'єднання) актоміозину на актин і міозин. Це пов'язано з тим, що після приєднання АТФ до міозину знижується спорідненість міозину до актину, і лише після гідролізу АТФ на АДФ і H_3PO_4 голівка міозину приєднується до актину. Якщо надходження нервового імпульсу припиняється, то цикли приєднання-ковзання-роз'єднання припиняються, оскільки в результаті роботи кальцієвого насоса іони Ca^{2+} переходять із саркоплазми в саркоплазматичний ретикулум, вільний тропоміозин закриває ділянки на актині (активні центри актину), до яких приєднуються S_1 -фраг-

менти міозину. Саме тому, незважаючи на високу концентрацію АТФ, м'яз перебуває в розслабленому стані. Якщо ж припиняється ресинтез АТФ (аноксія, отруєння дихальними отрутами або смерть), то м'яз переходить у стан задубіння. При цьому майже всі S_1 -фрагменти міозину приєднуються до актинових ниток, наслідком чого і є повна нерухомість м'язів.

Важливу роль у розслабленні м'язів грає кальцієва «помпа» — Mg^{2+} , Ca^{2+} -залежна АТФаза ретикулула. Кальцієвий насос знижує концентрацію Ca^{2+} у саркоплазмі спочиваючих м'язів до рівня нижче 10^{-6} М, а в саркоплазматичному ретикулумі підвищує до 10^{-3} М. Перенос двох іонів Ca^{2+} усередину ретикулула відбувається за рахунок гідролізу однієї молекули АТФ. Другий білок саркоплазматичного ретикулула — кальциквестин — зв'яже Ca^{2+} усередині ретикулула. Він містить понад 40 ділянок зв'язування Ca^{2+} .

Джерела енергії для м'язової діяльності

Як відомо, робота м'язів пов'язана з розпадом (гідролізом) АТФ на АДФ і H_3PO_4 . Запаси АТФ у м'язах незначні. Їх вистачило б усього на кілька секунд роботи. Яким же чином у процесі м'язової діяльності відбувається безперервний ресинтез цього макроерга?

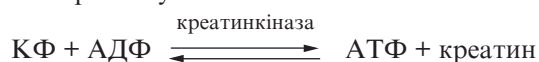
Ресинтез АТФ може відбуватися чотирма шляхами: гліколіз, тканинне дихання, креатинкізна реакція й аденілаткізна реакція.

1. Як відомо, при гліколізі утворюються 2 молекули АТФ на 1 молекулу глюкози. Але гліколіз перебігає в анаеробних умовах, і тому ресинтез АТФ і скорочення м'язів можуть здійснюватися певний час в анаеробних умовах. Однак за рахунок енергії анаеробного гліколізу м'яз довго працювати не може, оскільки, по-перше, при цьому вивільняється тільки 6–7 % енергії, зосередженої у вуглеводах, тобто гліколіз енергетично малоефективний; по-друге, кінцевим продуктом гліколізу є молочна кислота, яка, накопичуючись у м'язі, спричинює ацидоз; по-третє, у реакціях гліколізу піддаються розпаду тільки вуглеводи, а запаси глікогену в організмі обмежені.

2. При достатньому постачанні кисню до м'язів значна кількість АТФ ресинтезується в процесі тканинного дихання, тому що в аеробних умовах у м'язах відбувається повне окиснення продуктів розпаду вуглеводів, залишків амінокислот, позбавлених свого азоту, жирних кислот, гліцеролу, кетонових тіл. У стані спокою на частку скелетних м'язів загалом припадає більше 50 % кисню, що надходить в організм людини, а при інтенсивній м'язовій роботі м'язи споживають до 90 % кисню, що надходить до організму.

Позитивною стороною цього процесу є висока енергетична ефективність; його кінцеві продукти — нешкідливі вода і вуглекислота, що легко видаляються з організму; запаси енергетичних субстратів, що підлягають аеробному окисненню, особливо жирних кислот, майже невичерпні. Але цей шлях потребує підвищеного споживання кисню.

3. Креатинкізна реакція — це реакція взаємодії креатинфосфату (КФ) з АДФ з утворенням АТФ і креатину:



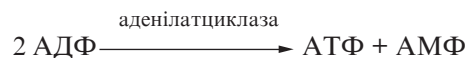
Звичайно КФ утримується в цитозолі, однак є докази, що він зосереджений поруч міозинової АТФази, де перебуває зв'язаний з міозином ММ-ізофермент креатинкінази і де мають підтримуватися запаси АТФ. Ця реакція ресинтезу АТФ може перебігати в анаеробних умовах. Креатинкізна шлях ресинтезу АТФ є надзвичайно швидким. Однак ресинтез цей нетривалий, тому що запаси КФ у м'язі невеликі, їх вистачає лише на забезпечення м'язової роботи протягом 20–30 с.

КФ служить транспортною формою макроергічних фосфатних груп, що утворюються в процесі окисного фосфорилування, з мітохондрій у цитоплазму клітини. Синтезований у матриксі мітохондрій АТФ переноситься через внутрішню мембрану мітохондрій за участю АТФ-АДФ-транслоказ на активний центр мітохондріального ізоферменту креатинкінази, розташованого на зовнішній стороні внутрішньої мембрани.

У міжмембранному просторі утворюється потрійний фермент-субстратний комплекс креатин-креатинкіназа-АТФ- Mg^{2+} , який потім розпадається з утворенням креатинфосфату й АТФ- Mg^{2+} . Креатинфосфат дифундує в цитоплазму, де використовується для ресинтезу АТФ за участю цитоплазматичного ізоферменту креатинкінази (ММ-форма), перебуває в цитозолі, а також у товстих міофіламентах і на мембранах саркоплазматичного ретикулула.

Отже, при короткочасній інтенсивній м'язовій роботі в анаеробних умовах креатинфосфат відіграє, головним чином, роль донора макроергічного фосфату, тоді як при аеробній роботі м'язів є переносником макроергічного фосфату між мітохондріями й міофібрилами.

4. Деяка кількість АТФ може ресинтезуватися в аденілаткізна реакції.



Це аварійний, не вигідний для організму шлях ресинтезу АТФ, він запускається тільки в крайніх випадках, оскільки АМФ, що утворився, піддається дезамінуванню й необоротно перетворюється на інозинову кислоту.

Інтенсивність ресинтезу АТФ у наведених біохімічних процесах, тобто вибір «палива» і шлях його катаболізму, залежить від інтенсивності роботи м'язів. У спочиваючих м'язах основним шляхом ресинтезу АТФ є тканинне дихання, а основними субстратами енергетичного обміну служать вільні жирні кислоти і кетонів тіла, що доставляються кров'ю з печінки. Ці субстрати піддаються розпаду до ацетил-КоА, що далі вступає в цикл Кребса й окиснюється до CO_2 і H_2O . Супровідні циклу Кребса тканинне дихан-

ня і окисне фосфорилування забезпечують ресинтез АТФ.

При *помірному фізичному навантаженні* основним шляхом ресинтезу АТФ також є тканинне дихання. Однак при цьому, на додаток до жирних кислот і кетонів тіл, м'язи використовують ще й такий енергетичний матеріал, як глюкозу крові, тобто енергозабезпечення відбувається не тільки за рахунок тканинного дихання, але й гліколізу (окиснюється глюкоза).

При *короткочасному інтенсивному м'язовому навантаженні* витрата АТФ настільки значна, що швидкість доставки субстратів і кисню кров'ю виявляється недостатньою. У цих умовах спочатку ресинтез АТФ забезпечується креатинкіназною реакцією, і лише приблизно через 20 с максимально інтенсивної роботи починається посилення анаеробного гліколізу, інтенсивність якого досягає максимуму через 40–60 с. В анаеробному гліколізі витрачається глікоген самих м'язів, який розщеплюється до лактату; при цьому на одну молекулу глюкози утворюються дві молекули АТФ. Кількість роботи, що може забезпечити глікоген, залежить від його запасів, а швидкість енергопродукції — від активності гліколітичних ферментів. Найбільшу роль у регуляції швидкості гліколізу відіграє фермент, що запускає весь цей процес, — м'язова глікогенфосфорилаза. Непряма активація фосфорилази відбувається під впливом ендокринних і нервових сигналів. Гормони (переважно адреналін) активують пов'язану з мембраною аденілатциклазу, що запускає регуляторний каскад. Нервовий механізм активації глікогенфосфорилази пов'язаний з деполаризацією мембрани і виходом Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулума. Іони Ca^{2+} зв'язуються кальмодуліном — однією з субодиниць неактивної кінази фосфорилази *b*. Зв'язування Ca^{2+} кальмодуліном приводить до значного (приблизно в 10 разів) підвищення активності кінази фосфорилази *b* у результаті збільшення спорідненості до субстрату. Це сприяє АТФ-залежному фосфорилуванню неактивної кінази фосфорилази *b* і її активації. Активна (фосфорилувана) кіназа фосфорилази спричинює полімеризацію фосфорилази *b* з утворенням фосфорилази *a*. За даними деяких авторів, при максимально напруженому анаеробному гліколізі, коли він підсилюється в 2000 разів, у скелетних м'язах людини швидкість анаеробного ресинтезу АТФ істотно перевершує його утворення в процесі окисного фосфорилування. Тому навіть на рівні виснаження працездатності вміст АТФ не знижується нижче 60–70 % від «норми», тоді як концентрація креатинфосфату може досягати значень, близьких до нуля. Оскільки в скелетних м'язах немає глюкозо-6-фосфатази, м'язовий глікоген призначений тільки для продукування енергії гліколітичним шляхом. Однак запаси глікогену в м'язах невеликі, тому існує верхня межа тієї кількості енергії, що виробляється під час гліколізу в умовах максимального (наприклад при спринті) навантаження. Більше того, нагромадження лактату і пов'язане з цим знижен-

ня рН, а також підвищення температури, що відбувається при дуже високій м'язовій активності, знижує активність обміну в м'язах. Описані вище процеси можуть підтримувати інтенсивну роботу в людини протягом 2–5 хв.

При більш тривалих інтенсивних навантаженнях неминуче залучаються процеси окисного метаболізму. У такому випадку загальна кількість енергії залежить від ендогенних запасів субстратів, а також і від наявності субстратів в інших депо — жиру в жировій тканині та глікогену в печінці. У людини запаси вуглеводів здатні підтримувати м'язову роботу, близьку до максимального навантаження, протягом усього лише 20–30 хв. Запаси жиру достатні для того, щоб інтенсивна робота могла тривати протягом кількох діб. Тому при інтенсивній роботі людини, що триває 2–3 год і довше, використовуються і глікоген, і жир. При цьому близько 65 % спожитого кисню іде на окиснення глікогену, а решта — головним чином на окиснення жирних кислот. У зв'язку з тим, що запаси глікогену менші, ніж запаси жирів, тривалість інтенсивної аеробної роботи звичайно лімітується саме постачанням глікогену. Існує кореляція між тривалістю роботи до повного знесилення і вмістом глікогену в м'язах на початку роботи. При повному зникненні запасів глікогену в м'язах доводиться використовувати в основному енергію жирів. Однак вироблення енергії при цьому становить лише 60 % і менше від максимальної енергопродукції при аеробному розпаді глікогену. Коли запаси глікогену в м'язах закінчуються, м'язи переходять на використання екзогенних вільних жирних кислот і ендогенних триацилгліцеролів. У цей час у крові підтримується досить високий рівень глюкози для забезпечення мозку та інших тканин (наприклад мозкового шару нирок), нормального метаболізму яких повинен забезпечуватися переважно глюкозою. Таким чином, при переході м'язів від стану спокою до тривалої інтенсивної роботи спочатку утилізуються обидва субстрати (глікоген і жири), а потім відбувається повний перехід м'язів на розщеплення жирів і одночасне заощадження глюкози для задоволення мінімальних потреб у ній організму.

Для β -окиснення у м'язах можуть використовуватися жирні кислоти ендогенних триацилгліцеролів і екзогенні жирні кислоти. У перші півгодини тривалої інтенсивної фізичної навантаження внутрішньом'язові триацилгліцероли у людини приблизно наполовину забезпечують загальне продукування енергії. У міру подальшої роботи все більше внесок екзогенних жирних кислот, що надходять із жирової тканини. Ферментом, відповідальним за ініціацію окиснення жирів у м'язовій тканині, є м'язова триацилгліцеролліпаза, а ферментом, відповідальним за ініціацію окиснення екзогенних вільних жирних кислот у м'язі, служить триацилгліцеролліпаза жирових клітин.

У період відновлення після максимального м'язового навантаження людина продовжує ще якийсь час тяжко дихати. Спожитий при цьому

додатковий кисень використовується для окиснення пірувату, лактату та інших субстратів, а також регенерації АТФ і креатинфосфату в м'язах. Одночасно лактат крові надходить у печінку й перетворюється шляхом глюконеогенезу на глюкозу, яка виходить із печінки в кров, потрапляє в м'язи і використовується на відновлення запасів глікогену (цикл Корі). Оскільки у м'язах відсутня піруваткарбоксілаза — «запальний» фермент глюконеогенезу, вважали, що глюконеогенез у м'язах не відбувається. Але в них досить активна цитоплазматична декарбоксілююча НАДФ⁺-залежна малатдегідрогеназа, яка перетворює піруват на малат, а потім малат за участю цитоплазматичної НАД⁺-залежної малатдегідрогенази окиснюється до оксалоацетату, що під впливом фосфоенолпіруваткарбоксікінази перетворюється на фосфоенолпіруват. Таким чином, додатково спожитий кисень («кисневий борг») відновлює нормальний метаболічний стан організму. Отже, однією з найважливіших сторін адаптації організму до фізичного навантаження є запасання і використання того чи іншого «палива».

Структура і функції саркоплазматичного ретикулула

Саркоплазматичний ретикулум — це система поздовжніх трубочок м'язової клітини, що запасає Ca²⁺, який вивільняється в процесі збудження і скорочення. Нагромадженню іонів Ca²⁺ в саркоплазматичному ретикулумі сприяє білок (*кальсеквестрин*), який німічно зв'язує Ca²⁺ (містить більше 40 ділянок скріплення Ca²⁺), зменшуючи тим самим електрохімічний градієнт, що перешкоджає дії Ca²⁺-АТФази саркоплазматичного ретикулула.

У серцевому м'язі підвищення концентрації Ca²⁺ у цитоплазмі спричинює швидке вивільнення додаткових іонів Ca²⁺ із саркоплазматичного ретикулула (індукований кальцієм вихід Ca²⁺). Після закінчення збудження м'язового волокна Ca²⁺ активно відкачується в саркоплазматичний ретикулум за допомогою кальцієвої АТФази. У серцевому м'язі іони Ca²⁺ виходять із клітини за допомогою Na⁺, Ca²⁺-обмінного механізму вторинного активного транспорту. Чим розрізняються сполучення збудження і скорочення в серцевому і скелетному м'язах? Кінцеві цистерни саркоплазматичного ретикулула серцевого м'яза мають набагато менші розміри, ніж у скелетного м'яза, отже, сполучення збудження і скорочення в серцевому м'язі більшою мірою залежить від припливу позаклітинних іонів Ca²⁺. Т-трубочки в серцевому м'язі набагато крупніші, ніж у скелетних м'язах, що полегшує обмін іонами, поживними речовинами і продуктами метаболізму між кардіоміоцитами і позаклітинною рідиною. Т-трубочки містять негативно заряджені мукополісахариди, які зв'язують іони Ca²⁺, збільшуючи тим самим кількість Ca²⁺, придатного для сполучення збудження і скорочення. Зміна кількості іонів Ca²⁺, що вивільняються з саркоплазматичного ретикулула, може набагато сильніше впли-

вати на скорочення серцевого м'яза, ніж на скорочення скелетних м'язів. Наприклад, збільшення концентрації Ca²⁺ у цитоплазмі при симпатичній стимуляції серця або зменшенні виведення Ca²⁺ при прийомі серцевих глікозидів сприяє нагромадженню Ca²⁺ в саркоплазматичному ретикулумі, внаслідок чого при наступному циклі активації клітини вивільнення Ca²⁺ із саркоплазматичного ретикулула збільшується.

У клітинах серцевого м'яза, на відміну від скелетного, відбувається індуковане кальцієм вивільнення Ca²⁺, завдяки якому підвищення цитоплазматичної концентрації Ca²⁺ приводить до швидкого і масованого вивільнення Ca²⁺ із саркоплазматичного ретикулула.

Як скелетні або серцевий м'язи, гладкі м'язи скорочуються в результаті взаємодії товстих і тонких філаментів. Тонкі філаменти гладких м'язів містять тільки актин і тропоміозин. Скоротливі філаменти гладких м'язів не утворюють таких упорядкованих структур, як у скелетних м'язах. Співвідношення актину до міозину в гладких м'язах дорівнює 14–16 : 1, що набагато більше, ніж у скелетних м'язах — 2 : 1.

Скорочення гладких м'язів

Одиничним (унітарним) називають гладкий м'яз, в якому збудження передається від клітини до клітини по шляхах низького опору, даючи можливість м'язу реагувати як синцитій (одна м'язова клітина). Множинним (мультиунітарним) називають гладкий м'яз, який потребує зовнішньої (нервової або гормональної) активації для створення скоротливої сили. Відповідь м'яза в цілому є наслідком реакції великої кількості окремих клітин.

Тонічними називають скорочення, які підтримуються тривалий час (наприклад нормальний тонус артеріол системи мікроциркуляції).

Фазними називають відносно швидкі скорочення, після яких настає повне розслаблення (наприклад спонтанні скорочення гладких м'язів тонкої кишки).

Механізм дії іонів Ca²⁺ у гладких м'язах

Гладкі м'язи не містять тропоніну, регуляція скорочення відбувається на рівні товстих філаментів. Ініціація скорочення у відповідь на збільшення цитоплазматичної концентрації Ca²⁺ у клітинах гладкого м'яза відбувається в результаті зв'язування іонів Ca²⁺ із кальмодулін-регуляторним білком, який має чотири центри зв'язування з Ca²⁺. Комплекс Ca²⁺-кальмодулін активує кіназу міозину, яка фосфорилує регуляторні легкі ланцюги на голівках молекули міозину. Після фосфорилування легких ланцюгів молекула міозину гідролізує АТФ, і починається цикл утворення поперечних містків. У гладких м'язах Са може також регулювати скоротливу силу на рівні тонких філаментів. У цій регуляції беруть участь білки кальдесмон і кальпонін, які зв'язуються з тонким філаментом та інгібують АТФазну активність за відсутності підвищеного рівня Ca²⁺ у цитоплазмі.

Для гладких м'язів характерне утворення поперечних містків, коли міозин зв'язаний з актином упродовж деякого часу після зменшення концентрації Ca^{2+} у цитоплазмі.

Важливо відзначити відмінність між серцевими і гладкими м'язами, оскільки обидва типи м'язів утворюють серцево-судинну систему. Скорочення міокарда мають фазовий характер із чітким чергуванням скорочення і розслаблення. Скорочення гладких м'язів є тонічними завдяки утворенню поперечних містків.

Підвищення внутрішньоклітинної концентрації цАМФ збільшує силу скорочення серцевого м'яза, тоді як на гладкі м'язи цАМФ впливає протилежним чином — розслаблює їх, оскільки інгібує реакцію фосфорилування кінази легких ланцюгів міозину.

Гладком'язові клітини не містять Т-трубочок, клітина легко активується в результаті припливу позаклітинного кальцію. У гладких м'язах є саркоплазматичний ретикулум, який може бути досить добре вираженим.

Скорочення гладких м'язів, саркоплазматичний ретикулум в яких розвинений гірше, виявляється чутливішим до інгібування блокаторами кальцієвих каналів. У скелетному м'язі підвищення цитоплазматичної концентрації Ca^{2+} відбувається завдяки вивільненню Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулума. Для регуляції скорочень у серцевому м'язі однаково важливе значення мають і саркоплазматичний ретикулум, і приплив позаклітинних іонів Ca^{2+} . У гладких м'язах приплив позаклітинного Ca^{2+} впливає на їх роботу істотно більше, ніж у скелетних.

Біохімічні зміни в м'язах при патології

Загальними для більшості захворювань м'язів (прогресуюча м'язова дистрофія, атрофія м'язів, тенотомія, поліміозит, деякі авітамінози) є різке зниження в м'язах кількості міофібрилярних білків, зростання концентрації білків строми і деяких саркоплазматичних білків, зокрема міоальбуміну. При ураженнях м'язів разом зі зміною фракційного складу м'язових білків спостерігається зниження рівня АТФ і креатинфосфату. При захворюваннях, пов'язаних із розпадом м'язової тканини, відбуваються зрушення у фосфоліпідному складі м'язів: значно знижується рівень фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну, підвищується концентрація сфінгом'єліну і лізофосфатидилхоліну. Для багатьох форм патології м'язової тканини характерні порушення метаболізму креатину і його посилене виділення з сечею (*креатинурія*). Очевидно, що креатинурія у хворих на міопатію є результатом порушення в скелетній мускулатурі процесів фіксації (утримання) креатину і його фосфорилування. Якщо порушений процес синтезу креатинфосфату, то не утворюється і креатин, вміст його в сечі різко знижується. Підвищується креатиновий показник (креатин/креатинін). При патології м'язової тканини змінюється активність ферментів: змен-

шується активність ферментів, локалізованих у саркоплазмі; помітно зростає активність лізосомальних ферментів, особливо протеїназ. При багатьох захворюваннях м'язової системи відбуваються зрушення в системі цАМФ: знижується вміст цАМФ у м'язовій тканині; підвищується активність фосфодіестерази; порушується здатність аденілатциклази активуватися під впливом адреналіну. При повній ішемії серцевого м'яза (тромбоз або емболія коронарної судини) спочатку порушується кровопостачання і до змін, пов'язаних із дефіцитом кисню, додаються наслідки повної відсутності енергетичних субстратів.

На ранній стадії ішемії (перші хвилини після оклюзії судини) швидко наростає активність глікогенолізу і гліколізу (реакція на викид катехоламінів), що веде до нагромадження лактату. Підвищення концентрації катехоламінів і цАМФ стимулює активацію фосфофруктокінази — ключового ферменту гліколізу. Дуже швидко запаси глікогену виснажуються, гліколіз сповільнюється внаслідок внутрішньоклітинного ацидозу, який інгібує фосфофруктокіназу. Вміст АТФ і креатинфосфату різко знижується в результаті порушення окисного фосфорилування в мітохондріях. Один із проявів цього стану — порушення мембранної проникності. Порушення цілісності мембран, дефіцит енергетичних ресурсів, порушення іонного складу зумовлюють гальмування функціональної активності м'язових клітин і їх постійну загибель. У цей період виявляються зміни складу білків міокарда (різке зниження вмісту міофібрилярних білків і нагромадження білків строми). Порушення обміну вуглеводів, білків і ліпідів (вільні жирні кислоти не окиснюються, а переважно включаються в триацилгліцероли) при інфаркті міокарда знаходить відображення в жировій інфільтрації серцевого м'яза. У діагностиці інфаркту міокарда визначення активності креатинкінази, аспартатамінотрансферази і лактатдегідрогенази в сироватці крові — найчутливіші тести.

Механізм зміни скоротності серцевого м'яза

Будь-які стимули, що спричинюють тривале збільшення концентрації Ca^{2+} у цитоплазмі (за рахунок підвищеного припливу Ca^{2+} , підвищеного вивільнення Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулума або зниженого витіснення Ca^{2+} із цитоплазми), можуть викликати збільшення скоротності (або позитивний інотропний ефект). Так, катехоламіни (адреналін, норадреналін) спричинюють позитивний інотропний ефект у серці, зв'язуючись з β -адренорецептором, який активує аденілатциклазу за допомогою G-білка. У результаті цАМФ-залежна фосфорилаза фосфорилує Ca^{2+} -канал L-типу, що приводить до збільшення припливу Ca^{2+} у клітину. Скорочення гладких м'язів, саркоплазматичний ретикулум в яких розвинений гірше, виявляється чутливішим до інгібування блокаторами кальцієвих каналів і розчинами, що не містять Ca^{2+} .

Біохімія сполучної тканини і кісток

Сполучна тканина в цілому становить приблизно 50 % від маси тіла. Це тканина підшкірної клітковини, сухожиль, зв'язок, хрящів, а також органічний матрикс кісток і зубів, міжм'язові фасціальні прошарки. Сполучна тканина оточує кровоносні судини, зв'язує між собою клітини окремих тканин, заповнюючи простір між клітинами так званою основною речовиною (внутрішньоорганна строма паренхіматозних органів, нейроглія мозку і т. ін.).

Сполучна тканина складається з трьох головних елементів:

1. Клітини сполучної тканини (фібробласти, хондроцити). Порівняно з іншими тканинами їх мало, тому основна речовина займає більше місця, ніж клітинні елементи.

2. Колагенові, еластичні й ретикулярні волокна, розташовані в оточенні проміжної речовини.

3. Основна речовина, що оточує клітини і волокна сполучної тканини.

Існує три головних молекулярних компоненти сполучної тканини: два фібрилярних білки — колаген і еластин, які в різних співвідношеннях присутні в більшості сполучних тканин, і протеоглікани — молекули, що являють собою білки, ковалентно зв'язані з полісахаридами.

Колаген — основний білок колагенових волокон. Колагенові волокна — це морфологічні утворення, що містять, крім білка колагену, інші хімічні компоненти. Колаген становить 25–33 % від загальної кількості білка в організмі дорослої людини (або 6 % від маси тіла). Колаген має специфічний амінокислотний склад: приблизно 1/3 (33 %) амінокислотних залишків припадає на гліцин. Кількість проліну в колагені також значно вища, ніж в інших білках. Нарешті, у колагені є дві амінокислоти, які вкрай рідко зустрічаються в інших білках, а саме — гідроксипролін і гідроксилізін. Пролін і гідроксипролін становлять 1/4 частину всіх амінокислотних залишків і близько 1 % — гідроксилізін. У колагені існує певна послідовність амінокислот: майже кожний третій залишок — це гліцин; часто повторюється ділянка гліцин-пролін-гідроксипролін. Основною структурною одиницею колагену є тропоколаген, молекулярна маса якого — близько 285 000. Тропоколаген складається з трьох поліпептидних ланцюгів однакового розміру. Кожний поліпептидний ланцюг тропоколагену містить близько 1000 амінокислотних залишків. Молекула тропоколагену має форму стрижня. Це один із найдовших відомих білків. Кожен із трьох його поліпептидних ланцюгів має форму спіралі. Крім того, ці три спіралізовані ланцюги закручуються один відносно одного, утворюючи тугу нитку. Три поліпептидні ланцюги з'єднані між собою водневими зв'язками, що виникають, в основному, за рахунок водневих зв'язків NH-групи гліцину (пептидні NH-групи гліцину) і кисню пептидних C=O-груп амінокислотних залишків на інших ланцюгах.

Колаген синтезується клітинами з вільних амінокислот. Однак гідроксипролін і гідрокси-

лізин не включаються до складу поліпептидного ланцюга колагену в процесі його біосинтезу. Ці амінокислоти утворюються за участю ферментів відповідно пролінгідроксилази і лізингідроксилази, а також аскорбінової кислоти після включення проліну і лізину в поліпептидний ланцюг. Зазначені ферменти містять в активному центрі атом Феруму у фероформі (відновлений стан атома Феруму Fe^{2+}). Аскорбінова кислота виконує роль відновного агента, зберігаючи атом Феруму у фероформі. У разі відсутності аскорбінової кислоти колаген виявляється негідроксильованим, тому він не може утворити нормальні за структурою колагенові волокна, що призводить до ушкодження шкіри й ламкості судин, що чітко виявлено при скорбуті.

Тропоколаген синтезується фібробластами у вигляді проколагену. Поліпептидні ланцюги проколагену мають додаткові пептидні ділянки на кінцях поліпептидних ланцюгів. Ці пептидні ділянки дістали назву N-кінцеві й C-кінцеві пептиди.

Формування зрілого колагенового волокна ілюструє рис. 18.3.



Рис. 18.3. Схема формування зрілого колагенового волокна

C-кінцеві пептиди цих ланцюгів-попередників зв'язані міжланцюговими дисульфідними зв'язками, відсутніми в колагені.

Поліпептидні ланцюги проколагену з додатковими пептидними зв'язками синтезуються у фібробластах і секретуються в міжклітинний простір сполучної тканини. Тут додаткові пептиди відщеплюються протеолітичними ферментами-тропоколагенпептидазами. Після їхнього відщеплення з тропоколагену, що утворився, формується колагенове волокно. Причому ряд молекул тропоколагену зміщений щодо сусіднього ряду молекул приблизно на 1/4 довжини молекули тропоколагену. Кінці молекул не зв'язані між со-

бою, між кінцем однієї молекули тропоколагену й початком другої є проміжок. У цих проміжках у колагенових волокнах кісток відкладаються кристали фосфату кальцію.

Колагеновим волокнам властиві два типи поперечних зв'язків: внутрішньомолекулярні — у межах однієї тропоколагенової одиниці та міжмолекулярні — між окремими тропоколагеновими одиницями. В утворенні внутрішньомолекулярних поперечних зв'язків у колагені беруть участь бічні ланцюги лізину. Поперечні зв'язки надають колагеновим волокнам високого ступеня пружності.

Розщеплення колагену відбувається під дією специфічного ферменту — колагенази. Цей фермент розщеплює пептидні зв'язки між залишками гліцину і лейцину (або ізолейцину), перерізаючи всі три пептидні ланцюги колагену в одному місці — приблизно на 1/4 відстані від С-кінця поліпептидного ланцюга.

При кип'ятінні у воді волокнистий, нерозчинний і неперетравлюваний колаген перетворюється на желатин — розчинну суміш поліпептидів, що у кулінарії використовується для приготування желе.

Еластин — білок, що входить до складу еластичних волокон. Він відрізняється від колагену за хімічним складом і молекулярною структурою. Спільним для колагену й еластину є великий вміст гліцину і проліну, наявність гідроксипроліну, хоча останнього в еластині приблизно в 10 разів менше, ніж у колагені. В еластині немає гідроксилізину, але багато лізину. При ферментативному гідролізі еластину в гідролізаті виявляються десмозин й ізодесмозин. Ці сполуки містяться тільки в еластині й утворюються з бічних ланцюгів (радикалів) залишків лізину. В утворенні однієї молекули десмозину або ізодесмозину беруть участь радикали чотирьох залишків лізину, що утворюють піридинове кільце. Таким шляхом два, три або чотири поліпептидні ланцюги еластину можуть об'єднуватися в системи, здатні оборотно розтягуватися у всіх напрямках. Поряд із десмозином й ізодесмозином поперечні зв'язки в молекулі еластину утворюються в результаті з'єднання між радикалами амінокислот лізину і норлейцину.

Еластин синтезується у фібробластах із тропоеластину. Він розчинний і не містить поперечних зв'язків. Надалі тропоеластин перетворюється на нерозчинний еластин за рахунок великої кількості поперечних зв'язків. Еластичні волокна, що складаються з еластину, здатні розтягуватися в кілька разів у довжину, а при знятті навантаження швидко відновлюють вихідну форму і розмір. Еластин знаходиться у великих кількостях у стінках кровоносних судин і зв'язках.

Протеоглікани утворюють основну речовину сполучної тканини, в яку занурені або якими вкриті волокнисті елементи сполучної тканини. Протеоглікани відіграють також роль міжтканинних прошарків і слугують мастильним матеріалом у суглобах. Протеоглікани виконують функцію зв'язування екстрацелюлярної води, а

також катіонів. Наприклад, вони можуть фіксувати іони кальцію в осередках осифікації. Протеоглікани складаються з полісахаридів (приблизно 95 % молекули) і білків (5 %). Глікопротеїни також складаються з вуглеводного компонента й білка, але у глікопротеїнах білковий компонент переважає над вуглеводним. Полісахаридні ланцюги протеогліканів називаються глікозаміногліканами (або мукополісахаридами). Оскільки ці речовини переважно виявлялися в слизових субстанціях, до назви полісахаридів був доданий префікс «муко-». Пізніше термін «мукополісахариди» був замінений на термін «глікозаміноглікани». Полісахариди, як відомо, це полімери, що складаються з моносахаридів, з'єднаних глікозидними зв'язками. Глікозаміноглікани є лінійними нерозгалуженими полімерами, побудованими з повторюваних дисахаридних одиниць. Обов'язковий компонент дисахаридної одиниці — гексозамін, представлений глюкозаміном або галактозаміном. Другий головний мономер представлений гексууроною кислотою або галактозою. Один із цукрів у дисахариді має негативно заряджену карбоксильну або фосфатну групу. Тому глікозаміноглікани називають ще кислими мукополісахаридами. Найважливіші глікозаміноглікани — це гіалууронова кислота, хондроїтин-4-сульфат, хондроїтин-6-сульфат, дерматансульфат, кератансульфат, гепарин, гепаринсульфат.

Гіалууронова кислота складається з повторюваних дисахаридних одиниць, утворених із D-глюкуронової кислоти й ацетил-D-глюкозаміну. Вважають, що основна функція гіалууронової кислоти в сполучній тканині — зв'язування води. Важлива також роль гіалууронової кислоти в регуляції проникності тканин.

α -1,4-глікозидний зв'язок між дисахаридними одиницями гіалууронової кислоти гідролізує α -гіалуронідаза (лізосомальний фермент). Глікозидні зв'язки в дисахариді між гіалууроною кислотою і N-ацетилглюкозаміном гідролізує лізосомальний фермент α -глюкозидаза. При розщепленні гіалууронової кислоти підвищується проникність тканин.

Хондроїтин-4-сульфат і *хондроїтин-6-сульфат* складаються з повторюваних дисахаридних одиниць, представлених глюкуроною кислотою й ацетил-галактозамін-4-сульфатом або ацетил-галактозамін-6-сульфатом (залишок H_2SO_4 зв'язаний з 4-м або з 6-м атомом Карбону похідного галактозаміну). Хондроїтинсульфати — основний полісахарид хряща. *Дерматансульфат* міститься в значних кількостях у шкірі. *Кератансульфат* уперше був виділений з рогової оболонки ока, але входить до складу й хрящової тканини. *Гепарин* і *гепаринсульфат* відомі насамперед як антикоагулянти.

З віком у сполучній тканині зменшується вміст води й співвідношення основна речовина/волокна. Зменшення цього коефіцієнта відбувається за рахунок наростання вмісту колагену і в результаті зниження концентрації глікозаміногліканів, особливо гіалууронової кислоти.

Відбуваються також структурні зміни колагену. У тропоколагенових субодиницях і між ними утворюється все більше поперечних зв'язків, що робить фібрили колагену в сполучній тканині більш твердими і ламкими. Це змінює механічні властивості хрящів і сухожиль, робить більш ламкими кістки, знижує прозорість рогівки ока.

Особливості складу кісток

Кісткова тканина відповідно до своєї біологічної функції відрізняється міцністю і щільністю. Ці властивості ґрунтуються на високому вмісті мінеральних речовин у кістковій тканині. Водночас кістки еластичні, що обумовлено їх органічними складовими частинами — як і всі складові елементи організму, вони перебувають у постійній перебудові, причому органічні й неорганічні речовини увесь час синтезуються і руйнуються.

Кісткова тканина складається з таких елементів:

- неорганічні речовини (кристаліти);
- органічна (основна) речовина — матрикс;
- клітинні елементи.

Склад кісток значно варіює. Він залежить від віку і відмінностей між окремими кістками. Навіть склад однієї кістки неоднаковий у спонгіозній або компактній її частинах. У середньому кісткова тканина має склад, наведений у табл. 18.1.

Таблиця 18.1

Хімічний склад кісток, %

Складові речовини	Частка сирової маси
Мінеральні речовини:	50
— кальцій	25–29
— фосфор неорганічний	14–16
— карбонат (32)	3–4
— цитрат	1
— магній	0,3–0,7
2. Органічні речовини:	30
— білки:	20
— колаген, % до загального білка)	90–96
— неколагенові білки	4–10
— жири	10
3. Вода	20

Мінеральні речовини кістки становлять близько 1/4 об'єму кістки і містять кальцій, фосфор, карбонат, цитрат, магній, натрій, калій та інші йони. Решта — це органічні компоненти й вода. Однак внаслідок різної питомої ваги органічних і неорганічних компонентів на частку нерозчинних мінералів (див. табл. 18.1) припадає половина маси кістки.

Основними компонентами мінеральних речовин кістки є кальцій і фосфор. Усього в організмі дорослої людини міститься: 1–2 кг кальцію (у кістках і зубах — близько 99 %), 1 кг фосфору (у кістках і зубах — 75 %). Кальцій і фосфор у кістковій тканині становлять основу гідроксіапатиту — $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Ці кристали мають певну форму: ширина від 20 до 50 Å, довжина — до 500 Å.

Кристали кістки мають три іонообмінні зони: внутрішню, зовнішню й гідратну оболонки. Найважче доступна для іонного обміну внутрішня зона. Обмін іонів у зовнішній зоні кристалів відбувається швидше. Практично будь-який іон може проникнути через гідратну оболонку в зовнішню зону, але тільки деякі з них там концентруються, причому частина з них може потрапити у внутрішню зону. Кристали гідроксіапатиту становлять лише частину мінеральної фази кістки, решта представлена аморфним (некристалічним) фосфатом кальцію. Цей мінерал в аморфному стані сприяє початку кальцифікації. Аморфний фосфат кальцію переважає в ранньому віці, у зрілому ж у кістках переважає гідроксіапатит.

Вміст цитрату в кістковій тканині становить близько 1 %. Кістки служать своєрідним депо лимонної кислоти в організмі. До 90 % усіх цитратів організму утримується саме в кістках (головним чином у формі натрієвої солі). Лимонна кислота, з'єднуючись із кальцієм, утворює його транспортну форму. В умовах авітамінозу D_3 знижується кількість цитрату в кістках і крові, але зростає виділення його з сечею. Тому при рахіті рекомендується призначати дітям вітамін D_3 разом із лимонною кислотою. Певну роль в обміні кісткової тканини виконує молочна кислота, сприяючи резорбції кістки. Кісткова тканина містить іони натрію, які, імовірно, адсорбуються на поверхні кристалів, а не є інтегральною частиною кристалічної структури.

Нині відомо більше 30 остеотропних мікроелементів: фтор, стронцій, мідь, цинк, барій, берилій, кремній та ін. Ці мікроелементи можуть впливати на активність ферментів, брати участь у звапнуванні кістки і її декальцифікації. Так, фтор і стронцій входять до складу відповідно фторапатиту і стронцієвого апатиту, які істотно відрізняються за властивостями від гідроксіапатиту. При надлишковому надходженні в організм берилію, алюмінію, марганцю або стронцію розвиваються відповідно «берилієвий», «алюмінієвий», «марганцевий», «стронцієвий» рахіти, які не лікуються вітаміном D.

Органічна речовина кістки становить близько 3/4 її об'єму, за складом нагадує хрящ, надає пружності кістці. Органічна речовина кісткової тканини складається приблизно на 95 % із колагену, ксиліх і нейтральних мукополісахаридів, які розташовуються між кристалами. Колагенові білки становлять 90–96 % усіх білків твердих тканин і дентину зуба. Особливості амінокислотного складу колагенових білків: близько 20–30 % гліцину, близько 25 % сумарного вмісту проліну з гідроксипроліном, наявність гідроксилізіну, незначна кількість сірковмісних амінокислот. Колаген кістки, на відміну від колагену м'яких тканин, містить більше гідроксилізіну і менше лізіну. Колагенові білки відіграють роль матриці при мінералізації та утворенні кристалів гідроксіапатиту. При цьому важливе значення мають фосфогідроксіамінокислоти, насамперед фосфосерин. Фосфати можуть зв'язувати ϵ -амі-

ногрупи лізину фосфамідним зв'язком з утворенням фосфолізину.

Неколагенові білки кісткової тканини становлять 4–10 % від загального білка кістки. До цих білків належать альбумін, глікопротеїни і сіалопротеїни. Альбумін кістки утворює головну масу неколагенових білків кісткової тканини, за властивостями він близький до сироваткового альбуміну. Роль альбумінів кістки, як і інших неколагенових білків цієї тканини, вивчена недостатньо. Вважають, що неколагенові білки визначають імунологічні властивості кісткової тканини.

Глікопротеїни відрізняються від інших вуглеводно-білкових сполук природою вуглеводних груп. Вони не мають регулярно повторюваних дисахаридних структур, подібно до глікозаміногліканів містять невелику кількість моносахаридних залишків, включають широкий спектр цукрів: глюкозу, галактозу, глюкозамін, галактозамін, фукозу, сіалову кислоту (специфічний компонент глікопротеїнів).

Сіалопротеїни кістки містять велику кількість сіалової кислоти, галактозаміну, фосфату й інших компонентів. Ці сполуки виділені лише з кістки й дентину.

Клітинними елементами кісткової тканини є остеобласти, остеоденти й остеокласти, які розташовуються серед міжклітинної речовини. Відмінна риса остеобластів — значний розвиток ендоплазматичного ретикулула і пластинчастого комплексу, що характерно для клітин, інтенсивно секретуючих біологічно активні речовини. Остеобласти мають потужний апарат білкового синтезу. У цитоплазмі остеобластів синтезуються молекули тропоколагену, які швидко переходять у проміжну речовину, де відбувається утворення фібрил. Крім колагену, в остеобластах синтезуються глікозаміноглікани і протеоглікани.

Остеоцити за структурною організацією багато в чому подібні до остеобластів. Вони беруть участь в обміні мінеральних і органічних компонентів між кістковим матриксом і міжклітинною рідиною.

Встановлено, що обмін речовин у кістках досить інтенсивний. Так, у кістковій тканині щодня оновлюється від 10 до 20 % мінеральних речовин: із кісток скелета втрачається й у них повертається близько 700–800 мг кальцію. Тому дорослим людям рекомендується щодня вживати з їжею близько 800 мг кальцію, вагітним і жінкам, що годують грудьми, підліткам — до 1200 мг кальцію на день.

Мінеральна частина кісткової тканини являє собою величезну поверхню, що перебуває в постійному контакті з міжклітинною рідиною. Тому іони кальцію й фосфору можуть легко вступати в обмінні реакції з органічними компонентами міжклітинної рідини й брати участь у підтримці нормальної концентрації іонів крові. Досліди з міченим гліцином свідчать про повільний обмін колагену в кістковій тканині. Глікоген у кістковій тканині становить усього 5–8 мг на 100 г тканини. Глікогеноліз, гліколіз і цикл Кребса в кістках є, подібно до інших тканин, джерелом енергії.

Крім цього, у процесі розпаду глікогену утворюються фосфорні ефіри, що є джерелом неорганічного фосфату в процесі мінералізації кісткової тканини. У кістковій тканині інтенсивно перебігає анаеробний гліколіз.

Біохімічні механізми мінералізації кісток

Для новоутворення кістки необхідні синтез органічної субстанції, колагенових фібрил і їхня мінералізація. У всіх цих процесах остеобластам належить вирішальна роль. Вони синтезують глікозаміноглікани, а також розчинний проколаген, з якого утворюються нерозчинні фібрили. Існує кілька теорій мінералізації кісток і зубів. Складність харчування полягає, насамперед, у тому, що при фізіологічних умовах мінералізація відбувається тільки в кістках і зубах, хоча багато хімічних компонентів, що входять до складу цих тканин, утримуються й в інших немінералізованих тканинах.

Провідна роль у кальцифікації належить лужній фосфатазі, під її впливом у кістковій тканині з органічних фосфорних сполук вивільняється неорганічний фосфат, у результаті чого створюється концентрація перенасичення і в осад випадає фосфат кальцію. Однак лужна фосфатаза розщеплює органічні фосфати й в інших тканинах, але кальцифікація в них не відбувається, тобто не одна лужна фосфатаза є провідним фактором, що бере участь у мінералізації.

Ферментативний механізм, залучений до процесу осифікації, значно складніший, ніж простий гідроліз фосфорних ефірів; у ньому беруть участь й інші ферменти. З огляду на те, що глікоген, який міститься в гіпертрофованому хрящі, у період осифікації зникає, було зроблено припущення, що глікоген за участю фосфорилази розщеплюється до гексозофосфату. Останній за участю фосфатази розщеплюється з утворенням неорганічного фосфату. Участь глікогену й ферментів гліколізу в процесах мінералізації не викликає сумніву, однак ця теорія не розкриває механізму мінералізації солей у кальцифікуючих тканинах.

Концентрація фосфату в ділянках функціонування цих ферментів підвищується, досягаючи рівня, при якому починається його мимовільне осадження, що приводить до кристалізації.

Відповідно до іншої групи теорій, кристалізацію ініціюють компоненти органічного матриксу тканин. Висловлювалося кілька припущень, який саме органічний компонент матриксу відповідальний за виникнення центрів кристалізації та яким є механізм їхнього утворення. Вивчення функції колагену в процесах мінералізації дозволило припустити, що колаген може ініціювати утворення апатитових кристалів на макромолекулах колагенових фібрил.

Прихильники іншої теорії провідну роль у мінералізації відводили вільному або зв'язаному з білками хондроїтинсульфату. Підтвердженням важливої ролі хондроїтинсульфатів в осифікації були дані, на яких і будувалася ця теорія: хондроїтинсульфати інтенсивно секретуються в зоні мінералізації; блокаду кальцифікації спричиню-

ють іони стронцію та інші метали, які утворюють комплекси з хондроїтинсульфатом.

Можна уявити таку послідовність біохімічних реакцій мінералізації. Фібробласти й остеобласти кісткової тканини синтезують і виділяють у навколишнє середовище фібрили колагену, які з'являються в матриці, що містить протеоглікани і глікозаміноглікани. Хоча таке поєднання колагену і глікозаміногліканів часто зустрічається в тканинах організму тварин, мінералізація в нормі відбувається тільки в певних ділянках, «призначених» для формування кістки. Мінеральні компоненти надходять із навколишньої рідкої фази, що є «пересиченою». Утворення кристалів індукуються нуклеацією, тобто виникненням поверхні, на якій може легко відбуватися формування кристалічної решітки.

Формування мінеральних кристалічних решіток починається в зоні, що перебуває між колагеновими фібрилами. Головним фактором є взаємне розташування сусідніх триланцюгових спіральних молекул колагену. У нативному колагені фібрили, що знаходяться поруч, розташовані у волокні таким чином, що ідентичні групи сусідніх тропоколагенових молекул виявляються не поруч, а зміщені на чверть довжини молекули тропоколагену.

У процесі формування кістки кристали утворюються спочатку в зоні колагенових волокон, у результаті підвищення проникності клітинних мембран відбувається вихід із лізосом гідролаз (протеїназ, фосфатаз й ін.). Під дією ферментів вивільняються реакційні групи колагену й стають доступними для взаємодії з фосфатом, утворюючи ядро кристалізації. Водночас іони Кальцію й Фосфору, раніше адсорбовані глікозаміногліканами, вивільняються й можуть концентруватися навколо ядер кристалізації, утворюючи перші мікрокристали кісткової солі. Потім вони, у свою чергу, стають центрами для відкладення гідроксіапатиту в просторі між колагеновими волокнами.

Формування кістки відбувається тільки в безпосередній близькості від остеобластів, причому мінералізація розпочинається в хрящі, що складається з колагену, який перебуває в протеоглікановому матриці. Протеоглікани відіграють роль пластифікаторів для колагенової сітки, підвищуючи її розтяжність і збільшуючи ступінь набрякання. У зоні кальцифікації відбувається деградація комплексів білок-полісахарид у результаті гідролізу білкового скелета лізосомальними протеїназами клітин кістки. У міру росту кристали «вितискають» не тільки протеоглікани, але навіть воду. Щільна, повністю мінералізована кістка практично зневоднена; колаген становить близько 20 % маси й 40 % об'єму кісткової тканини, решта припадає на мінеральну частину.

Встановлено, що кристали гідроксіапатитів ростуть на матриці білків тканини кістки або зуба. Ініціаторами росту є серин, лізин, інші амінокислоти, що піддаються фосфорилюванню в поліпептидному ланцюзі білка. Фосфорилюван-

ня серину відбувається за рахунок АТФ. Фосфосерин має негативний заряд і приєднує кальцій (Ca^{2+}), а Ca^{2+} — знову ортофосфат і т. д., поки не утвориться кристал гідроксіапатиту. Лізин теж легко приєднує до себе ортофосфат з утворенням фосфолізину. Крім протеїнази, важливу роль у мінералізації зубів і кісток відіграє лужна фосфатаза. Так, у остеобластів вона створює високу локальну концентрацію неорганічного фосфату. Фосфат кальцію за цих умов осаджується.

Оскільки величина локального утворення H^+ може впливати на мінералізацію й демінералізацію кісток, карбоангідраза відіграє важливу роль при переносі й нагромадженні H^+ у деяких органах (нирках і шлунку, у клітинах вторинної губчатої тканини метафіза). Існує думка, що поряд із цитратом і лактатом карбоангідраза, беручи участь у процесі секреції H^+ , може істотно впливати на приплив Ca^{2+} у кісткові клітини й вихід його з них.

Сьогодні відомо близько 60 різних кальцій-зв'язуючих білків, які приєднують Ca^{2+} до вільних карбоксильних груп глутамінової й аспарагінової кислот у білках. Крім того, у зачатку зуба є γ -карбоксиглутамінова кислота, що має три COOH -групи, тому білки незрілої емалі швидше кристалізуються.

Регуляція мінералізації кісток і зубів вітамінами й гормонами

Виражена регуляторна дія на процес мінералізації вітамінів А, D, Е і С, а також таких гормонів, як соматотропний гормон (СТГ), паратгормон (паратиреокальцитонін), тиреокальцитонін, глюкокортикоїди, естрогени.

Vitamin D сприяє всмоктуванню кальцію в кишечнику і відкладанню його в кістках і зубах. Через нерозчинність більшості солей Ca^{2+} його всмоктуванню сприяє 1,25-діоксихолекальциферол, який стимулює утворення в кишечнику Са-зв'язуючого білка, що разом із Са-залежною АТФазою бере участь у транспорті Са. Недостатня резорбція Са сприяє його підвищеному виходу з кісткового депо і підвищеному виведенню з сечею (разом із фосфатами). Концентрація обох іонів у крові знижена. Недостатня кальцифікація стимулює проліферацію остеобластів, що супроводжується підвищенням активності лужної фосфатази в сироватці крові.

При авітамінізмі D_3 розвиваються рахіт і остеомалія. Ці захворювання пов'язані переважно з недостатньою реабсорбцією Са в кишечнику через дефіцит вітаміну D_3 . Рахіт — хвороба дитячого віку. Остеомалія (зниження мінералізації кісткового матриксу) — захворювання дорослих також спричинене дефіцитом вітаміну D_3 .

При гіпервітамінізмі D_3 порушується фосфорно-кальцієвий обмін, впливаючи не тільки на кістки, а й на м'які тканини. Спостерігається відкладання кальцію в складі солей на стінках кровоносних судин і у внутрішніх органах.

На розвиток кістки і зуба також впливає *вітамін А*. При гіповітамінізмі А у молодих тварин ріст скелета уповільнюється раніше, ніж ріст

м'яких тканин. Припинення або уповільнення росту кісток є раннім проявом дефіциту вітаміну А. Очевидно, це явище зумовлене порушенням синтезу хондротинсульфату, що може бути пов'язане з відсутністю аденозинфосфосульфату (необхідний для синтезу хондротинсульфату) і сульфатазною активністю в лізосомах. Раннє порушення росту кісток черепа призводить до ушкодження тканин центральної нервової системи, оскільки ці тканини продовжують рости після припинення росту кісток. При надходженні в організм надлишкових, але не летальних доз вітаміну А в дітей розвивається резорбція кісток, що може бути причиною множинних переломів довгих кісток або їхньої деформації. Імовірно, це обумовлено деполімеризацією і гідролізом хондротинсульфату, що входить до складу хряща.

При авітамінозі Е патологічні зміни в кістках порожнини рота нагадують парадонтит із порушенням синтезу колагену в альвеолярному відростку.

Вітамін С також має істотне значення для розвитку кісток і зубів — при його дефіциті мезенхімальні клітини не виробляють нормальний колаген, тому що вітамін С необхідний для гідроксилювання проліну і лізину. Це призводить до ослаблення процесу кальцифікації, тобто остеомалачії. Остеопороз — порушення утворення колагену в остеобластах, що також супроводжує гіповітаміноз С. Ріст скелета затримується в умовах будь-якої недостатності, у тому числі й при недостатній калорійності їжі, недостатній кількості білків, вуглеводів, жирів та інших компонентів. Однак тільки при дефіциті Са, неорганічного фосфату, вітамінів А, Д і С спостерігаються характерні ураження кісток, відмінні від спостережуваних при виснаженні.

Соматотропний гормон (СТГ) впливає на ріст і розвиток кісток та інших тканин. Такі захворювання, як акромегалія, гіпофізарний нанізм безпосередньо пов'язані з порушенням балансу цього гормону в організмі. Його вплив на ріст кісток пов'язаний не стільки з обміном кальцію, скільки з анаболічною дією цього гормону на білковий обмін, що веде до збільшення білкового каркаса кісток.

На процес мінералізації кісток впливає *паратгормон*. При надлишковому його утворенні підвищується кількість кальцію і неорганічного фосфату в крові. Клітинами-мішенями цього гормону є клітини кісткової тканини та нирок. На ці клітини він діє через цАМФ і протеїнкінази. Молекулярні механізми впливу паратгормону на фосфорно-кальцієвий обмін такі: паратгормон знижує в кісткових клітинах активність ферменту ізоцитратдегідрогенази, що пригнічує активність ферменту лужної фосфатази. Пригнічення паратгормоном активності ізоцитратдегідрогенази сприяє підвищенню концентрації ізоцитрату і цитрату. Це спричинює пригнічення функції лужної фосфатази, тому що оптимум її дії проявляється при рН=9. Зменшення кількості фосфорної кислоти приводить до того, що кальцій з'єднується з цитратом з утворенням цитра-

ту кальцію. Ця сіль добре розчинна у воді, легко дифундує з кісткових клітин у кров, де розщеплюється на цитрат й кальцій. Отже, змінюючи активність лужної фосфатази та ізоцитратдегідрогенази, паратгормон регулює кількість кальцію і фосфору в кістковій тканині, крові та зубах. Крім цього, паратгормон ослаблює реабсорбцію фосфору в ниркових каналцях і цим сприяє виведенню надлишку фосфору. Паратгормон підвищує реабсорбцію кальцію в ниркових каналцях, що сприяє збереженню в крові концентрації іонів кальцію. Регулятором продукції та секреції паратгормону є концентрація Ca^{2+} у крові. Зниження її приводить до стимуляції синтезу і вивільнення гормону, а збільшення має зворотні ефекти. При гіперпродукції паратгормону в крові підвищується вміст кальцію і знижується концентрація фосфору. При тривалому гіперпаратиреоїдизмі починає руйнуватися не тільки основна речовина кістки, а й колаген кісток, у сечі виявляється багато гідроксипроліну і пептидів, що містять гідроксипролін.

У регуляції фосфорно-кальцієвого обміну бере участь гормон щитоподібної залози *тиреокальцитонін*. Він є функціональним антагоністом паратгормону. В остеocyтах тиреокальцитонін інгібує ферменти, що руйнують кісткову тканину, тим самим сприяючи зниженню концентрації кальцію в крові й затримці його в кістковій тканині. Крім цього, тиреокальцитонін сприяє виведенню фосфору з сечею, тобто діє як синергіст паратгормону. Отже, тиреокальцитонін сприяє гіпокальціємії та гіпофосфатемії. Його дія здійснюється через цАМФ і протеїнкінази. Регуляція синтезу й вивільнення тиреокальцитоніну зумовлені концентрацією кальцію в крові: її підвищення стимулює синтез і секрецію гормону, а знижена концентрація кальцію інгібує ці процеси.

Глюкокортикоїди також впливають на мінералізацію кісткової тканини. Під впливом надлишку цих гормонів відбувається пригнічення біосинтезу колагену і сульфатованих глікозаміногліканів. Можливо, мукополісахариди під впливом глюкокортикоїдів втрачають специфічні властивості зв'язувати іони кальцію.

Естрогени інгібують утворення лактату, що сприяє збільшенню мінералізації кісток і зубів внаслідок підвищення рН.

18.4. БІОХІМІЯ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ. ПАТОБІОХІМІЯ ПСИХІЧНИХ ПОРУШЕНЬ

Нервова тканина складається з трьох клітинних елементів: нейронів (нервових клітин) в головному і спинному мозку; нейроглії — системи клітин; мезенхімальних елементів, що включають мікроглію (клітини Гортега). Основна маса головного мозку — це перші два типи клітинних елементів. Нейрони зосереджені в сірій речовині (60–65 % від речовини головного мозку), тоді як біла речовина ЦНС і периферичні нерви утворю-

ються переважно з елементів нейроглії та їх похідного мієліну.

Нейрон складається з тіла клітини, численних розгалужених коротких відростків — дендритів і одного довгого відростка — аксона, довжина якого може сягати кількох десятків сантиметрів. Тіло нейрона обмежене плазматичною мембраною — плазмолемою.

Нервові волокна, утворені з волокон нервових клітин (аксони), можуть бути поділені на два типи: м'якушеві (мієлінові) і безм'якушеві (бідні на мієлін). Мієлінові волокна функціонально більш досконалі, оскільки здатні з високою швидкістю передавати нервові імпульси. Мієлінова речовина — поняття суто морфологічне. Мієлін — це система, утворена мембранами, що багаторазово нашаровуються, клітин нейроглії навколо аксонів (наприклад, у периферичних нервових стовбурах нейроглія представлена лейкоцитами, або шваннівськими клітинами, а в білій речовині ЦНС — астроцитами макроглії). За хімічним складом мієлін — білково-ліпідний комплекс. На частку ліпідів у ньому припадає близько 80 % щільного залишку; 90 % усіх ліпідів мієліну представлено холестеролом, фосфоліпідами, цереброзидами.

Ділянки контакту між послідовно розташованими нейронами називаються синапсом. Синапс можна уявити як вузький простір — це щілина, обмежена з однієї сторони пресинаптичною мембраною, що належить пресинаптичному нервовому закінченню, з іншої — постсинаптичною мембраною, що належить постсинаптичному нервовому закінченню і має рецептори нейромедіатора. Мітохондрії виробляють АТФ, необхідний для концентрації нейромедіатора в секреторних везикулах, а також для зворотного всмоктування нейромедіатора у синаптичну щілину. Подібним чином побудовані нервово-м'язові синапси, але вони мають складнішу будову мембранного комплексу.

Особливості хімічного складу нервової системи

Сіра речовина головного мозку представлена в основному тілами нейронів, а біла речовина — аксонами. Через це існують кількісні відмінності в хімічному складі сірої та білої речовин головного мозку. Вміст води в сірій речовині головного мозку значно більший, ніж у білій (приблизно 84 % у сірій речовині й приблизно 70 % — у білій на сиру масу тканини). У сірій речовині білки становлять половину щільного залишку, а у білій — 1/3. На частку ліпідів у білій речовині припадає більше 50 % сухого залишку, а в сірій — близько 1/3.

Білки нервової тканини

Вміст білків у сірій речовині головного мозку становить близько 50 % у перерахунку на суху масу, а в білій — близько 33 %. У нервовій тканині містяться як прості, так і складні білки.

Прості білки — альбуміни (нейроальбуміни), глобуліни (нейроглобуліни), гістони, опорні білки (нейросклеропротеїни) та ін. Альбуміни і глобуліни головного мозку сироватки крові, їх називають нейроальбумінами і нейроглобулінами. У вільному стані вони зустрічаються рідко. Нейроальбуміни є основним білковим компонентом фосфопротеїнів нервової тканини. Нейроглобуліни легко з'єднуються з вуглеводами, ліпідами, нуклеїновими кислотами та іншими небілковими компонентами з утворенням відповідних складних білків.

Нейросклеропротеїни — це структурно-опорні білки (нейроколагени, нейроеластини, нейростроміни та ін.), що становлять 8–10 % від усіх білків нервової тканини. Вони локалізовані переважно в білій речовині головного мозку й у периферичній нервовій системі. До складних білків нервової системи належать нуклеопротеїни, ліпопротеїни, протеоліпіди, фосфопротеїни, глікопротеїни та ін.

Нуклеопротеїни, як і в інших тканинах, — це дезоксирибонуклеопротеїни (ДНП) і рибонуклеопротеїни (РНП).

Ліпопротеїни нервової системи містять як ліпідний компонент здебільшого фосфоліпіди і холестерол. Фосфопротеїни — це складні білки, небілковою частиною яких є залишок фосфорної кислоти, сполучений складноєфірним зв'язком із залишком серину. Вміст їх у головному мозку вищий, ніж в інших тканинах (близько 2 % усіх складних білків мозку).

Глікопротеїни становлять від 5 до 85 % вуглеводів у своїй структурі (решта — білок).

Пептиди нервової тканини

У головному мозку різних тварин виявлені специфічні рецептори морфіну. Ці рецептори зосереджені на синаптичних мембранах переважно лімбічної системи, від якої залежить емоційна відповідь. З мозкової тканини були виділені ендогенні пептиди, що імітують при ін'єкції різні ефекти морфіну. Ці пептиди, здатні специфічно зв'язуватися з опіатними рецепторами, дістали назву ендорфінів і енкефалінів. Обидва пептиди є фрагментами β-ліпотропіну — гормону передньої частки гіпофіза. Ендорфіни складаються з 15–30 амінокислотних залишків. Енкефаліни є пентапептидами. Обидва пептиди, як і морфін, мають анальгезуючу дію.

Ліпіди нервової тканини

До групи ліпідів нервової тканини входять фосфоліпіди, холестерин, сфінгомієліни, цереброзиди, гангліозиди і незначна кількість тригліцеридів.

Вміст фосфоліпідів у сірій речовині головного мозку становить 60 % від усіх ліпідів, а в білій речовині — близько 40 %. Навпаки, у білій речовині вміст холестерину, сфінгомієлінів і цереброзидів більший, ніж у сірій речовині. Вміст гангліозидів у головному мозку в 10–100 разів більший, ніж в інших органах. Гангліозиди перебувають

переважно у сірій речовині головного мозку, де вони становлять близько 6 % мембранних білків. У мембранах вони локалізовані здебільшого в тих специфічних ділянках нервових закінчень, де відбувається зв'язування молекул нейромедіатора в процесі передачі нервового імпульсу від однієї нервової клітини до іншої (рецепторні ділянки).

Вуглеводи нервової тканини

Порівняно з іншими тканинами, тканина мозку бідна на вуглеводи, водночас потреба мозку у вуглеводах дуже значна. Із вуглеводів у головному мозку найбільше глікогену і глюкози. Вміст глікогену в мозку становить 1,0–1,5 г/кг, тоді як у м'язах — 10–20 г/кг. Близько 80 % глікогену зв'язано з білками і ліпідами, лише близько 20 % їх перебуває у вільному стані. Вміст глюкози в тканині мозку близько 0,5 г/кг (1–4 мкмоль на 1 г тканини). Мозок поглинає глюкози вдвічі більше, ніж м'язи, і втричі більше, ніж нирки.

Особливості обміну речовин у нервовій системі

Обмін вуглеводів. На частку головного мозку припадає 2–3 % маси тіла. Однак споживання кисню головним мозком у стані спокою сягає 20–25 % від загальної кількості кисню, спожитої організмом. У дітей віком 4 роки мозок споживає навіть 50 % кисню, що утилізується організмом. Це доводить високу інтенсивність тканинного дихання в мозковій тканині. Основним енергетичним матеріалом головного мозку є глюкоза. За добу мозок поглинає близько 120 г глюкози. У стані спокою мозок витрачає близько 60 % глюкози, спожитої організмом. Із цієї кількості 85–90 % її окиснюється до CO_2 і H_2O за участю циклу Кребса. Деяка кількість глюкози окиснюється в пентозофосфатному циклі. Піровиноградна кислота як проміжний продукт гліколізу в значних кількостях використовується для синтезу амінокислот.

У розрахунку на всю масу головного мозку, вміст глюкози становить близько 750 мг. За одну хвилину тканина мозку окиснює 75 мг глюкози, отже, кількість глюкози, що міститься в тканині головного мозку, могла б бути достатньою тільки на 10 хв життя людини. Основним джерелом глюкози головного мозку є глюкоза крові, що легко дифундує з крові в тканину мозку, де концентрація глюкози нижча, ніж в артеріальній крові. При недостатньому надходженні глюкози з крові джерелом глюкози у головному мозку є глікоген мозку. При надлишку глюкози в мозку вона використовується на біосинтез глікогену. Однак запаси глікогену в мозку незначні, тому мозок потребує постійної доставки глюкози кров'ю.

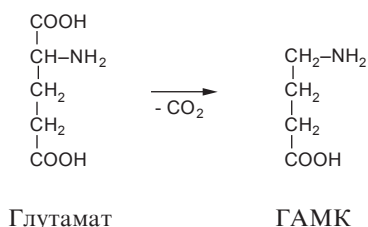
Отже, глюкоза — практично єдине джерело енергії в мозку людини, при тривалому голодуванні джерело енергії — кетонові тіла. При нетривалому голодуванні після витрати глікогену мозку

ку витрачається глікоген печінки. При тривалому голодуванні глюкозу заміняють кетонові тіла — ацетоацетат і гідроксибутират, що утворюються в печінці з жирних кислот. Запаси жиру в організмі набагато перевищують запаси глікогену; при голодуванні запасів глікогену вистачає лише на кілька днів. Використання мозком кетонів тіл під час голодування дозволяє зберегти білки м'язів, які через процес глюконеогенезу служать для мозку останнім джерелом глюкози при голодуванні.

Обмін ліпідів. У тканині мозку інтенсивно відбувається обмін (біосинтез і розпад) фосfolіпідів, які містяться в значних кількостях у нервових клітинах. Обмін ліпідів мієлінових оболонок перебігає дуже повільно. У тканині головного мозку дорослої людини міститься близько 25 г холестеролу. У немовлят у головному мозку всього близько 2 г холестеролу; кількість його зростає протягом першого року життя приблизно втричі. При цьому біосинтез холестеролу відбувається в самій тканині мозку. У дорослих людей синтез холестеролу в головному мозку різко знижується, аж до повного припинення. Як уже зазначалося, при тривалому голодуванні в головному мозку інтенсивно використовуються кетонові тіла — продукти розпаду жирних кислот.

Обмін білків і амінокислот. Білки головного мозку перебувають у стані активного відновлення, тобто розпад і біосинтез цих сполук відбувається дуже інтенсивно, особливо відновлення білків у сірій речовині головного мозку й у мозочку; менша швидкість синтезу і розпаду білків у білій речовині мозку і в аксонах.

Нервова тканина багата на вільні амінокислоти. Загальний вміст їх у тканині мозку людини у 8 разів перевищує концентрацію у крові. Особливо багата нервова тканина на вільну глутамінову кислоту. Концентрація її в мозку вища, ніж у будь-якому іншому органі ссавців (10 мкмоль/г). Пул вільних амінокислот мозку використовується, по-перше, для синтезу білків, по-друге, для утворення біогенних амінів, по-третє, дикарбонові амінокислоти зв'язують аміак, що вивільняється при збудженні нервових клітин. Глутамінова кислота відіграє особливу роль у зв'язуванні аміаку — дуже отруйної речовини, особливо для нервової системи. Вона здатна зв'язувати аміак з утворенням глутаміну — нешкідливої для нервової тканини речовини. Безпосереднім джерелом глутамінової кислоти в мозку є відновне амінування α -кетоглутарової кислоти. Крім того, глутамінова кислота утворюється в процесі переамінування. Активність АСТ у мозку значно вища, ніж у печінці й особливо в нирках. Дезамінуючись, глутамінова кислота перетворюється на α -кетоглутарову кислоту, що може окиснюватися в циклі Кребса. Крім того, глутамінова кислота в нервовій тканині може декарбоксилюватися під дією ферменту глутамат-декарбоксилази з утворенням γ -аміномасляної кислоти (ГАМК, γ -амінобутират). Найбільша кількість ГАМК міститься в сірій речовині головного мозку і значно менше — в спинному мозку і периферичних нервах:



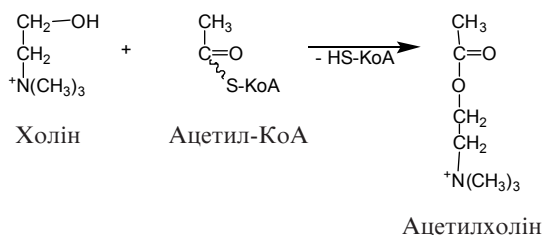
Медіатори нервової системи (нейромедіатори)

Передача імпульсів від нейрона до нейрона, а також від них іншим органам відбувається за допомогою нейромедіаторів (від лат. *mediator* — посередник). Хімічна речовина вважається нейромедіатором, якщо задовольняє таким критеріям.

У нервових клітинах повинні міститися ферменти, необхідні для синтезу і нагромадження цієї речовини в достатній кількості в пресинаптичному нервовому закінченні.

Ця речовина буде вивільнятися з пресинаптичного нерва в потрібний час і в кількості, достатній для впливу на постсинаптичний нерв. Всім цим критеріям задовольняють такі речовини, як ацетилхолін і норадреналін. Нерви, що їх містять, називають відповідно холінергічними і адренергічними, а еферентні системи — холінергічними й адренореактивними. Відповідні реактивні системи містять холінергетичні й адренорецептори. Деякі інші хімічні речовини задовольняють багатьом, але не всім вищезгаданим критеріям. До таких нейромедіаторів належать адреналін, дофамін, серотонін, гістамін, ГАМК та ін.

Ацетилхолін. Ацетилхолін (АХ) синтезується в синапсах парасимпатичної, симпатичної та центральної нервової систем (переважно в сірій речовині головного мозку) з холіну й ацетил-КоА за допомогою ферменту холінацетилтрансферази:



При збудженні пресинаптичного нерва відбувається деполаризація мембрани синаптичних закінчень, що приводить до швидкого потоку іонів Ca^{2+} у клітину. Збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів Кальцію запускає процес вивільнення ацетилхоліну зі спеціальних пухирців закінчення. Для викиду вмісту одного пухирця необхідно приблизно чотири іони Кальцію. Виділений у синаптичну щілину ацетилхолін вступає у взаємодію з холінергетичним

білком, що входить до складу постсинаптичної мембрани. Це приводить до конформаційних змін білка-рецептора і зміни проникності постсинаптичної мембрани — різко збільшується її пропускна здатність для іонів Натрію. Через це відбувається збудження постсинаптичного нейрона або ж виконання ефекторною клітиною своєї специфічної функції. Після виділення АХ із синаптичних пухирців повинна настати фаза його швидкої інактивації, щоб підготувати синапс до сприйняття нового імпульсу. У холінергічних синапсах це відбувається двома шляхами:

— ацетилхолін піддається гідролізу на холін і оцтову кислоту під дією ферменту ацетилхолін-естерази;

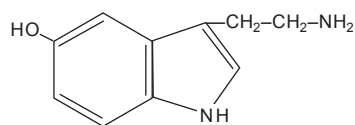
— енергозалежний транспорт ацетилхоліну в нейрон, де він нагромаджується для наступного повторного використання.

Існують 2 види ацетилхолінергічних рецепторів: м- (мускаринові), що активуються мускарином, та н- (нікотинові), що активуються нікотином. Інгібітором м-холінергетичних рецепторів є атропін, інгібітором н-холінергетичних рецепторів — курареподібні речовини, які широко використовуються у медичній практиці.

Катехоламіни

До нейромедіаторів катехоламінів належать адреналін, норадреналін і дофамін. Їх називають гормонами-медіаторами, оскільки їм властиві обидві регуляторні функції: адреналіну — переважно гормональна, норадреналіну — нейромедіаторна. Катехоламіни синтезуються з амінокислоти тирозину в закінченнях симпатичних нервів, гіпоталамусі й надниркових залозах. Катехоламіни реагують з адренорецепторними білками (адренергічними рецепторами) в адренореактивній системі. Існує два види цих рецепторів: α - і β -адренергічні. Перші взаємодіють з аміногрупою катехоламінів, другі — з гідроксильною. Встановлено, що як тільки β -адренергічний рецептор, розташований на зовнішній поверхні мембрани ефекторної клітини, почне взаємодіяти з норадреналіном, на внутрішній поверхні клітинної мембрани активується аденілатциклаза. Під дією цього ферменту АТФ перетворюється на цАМФ, який, у свою чергу, здатний впливати на метаболізм клітини.

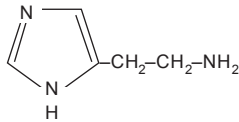
Серотонін синтезується з амінокислоти триптофану в основному в ядрах мозкового стовбура, а також у гладких клітинах шкіри, шлунковому тракті, селезінці та тромбоцитах крові. Нейромедіаторна роль серотоніну пов'язана з взаємодією його зі специфічними серотонінергічними рецепторами. Серотонін гальмує функції нервової системи, впливає на процеси сну.



Серотонін

Гістамін

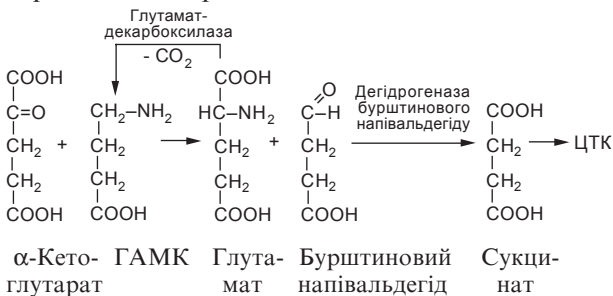
Гістамін утворюється з амінокислоти гістидину під дією ферменту гістидиндекарбоксилази. Гістамін міститься у деяких відділах гіпоталамуса, пре- і постгангліонарних волокнах, а також у шкірі, легенях, печінці, тобто в органах і системах, які найбільшою мірою сприймають вплив зовнішнього середовища.



Більша частина гістаміну в крові й інших тканинах перебуває у зв'язаному з білками стані. Під впливом нервових імпульсів і деяких речовин (різних алергенів) відбуваються відокремлення гістаміну від білкових молекул і його вплив на організм. Гістамін розширює судини (артеріоли, капіляри), регулює тонус гладких м'язів, підсилює секрецію травних соків і виконує деякі інші функції. Виділення надлишкової кількості гістаміну — один із механізмів розвитку шоку (больового, алергічного), через що гістамін дістав назву шокогенного аміну. Усунення надлишку гістаміну відбувається під дією ферменту гістамінази. Інактивація гістаміну відбувається також шляхом метилування його імідазольного кільця з утворенням метилгістидину, у результаті його ацетилювання (у реакції з ацетил-КоА) і зв'язування з білками (протеїнізація гістаміну).

γ-Аміноасляна кислота

γ-Аміноасляна кислота (ГАМК) утворюється з глутамату під дією глутаматдекарбоксилази, діє гальмівно на нейрони головного і спинного мозку. Механізм її дії такий: ГАМК збільшує проникність постсинаптичних мембран для K^+ і тим самим віддаляє мембранний потенціал від граничного рівня. Інактивується ГАМК шляхом переамінування в мітохондріях постсинаптичної зони з α-кетоглутаровою кислотою (α-КГ) і перетворенням на бурштиновий напівальдегід під впливом ГАМК-α-кетоглутаратамінотрансферази, а також за допомогою адсорбції на мембранах.



Бурштиновий напівальдегід окиснюється в сукцинат — субстрат, що інтенсивно окиснюється у ЦТК. Таким чином, α-кетоглутарат може вступати в ЦТК і окиснюватися, не піддаючись

складному окисному декарбоксилюванню. Весь цей ланцюг реакцій називається метаболічним γ-амінобутиратним шунтом. Його перевага полягає в тому, що для окиснення сукцината необхідний як кофермент тільки ФАД, що вступає у тканинне дихання на другому етапі, а для складного окисного декарбоксилювання кетоглутарату потрібен цілий комплекс коферментів, у тому числі й КоА. Тому в умовах гіпоксії посилення γ-амінобутиратного шунта (в обхід α-кетоглутаратдегідрогенази) сприяє підтримці окисних процесів у мозку.

Біохімія виникнення і передачі нервового імпульсу

У стані спокою внутрішня сторона плазматичної мембрани має негативний заряд щодо зовнішньої поверхні. Це зумовлено тим, що кількість іонів Na^+ , яка виходить із клітини за допомогою натрієвого насоса, не врівноважується надходженням у клітину іонів K^+ (при розпаді 1 молекули АТФ у позаклітинний простір виходять 3 іони Na^+ , а всередину клітини переносяться 2 іони K^+). Частина іонів Na^+ утримується аніонами на зовнішній поверхні клітинної мембрани. У результаті цього створюється надлишок позитивно заряджених іонів на поверхні клітини, утворюється електронегативний заряд на внутрішній стороні клітинної мембрани — виникає *потенціал спокою*. При збудженні змінюється проникність мембрани нервової клітини (аксона): збільшується вибірково для іонів Натрію приблизно в 500 разів і залишається без змін для іонів K^+ . У результаті іони натрію спрямовуються всередину клітини, а потік іонів K^+ направляється з клітини, але значно повільніше, ніж потік натрію в клітину. Це приводить до виникнення негативного заряду на зовнішній поверхні клітинної мембрани і позитивного заряду — на внутрішній її поверхні. Відбувається перезарядження клітинної мембрани (зокрема мембрани аксона) і виникає потенціал дії (спайк, піковий потенціал), що становить близько +50 мВ. Тривалість його впливу не перевищує 1 мс. Він має фазу підйому, пік і фазу спаду. Остання фаза пов'язана з наростаючим переважанням виходу іонів калію над надходженням іонів натрію.

Після проведення нервового імпульсу в клітині відновлюється стан спокою. У цей період іони Натрію, що увійшли в нейрон при збудженні, замінюються на іони Калію. Цей перехід відбувається проти градієнта концентрації. Перехід іона Натрію проти градієнта концентрації здійснюється за допомогою натрієвого насоса. Як відзначалося раніше, завдяки натрієвому насосові відбувається перезарядження (зміна) мембранного потенціалу, що зумовлює проведення нервових імпульсів. Роль натрієвого насоса виконує Na^+ , K^+ -АТФаза. Передача нервового імпульсу від одного нейрона до іншого або вплив нервового імпульсу на клітини ефекторного органа відбувається за допомогою нейромедіаторів.

Вивчення механізмів пам'яті — важлива проблема медицини. Це стосується розробки систем навчання, реабілітації після ушкодження нервової системи, вікових змін. Відомо, що процес запам'ятовування супроводжується зміною хімізму нейронів, зокрема нуклеїнових кислот і ядерного хроматину. При запам'ятовуванні збільшується вміст уридину в РНК, ступінь метилювання ДНК та фосфорилування ядерних білків. Розрізняють генетичну, імунологічну та нейрологічну пам'ять. Явище спадковості є відображенням генетичної пам'яті, коли нуклеотидна послідовність ДНК зберігає і передає певні ознаки нащадкам. Імунологічна пам'ять базується на антигенному складі органів і тканин особи, що дозволяє ідентифікувати і знищувати чужорідні антигени. До імунологічної пам'яті належить явище набутого імунітету, коли імунна система, одноразово виробивши антитіла проти антигену певного збудника, продовжує продукувати специфічні антитіла протягом значного часу або навіть усього життя. У цьому випадку, поряд із генетичним апаратом, залучаються механізми синтезу білків. Нейрологічна пам'ять поділяється на короткочасну і довгострокову. Короткочасна пам'ять базується на передачі імпульсів по нейронних ланцюгах, що супроводжується продукуванням медіаторів, їх впливом на клітини (через іонотропні та метаботропні рецептори) з подальшою модифікацією метаболізму в них. Довгострокова пам'ять базується на залученні синтезу нуклеїнових кислот і білків, що спричинює утворення нових синаптичних зв'язків і появу в нервових клітин здатності синтезувати молекули, які зберігають отриману інформацію. Стає зрозумілим, що нейромедіатори збуджувального та гальмівного спрямування впливають на формування пам'яті. Узагальнюючи відомості про вплив окремих медіаторів на цей процес, можна дійти висновку, що збуджувальні медіатори збільшують можливості нейрологічної пам'яті, тоді як гальмівні медіатори зменшують такі можливості. Вважають, що фрагменти деяких гормонів гіпофіза (зокрема, кортикотропіну і вазопресину) є активаторами пам'яті й ці властивості не пов'язані з гормональною активністю. Імовірно, після виконання гормональної функції вказані гормони підлягають гідролізу з вивільненням олігопептидів, що впливають на пам'ять. З тканини мозку виділено близько 50 нейропептидів, що впливають на поведінкові реакції організму: сон, відчуття болю, страху, гніву. Оскільки велика кількість нейропептидів утворюється з одного попередника (проопіомеланокортину) шляхом обмеженого протеолізу під дією специфічних протеаз, то можна припустити, що в майбутньому,

регулюючи активність протеаз, з'явиться можливість впливати на психо-емоційні та поведінкові порушення у людини.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Біохімічні функції печінки: вуглеводна, білоксинтезувальна, сечовиноутворювальна, жовчоутворювальна, регуляція ліпідного складу крові.

2. Детоксикаційна функція печінки; типи реакцій біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсинів.

3. Реакції мікросомального окиснення. Цитохром Р-450; електроно-транспортні ланцюги в мембранах ендоплазматичного ретикулула гепатоцитів.

4. Реакції кон'югації в гепатоцитах: біохімічні механізми, функціональне значення.

5. Роль печінки в обміні жовчних пігментів. Патобіохімія жовтяниць; типи жовтяниць; спадкові (ферментні) жовтяниці.

6. Водно-сольовий обмін в організмі. Внутрішньоклітинна і позаклітинна вода; обмін води, натрію, калію.

7. Роль нирок у регуляції об'єму, електролітного складу та рН рідин організму. Біохімічні механізми сечоутворювальної функції нирок.

8. Ренін-ангіотензинова система нирок. Гіпотензивні лікарські засоби — інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту.

9. Біохімічний склад сечі людини в нормі та за умов розвитку патологічних процесів. Клініко-діагностичне значення аналізу складу сечі.

10. Біохімічний склад м'язів. Білки міофібрил: міозин, актин, тропоміозин, тропонін.

11. Молекулярні механізми м'язового скорочення. Роль іонів Ca^{2+} у регуляції скорочення та розслаблення м'язів.

12. Біоенергетика м'язової тканини; джерела АТФ; роль креатинфосфату в забезпеченні енергії м'язового скорочення.

13. Біохімія нервової системи: особливості біохімічного складу та метаболізму головного мозку.

14. Енергетичний обмін у головному мозку людини. Значення аеробного окиснення глюкози; зміни в умовах фізіологічного сну та наркозу.

15. Біохімія нейромедіаторів; рецептори нейромедіаторів і фізіологічно активних сполук.

16. Пептидергічна система головного мозку: опіоїдні пептиди, рецептори опіоїдних пептидів.

17. Порушення обміну медіаторів і модуляторів головного мозку при психічних розладах. Нейрохімічні механізми дії психотропних засобів.

Бібліотека студента-медика

Провідний редактор серії
В. М. Попов

Художнє оформлення серії
О. А. Шамиуріна

Навчальне видання

МАРДАШКО Олексій Олексійович
ЯСИНЕНКО Ніна Євгеніївна

БІОЛОГІЧНА ТА БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ

Навчальний посібник

Провідний редактор *В. М. Попов*
Редактор *Т. М. Ананьєва*
Художній редактор *О. А. Шамиуріна*
Художник *Р. О. Рудченко*
Технічний редактор *А. В. Попов*
Коректор *О. В. Титова*
Поліграфічні роботи *І. К. Каневський*

Підп. до друку 11.03.2008. Формат 60x84/8.
Папір офсетний. Друк різнографічний. Ум. друк. арк. 40,0.
Обл.-вид. арк. 54,0. Тираж 1000. Зам. 977.

Видано і надруковано Одеським державним медичним університетом,
65082, Одеса, Валіховський пров., 2.
Свідоцтво ДК № 668 від 13.11.2001

