

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ФАХОВИЙ КОЛЕДЖ

Предметна комісія біохімічних та екологічних дисциплін

Конспект лекцій
з дисципліни **МПН08 «Біохімія»**
для здобувачів освіти
спеціальності **162 «Біотехнології та біоінженерія»**
галузі знань **16 «Хімічна та біоінженерія»**

Розглянуто та рекомендовано до
затвердження на засіданні
Предметної комісії Біохімічних
та екологічних дисциплін
Протокол №1
від «31» серпня 2021 р.
Голова ПК Чабаненко О.Ю.
Підпис _____

Розробив викладач:
Чабаненко О.Ю.
Підпис _____

2021 р.
Зміст

Лекція №1	6 – 8
Вступ. Біохімія як наука	
Лекція №2	8 – 15
Розділ 1. Біомолекули та клітинні структури. Тема 1.1 Біохімічні компоненти клітин	
Лекція №3	15 – 24
Тема 2. Білки і пептиди. 2.1 Біологічні функції білків і пептидів. Будова й амінокислотний склад білків і пептидів Рівні структурної організації білкових молекул	
Лекція №4	24 – 27
2.2 Фізико-хімічні властивості білків	
Лекція №5	27 – 29
2.3 Методи виділення та аналізу білків і пептидів	
Лекція №6	29 – 39
3.2 Нуклеїнові кислоти: структура, властивості. Будова, властивості та біологічні функції ДНК	
Лекція №7	39 – 42
Тема 4. Вуглеводи та їх похідні. 4.1 I Моносахариди та їх похідні Складні вуглеводи. Олігосахариди. Гомополісахариди	
Лекція №8	42 – 45
Розділ II. Загальні закономірності метаболізму. Тема 6. Ферменти. Структура, властивості	
Лекція №9	46 – 51
Тема 7. Ферменти. Механізми каталізу. Кінетика. Регуляція. 7.1 Механізми дії ферментів	
Лекція №10	51 – 54
Тема 8. Обмін речовин: катаболізм, анаболізм. 8.1. Загальні закономірності обміну	
Лекція №11	54 – 58

Тема 9. Біоенергетичні процеси: транспорт електронів, окисне фосфорилування в мітохондріях. 9.1 Реакції біологічного окислення. Ферменти біологічного окислення. Молекулярна організація ланцюга біологічного окислення в мітохондріях

Лекція №12

58 – 60

Розділ III. Метаболізм основних класів біомолекул.

Тема 10. Метаболізм вуглеводів. Аеробне та анаеробне окиснення глюкози. 10.1 Шляхи внутрішньоклітинного катаболізму моносахаридів

Лекція №13

60 – 67

Тема 14. Метаболізм ліпідів. Катаболізм триацилгліцеролів та жирних кислот. 14. 1 Шляхи перетворення амінокислот у тканинах 14.2. Трансамінування амінокислот. 14.3 Дезамінування амінокислот

Лекція №14

68 – 77

Тема 17. Молекулярні реплікації ДНК та транскрипції РНК 17.1 Біологічне значення реплікації ДНК. Напівконсервативний механізм реплікації 17.2. Ферменти реплікації ДНК у прокариотів та еукаріотів 17.3 Молекулярні механізми реплікації ДНК

Лекція №15

78 – 83

Тема 18. Біосинтез білків у рибосомах. 18.1 Генетичний код та його властивості. 18.2 Рибосомальна білоксинтезуюча система

Лекція №16

84 – 94

Тема 19.2. Регуляція експресії генів. Генетичні рекомбінації. 19.1. Регуляція експресії генів у прокариотів. 19.2. Особливості молекулярної організації та експресії геному в еукаріотів

Лекція №17

94 – 97

Розділ V. Гормони в системі міжклітинної інтеграції функцій організму. Тема 20. Гормональна регуляція метаболізму та біологічних функцій клітини. Біохімічні системи внутрішньоклітинної трансдукції горманальних сигналів. 20.1 Гормони та біорегулятори: визначення, класифікація.

Лекція №18	97 – 107
23.2 Молекулярно-клітинні механізми дії пептидних гормонів та біогенних амінів	
Лекція №19	107 – 119
21.2 Гормони підшлункової залози та шлунково-кишкового тракту. 21.3. Тиреоїдні гормони	
Лекція №20	119 – 120
Тема 22. Гормональна регуляція метаболізму та біологічних функцій клітини. Гормони та інші біорегулятори ліпідного походження. 22.1 Загальна характеристика стероїдних гормонів	
Лекція №21	120 – 129
22.3. Стероїдні гормони статевих залоз. 22.4. Гормони — регулятори гомеостазу кальцію	
Лекція №22	129 – 131
Розділ VI. Біохімія фізіологічних функцій спеціалізованих тканин. Тема 23. Біохімія харчування людини. Компоненти харчування. Травлення поживних речовин. 23.1. Компоненти нормального харчування людини	
Лекція №23	131 – 136
23.2 Потреби організму людини і поживних сполуках	
Лекція №24	136 – 138
Тема 24. Біохімія харчування людини. Вітамінні як компонент харчування. 24.1. Вітамінні як компоненти харчування людини, хвороби вітамінної недостатності .	
Лекція №25	139 – 151
24.2 Коферментні вітамінні. Аскорбінова кислота та біофлавоноїди	
Лекція № 26	151 – 157

Тема 26. Біохімія згортальної і фібринолітичної систем крові.

26.1. Функціональні та біохімічні властивості системи гемостазу.

26.2. Згортальна система крові: компоненти, механізми активації

Лекція №27

157 – 162

27.3. Медіатори і гормони імунної систем. Біохімічні компоненти системи комплименту

Лекція №28

162 – 165

Тема 30. Біохімія нервової системи. Молекулярна психобіологія.

30.1 Особливості хімічного складу та метаболізму нервової системи фізіологічного активних сполук

Лекція №29

165 – 173

30.2. Нейромедіатори. Рецептори для нейромедіаторів

Лекція №1

Вступ. Біохімія як наука

Біологічна хімія - це наука про хімічний склад живих організмів та хімічні процеси, що відбуваються в організмах та є основою їх життєдіяльності.

Процеси обміну речовин супроводжуються поглинанням або виділенням енергії. Тому біохімія вивчає не лише процеси синтезу і розщеплення сполук в організмі, а й пов'язані з ними закономірності обміну енергії.

Предметом біохімії є:

1. Вивчення хімічного складу живих організмів.
2. Вивчення реакцій обміну речовин та законів, за яким вони здійснюються.
3. Вивчення взаємозв'язку між будовою речовин, їх перетворенням та функціонуванням органів та тканин, до яких вони належать.

Основне завдання біохімії – вивчити процеси життєдіяльності, а також способи обміну речовин і енергії в організмі.

У процесі становлення і розвитку біохімії, як окремої галузі науки, виникли і успішно розвиваються основні її напрями: статична, динамічна та функціональна біохімія.

Статична біохімія – досліджує хімічну природу і властивості речовин, що входять до складу організму.

Динамічна біохімія вивчає перетворення речовин в організмі і пов'язане з ним перетворення енергії, тобто обмін речовин і енергії в організмі.

Функціональна біохімія займається вивченням хімічних процесів, які є основою функціональної діяльності різних органів і систем.

Такий поділ є відносним, оскільки під час біохімічних досліджень усі вони взаємопов'язані.

Залежно від об'єкту дослідження біохімія поділяється на: біохімію *людини, тварини, рослини, м/о, вірусів* та *загальну* біохімію, яка вивчає вміст і перетворення речовин для живої матерії в цілому.

За напрямком досліджень виділяють *технічну* біохімію, яка розробляє біохімічні основи різних галузей промисловості (хлібопекарної, пиво-, виноробної, олієжирової, молоко- та м'ясопереробної тощо); *медичну* - вивчає обмін речовин і енергії в організмі людини і тварини; *еволюційну* - аналізується хімічний склад і перетворення речовин живих організмів в еволюційному плані.

Біохімія має велике значення для харчової промисловості, оскільки вивчає склад сировини, проміжних та кінцевих продуктів; процеси, що відбуваються при виробництві, зберіганні продукції рослинного і тваринного походження.

Загальні уявлення про обмін речовин

Обмін речовин – головна ознака живого організму.

Сукупність всіх хімічних перетворень у живому організмі складає обмін речовин, або **метаболізм**. Розрізняють дві сторони обміну речовин – **асиміляція** або **анаболізм** (синтез

складних молекул з простих) та **дисиміляція** або **катаболізм** (розклад складних молекул до простих компонентів). Процеси анаболізму супроводжуються поглинанням енергії, а катаболізму – її виділенням. Ці процеси взаємопов'язані і проходять паралельно.

Хімічний склад живого організму

У земній корі зустрічається близько 100 хімічних елементів, але для життя необхідні лише деякі з них.

За кількісним вмістом хімічні елементи поділяють на:

- *макроелементи* – O₂, C, H₂, K, Ca, S, Na, P, N₂, Mg, Cl, Fe;
- *мікроелементи* – Cu, Zn, Co, I₂;
- *ультрамикроелементи* – Mo, Pb, Ag.

Численні макро- та мікроелементи знаходяться у живій матерії у вигляді різноманітних хімічних сполук.

Основними хімічними сполуками, що входять до складу всіх живих організмів, є білки, вуглеводи, ліпіди, мінеральні солі, вода. Так, до складу організму людини масою 70 кг входить 21,4 % білків (15 кг), 1 – вуглеводів (0,7), 10 – ліпідів (7), 10 – мінеральних речовин (7) і 57 % води (40 кг). Крім того, у складі живих організмів міститься велика кількість інших органічних сполук – карбонових кислот, спиртів, альдегідів; у рослинах містяться також алкалоїди, барвники, дубильні речовини; ряд біологічно-активних сполук (вітаміни, гормони, ферменти).

Як видно з наведених даних, найбільшу масову частку серед хімічних сполук, які входять до складу живих організмів, становить вода. В деяких організмах (медузи) майже 99 % всієї маси – це вода.

Значення води у живому організмі:

1. Є *розчинником* біологічних сполук.
2. *Середовище*, в якому відбуваються біохімічні перетворення.
3. Бере участь у *реакціях* гідролізу, гідратації, синтезу та розпаду.
4. За участю води відбувається *транспорт* речовин.
5. *Структурна* функція – забезпечує підтримання структури біополі мерів, клітинних органел (мітохондрій, рибосом).
6. Підтримує *сталість показників* внутрішнього середовища організму – кислотно-лужної рівноваги, тиску, температури.

В організмі вода може знаходитись у вільному та зв'язаному станах.

Вільна вода міститься у рідинах організму – крові, слині, травних соках. Вільна вода знаходиться у міжклітинному просторі. Кількість міжклітинної води значно збільшується при різних видах патологій – захворюванні нирок, порушенні функцій серцево-судинної системи. За цих умов значна кількість вільної води може нагромаджуватись у підшкірній клітковині, м'язах, внаслідок чого спостерігаються набряки.

Більша частина води знаходиться в організмі у *зв'язаному* стані – приєднана до високомолекулярних сполук (наприклад, білків).

Питання для самоконтролю

1. Біохімічна характеристика живих організмів
2. Які елементи входять до складу живої матерії в найбільшій кількості?
3. Що є джерелом пластичних і енергетичних ресурсів організму?
4. Які системи забезпечують можливість пристосування організму до зовнішнього середовища?
5. Які неорганічні та органічні речовини входять до складу організму?

Лекція №2

Розділ 1. Біомолекули та клітинні структури. Тема 1.1 Біохімічні компоненти клітин

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

Особливості хімічного складу живих організмів

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

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

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

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

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

Таблиця 1 – Вміст хімічних елементів (%) в земній корі та в організмі людини

Елемент	Земна кора	Тіло людини
Кисень (O)	50,0	63,0
Кремній (Si)	28,0	сліди
Алюміній (Al)	9,0	-
Залізо (Fe)	5,0	0,004
Водень (H)	0,9	10,0
Вуглець (C)	0,09	20,0

Фосфор (P)	0,08	1,0
Азот (N)	0,03	3,0
Сірка (S)	0,05	2,0

Біохімічні компоненти клітини

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

Функції біомолекул у живих організмах.

- а) участь у біохімічних реакціях обміну речовин в ролі субстратів та проміжних продуктів (метаболітів). Прикладами є моносахариди та їх фосфорні ефіри, жирні кислоти та продукти їх окислення, амінокислоти, кетокислоти, дикарбонові кислоти, пуринові та піримідинові основи тощо;
- б) участь в утворенні інших, більш складних молекул — білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів, ліпідів (наприклад, амінокислоти, нуклеотиди, вищі жирні кислоти тощо), або біологічних структур (мембран, рибосом, ядерного хроматину тощо);
- в) участь у регуляції біохімічних процесів та фізіологічних функцій окремих клітин та цілісного організму. Біомолекулами-регуляторами є вітаміни, гормони та гормоноподібні сполуки, внутрішньоклітинні регулятори — циклічні нуклеотиди цАМФ, цГМФ тощо.

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

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



Рис. 1 – Фішер (Fischer) Еміль Герман (1852-1919) Наукові розробки з хімії пептидів, вуглеводів, пуринів. Нобелівська премія (1902).

Нуклеїнові кислоти та нуклеотиди. Нуклеїнові кислоти — дезоксирибонуклеїнові (ДНК) та рибонуклеїнові (РНК) — біополімери (біомакромолекули), що складаються з п'яти

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

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



Рис. 2 – Мішер (Miescher) Іоган Фрідріх (1844-1895). Першовідкривач нуклеїнових кислот.

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



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

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

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

Гормони — біомолекули, що є передавачами хімічних сигналів у системі ендокринної регуляції. Завдяки регуляторній дії гормонів, медіаторів нервової системи та наявності локалізованих на клітинах-мішенях біохімічних структур, що специфічним чином реагують на дію цих біорегуляторів зміною своєї функціональної активності (клітинних рецепторів), відбувається інтеграція окремих анатомо-фізіологічних систем у цілісний багатоклітинний організм.

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

Хімічний склад живих клітин відрізняється у прокаріотів та еукаріотів, і в багатоклітинному організмі суттєво залежить від функціональної спеціалізації клітини, що, в свою чергу, визначається її диференціацією, яка відбувається протягом раннього онтогенезу. Склад головних біохімічних компонентів у найбільш вивчених об'єктах дослідження біохімії та молекулярної біології — кишковій паличці *Escherichia Coli* (*E.Coli*) та печінці білих щурів — наведено в табл. 2.

Таблиця 2 – Хімічний склад (% загальної маси) метаболічно активних клітин прокаріотів та еукаріотів

Біохімічний компонент	<i>E. Coli</i>	Печінка щура
Білки	15	21
Нуклеїнові кислоти:		
ДНК	1	0,2

РНК	6	1
Вуглеводи	3	3-5
Ліпіди	2	6
Вода	70	69
Неорганічні солі	1	1-2

Середній кількісний хімічний склад організму людини подано в табл. 3.

Таблиця 3 – Загальний хімічний склад організму людини масою 65-70 кг
(за S. Raporport, 1964; R. Murray, 1988, середні дані)

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

Біохімічний склад усіх живих організмів знаходиться в стаціонарному стані, тобто в стані постійного оновлення всіх клітинних компонентів, яке забезпечується безперервним обміном речовинами та енергією з навколишнім середовищем (метаболізмом). Для всіх класів біомолекул характерна середня тривалість напівжиття ($T_{1/2}$), протягом якого компоненти певної біологічної структури (цілого організму, органа, тканини, клітинної структури) обмінюються наполовину. В організмі людини $T_{1/2}$ білків усього тіла складає в середньому 12 тижнів, білків печінки — 2 тижні, білків м'язів — 27 тижнів; напівоновлення білків кісткової тканини займає багато місяців (А.Я. Николаєв, 1998).

Основні біохімічні перетворення біомолекул, які становлять сутність обміну речовин, відбуваються внутрішньоклітинно, в субклітинних органелах — ядрі, мітохондріях, рибосомах, ендоплазматичному ретикулумі, лізосомах, пероксисомах, апараті Гольджі. Для кожної субклітинної структури притаманні певна сукупність ферментів, що в ній містяться, та певна послідовність реакцій обміну речовин — *компарменталізація метаболізму* (від англ. compartment — відсік, відділення). Схему будови живої клітини подано на рис.3.

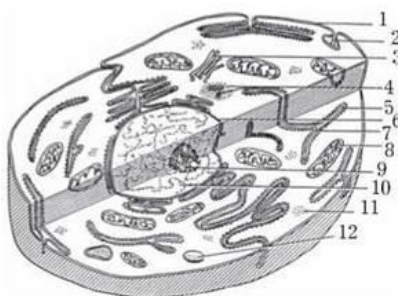


Рис. 3 – Схема будови клітини людини і тварин:

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

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

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

Походження біомолекул

Принципово важливим, фундаментальним завданням сучасної біохімії є розв'язання проблеми виникнення життя на Землі, хімічної еволюції, що передувала появі перших живих організмів. Згідно з існуючими уявленнями, витоки яких були закладені ще Чарльзом Дарвіном (1871), створення біомолекул та перших примітивних живих клітин відбувалось в умовах прадавньої Землі під впливом фізичних факторів атмосфери приблизно 3 млрд. років тому за такою схемою:



Вирішальним етапом у розвитку проблеми походження біомолекул в умовах первісної земної кори стали дослідження з абіогенного синтезу біоорганічних сполук, що входять до складу живих організмів. Визначним досягненням в експериментальному доведенні можливостей хімічної еволюції стало класичне дослідження С. Міллера (S. Miller, 1951), який

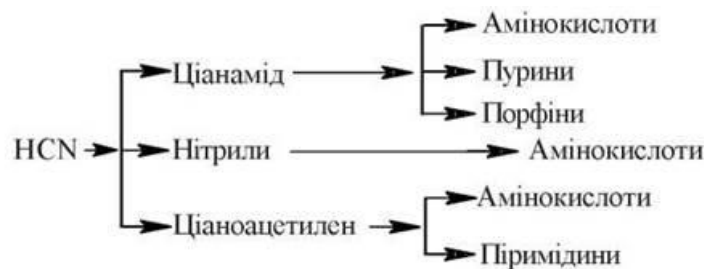
вперше показав можливість утворення карбонових кислот та α -амінокислот, що використовуються для синтезу природних білків, за умов дії електричних розрядів на газову суміш метану, аміаку, водню та водяної пари.

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

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



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



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

Питання для самоконтролю

1. Які фізико-хімічні особливості притаманні білкам?
2. Які фактори підтримують молекули білків у розчині?
3. Які зміни структури білкових молекул відбуваються при денатурації?
4. Як використовується денатурація в практиці приготування їжі?
5. Назвіть та охарактеризуйте структурні організації білкових молекул.
6. Наведіть класифікацію простих білків.

Лекція №3

Тема 2. Білки і пептиди. 2.1 Біологічні функції білків і пептидів. Будова й амінокислотний склад білків і пептидів. Рівні структурної організації білкових молекул

Білки — біоорганічні високомолекулярні сполуки, молекули яких являють собою гетерополімери, побудовані із залишків амінокислот, об'єднаних кислотоамідними (пептидними) зв'язками (-CO-NH-).

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

Біологічні функції білків і пептидів

1. Ферментативна (каталітична) функція.

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

2. Структурна функція.

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

3. Регуляторна функція.

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

4. Рецепторна функція.

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

5. Транспортна функція.

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

гемоглобін еритроцитів (транспортують кисень), ліпопротеїни (транспортують ліпіди), трансферин (транспортують залізо).

6. Скорочувальна функція.

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

7. Захисна функція.

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

Будова й амінокислотний склад білків і пептидів

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

Білки можуть складатися з одного або декількох окремих поліпептидних ланцюгів, що об'єднані ковалентними (дисульфідними) та нековалентними зв'язками. Білки, в яких є один поліпептидний ланцюг, мають молекулярну масу від 5-6 до 50 кД; білки з більшою м.м. складаються, як правило, з декількох поліпептидних ланцюгів, що складають протомери (субодиниці) — мультиланцюгові (олігомерні) білки (табл. 3).

Таблиця 3 – . Молекулярна маса білків

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

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

Форма білкових молекул

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

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

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

Амінокислотний склад білків і пептидів

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

Амінокислоти, що входять до складу природних білків та пептидів (протеїногенні амінокислоти), мають загальну хімічну структуру, яка представлена наведеною звичайною структурною (а) та проєкційною (б) формулами (рис. 3).

Структура протеїногенних амінокислот

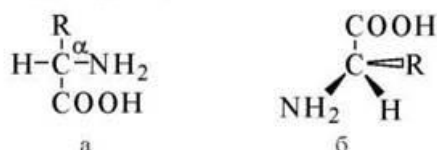


Рис. 3 – Структурна (а) та проєкційна (б) формули протеїногенних амінокислот. Наведено проєкційну формулу L-амінокислоти.

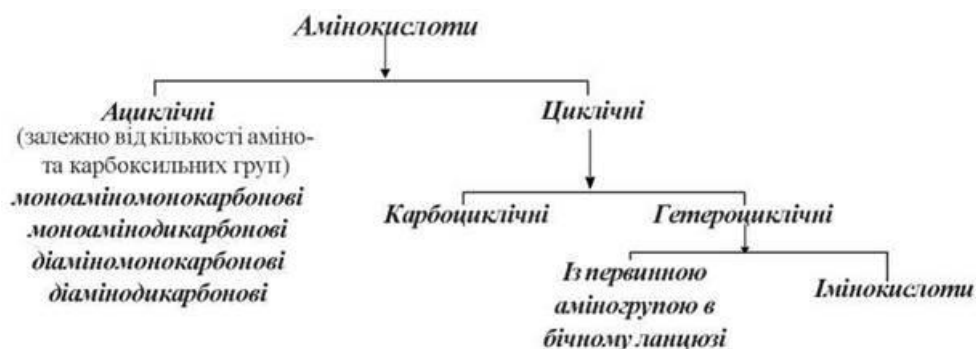
Структурні особливості протеїногенних амінокислот:

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

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

Класифікація протеїногенних амінокислот

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



Сучасна *раціональна класифікація*, що базується на полярності та заряді радикалу R, передбачає чотири класи амінокислот:

I — амінокислоти з неполярними (гідрофобними) R-групами;

II — амінокислоти з полярними (гідрофільними) незарядженими R-групами;

III — амінокислоти з негативно зарядженими R-групами (кислі амінокислоти);

IV — амінокислоти з позитивно зарядженими R-групами (основні амінокислоти).

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

Таблиця 4 – Амінокислоти, що входять до складу білків

α-Амінокислоти, котрі входять до складу білків

Формула	Назва амінокислоти	Трилітерне позначення
1	2	3
Аліфатичні амінокислоти		
$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Гліцин, глікокол, амінооцтова кислота	Гли
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Аланін, α-амінопропонова кислота	Ала
$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Валін*, α-аміноізовалеріанова кислота	Вал
$\begin{array}{c} (\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Лейцин*, α-аміноізокапронова кислота	Лей
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Ізолейцин*, α-аміно-β-метилвалеріанова кислота	Іле
$\begin{array}{c} \text{HOCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Серин, α-аміно-β-гідроксипропонова кислота	Сер
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Треонін*, α-аміно-β-гідроксималяна кислота	Тре
$\begin{array}{c} \text{HOOCCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Аспарагінова кислота, аспартамінова кислота	Асп
$\begin{array}{c} \text{HOOCCH}_2\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Глутамінова кислота, α-аміноглутарова кислота	Глу
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Орнітин, α,δ-діаміновалеріанова кислота	Орн
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Лізин*, α, ε-діамінокапронова кислота	Ліз
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \quad \text{CN} \quad \text{NH}(\text{CH}_2)_3 \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{NH}_2 \end{array} \text{CH}-\text{COOH}$	Аргінін, α-аміно-δ-гуанідиновалеріанова кислота	Арг
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \quad \text{C} \quad \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Аспарагін, β-амід аспарагінової кислоти	Асп
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \quad \text{C} \quad \text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Глутамін, γ-амід глутамінової кислоти	Глн

Властивості протеїногенних амінокислот

1. Кислотно-основні властивості амінокислот.

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

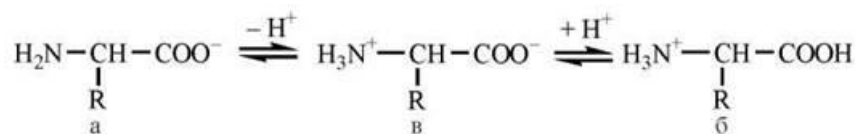


Рис. 4 – Аніонна (а), катіонна (б) та біполярна (в) форми амінокислот у водних розчинах.

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

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

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

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

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

2. Полярність молекул амінокислот.

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

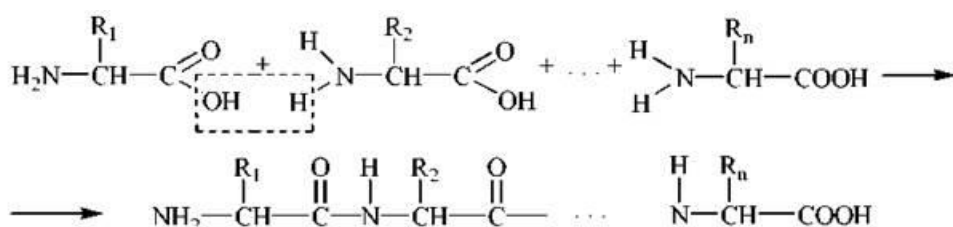
Полярність функціональних груп амінокислот разом з їх кислотно-основними властивостями визначають особливості структури, більшість фізико-хімічних та, відповідно, біологічних властивостей білків, що синтезуються з цих амінокислот.

3. Оптичні властивості амінокислот.

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

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

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



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

Структура пептидної групи

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

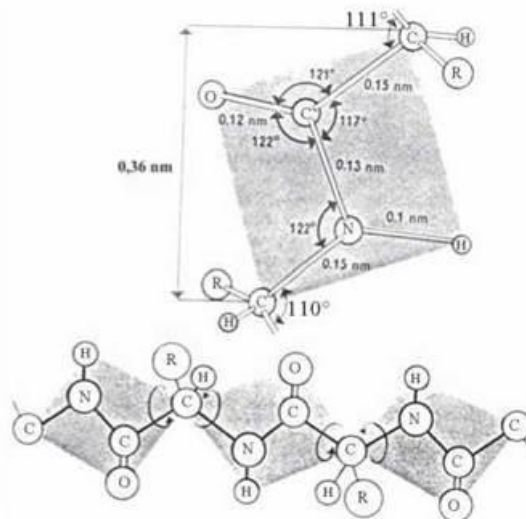
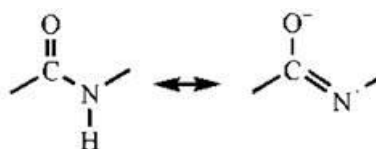


Рис. 5 – Компланарне розміщення атомів пептидної групи в молекулах пептидів та білків.

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



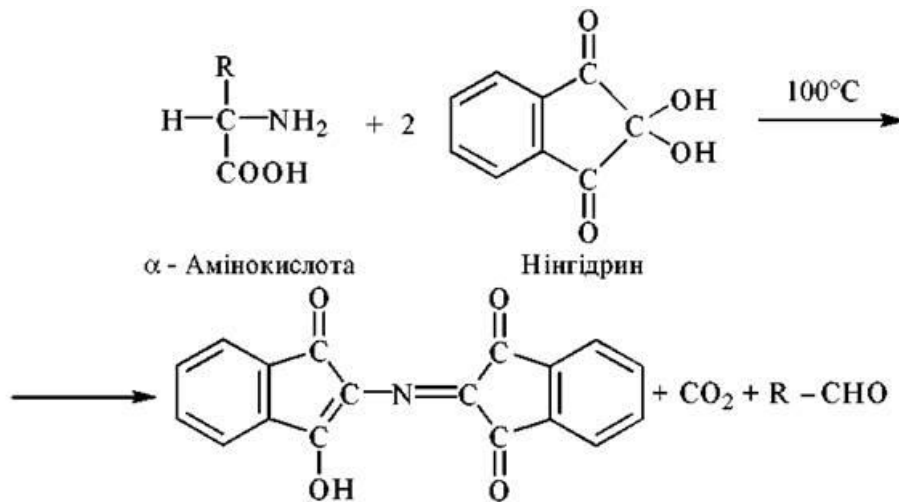
Виходячи з будови пептидного зв'язку та пептидної групи, *вільне обертання в пептидному ланцюзі можливе тільки навколо груп -CHR*, що розташовані між окремими компланарними пептидними групами. Ці структурні обмеження, разом із здатністю певних функціональних груп пептидних ланцюгів до сильних та слабких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

5. Хімічні реакції, що використовуються для аналізу амінокислот.

Завдяки різноманітності своїх функціональних груп молекули α -амінокислот можуть вступати в хімічні реакції, які застосовуються в аналітичній та клінічній біохімії для ідентифікації і кількісного визначення окремих амінокислот. Ці реакції (так звані "кольорові реакції") використовуються для визначення як вільних амінокислот, що містяться як у біологічних об'єктах (плазмі крові, сечі тощо), так і в межах аналізу амінокислотного складу білків та пептидів.

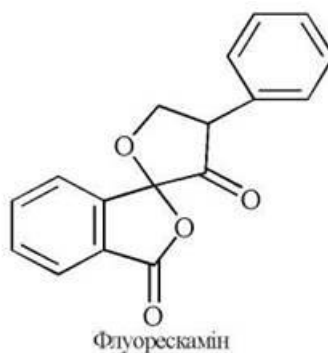
Нінгідринова реакція

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



Флуорескамінова реакція

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



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

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

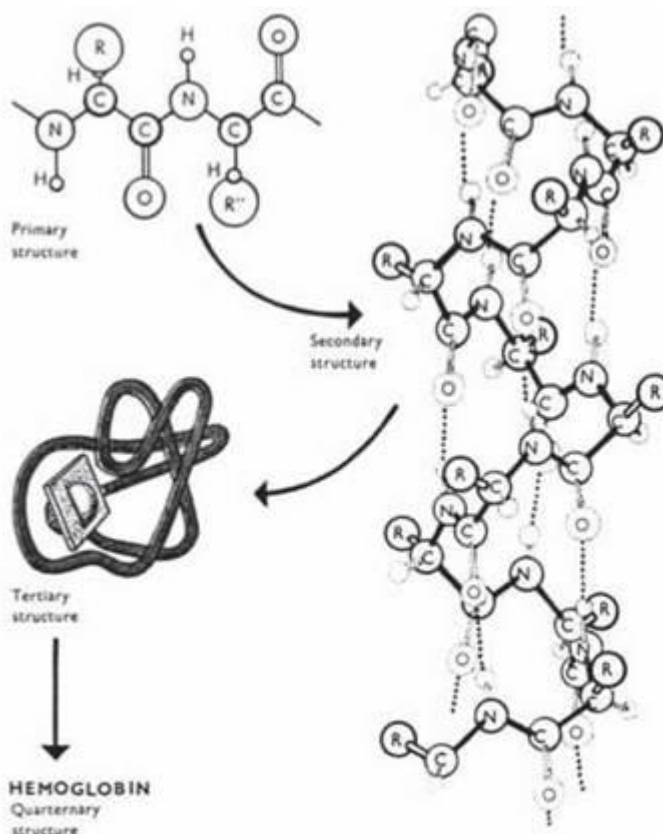
- *ксантопротеїнова реакція* — характерна для бензольного ядра циклічних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану), яке нітрується при дії концентрованої азотної кислоти з утворенням нітросполук жовтого кольору;

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

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

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

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



Питання для самоконтролю

1. Як побудовані нуклеопротейни?
2. Якою є роль в організмі глікопротейнів?
3. Які функції ліпопротейнів?
4. Яку роль відіграють в організмі хромопротейни?
5. Яка роль в організмі фосфопротейнів?
6. Структура пептидної групи?

Лекція №4

2.2 Фізико-хімічні властивості білків

1. Кислотно-основні властивості білків.

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

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

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

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

2. Розчинність білків.

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

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

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

3. Денатурація білків.

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

Вона відбувається внаслідок впливу на білкові розчини та білки, що знаходяться в біологічних середовищах, жорстких хімічних, фізико-хімічних та фізичних факторів. Денатурацію викликають дія кислот, лугів, органічних розчинників, нагрівання білків до 60-80 °С, дія високих доз ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання. Механізм впливу денатуруючих агентів полягає в руйнуванні слабких зв'язків (водневих, іонних, дипольних, гідрофобних), що стабілізують упорядковані типи просторової організації білкових молекул (вторинну та третинну структуру).

4. Взаємодія білків із різними хімічними лігандами.

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

Зв'язування білками певних хімічних лігандів у багатьох випадках є механізмом реалізації транспортної, регуляторної або каталітичної функцій даних білків. Наприклад, сорбція жирних кислот та білірубіну альбуміном сироватки крові, зв'язування глюкокортикоїдів та прогестинів транскортином плазми є етапом циркуляторного транспорту цих біомолекул, взаємодія специфічного білка клітин шлунка (фактору Касла) з вітаміном В₁₂ необхідна для всмоктування цього вітаміну слизовою оболонкою. Взаємодія деяких білків із лігандами являє собою форму депонування останніх (наприклад, зв'язування іонів заліза з білком феритином).

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

Прості та складні білки

Білки, до складу яких входять лише залишки амінокислот, об'єднані в поліпептидні ланцюги, отримали назву *простих білків*. Білки, до складу яких входять приєднані

ковалентними або нековалентними зв'язками інші біомолекули або іони металів, називаються *складними білками*.

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

Залежно від хімічної природи простетичної групи складні білки поділяються на:

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

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

в) *нуклеопротеїни* — білки, небілковою частиною яких є нуклеїнові кислоти ДНК та РНК (дезоксирибонуклеопротеїни та рибонуклеопротеїни, відповідно). Нуклеопротеїни є надмолекулярними комплексами, що становлять субклітинні органели — хроматин, рибосоми тощо.

Питання для самоконтролю

1. Які кислотно-основні властивості білків?
2. Що таке розчинність білків?
3. Охарактеризуйте денатурація білків.
4. Як проходить взаємодія білків із різними хімічними лігандами?
5. Які це прості і складні ліпіди?

Лекція №5

2.3 Методи виділення та аналізу білків і пептидів

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

Виділення білків

Для виділення білків із біологічних об'єктів найчастіше використовують їх *екстрагування* за допомогою різних розчинників, вибір яких залежить від фізико-хімічних

властивостей білка або групи білків, яку потрібно отримати. У разі необхідності одержання білків, які локалізовані в певних субклітинних органелах та зв'язані з біоструктурами (мембранами, ядерним хроматином тощо), процедура виділення білка включає в себе:

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

Фракціонування білків

Результатом зазначених біохімічних процедур є, як правило, отримання екстрактів, в яких міститься значна кількість різних білків та небілкових компонентів. Тому наступним етапом виділення індивідуальних білків є *фракціонування* білкових сумішей, яке здійснюється на основі відмінностей у фізико-хімічних властивостях індивідуальних білків (молекулярній масі, заряді, розчинності, хімічній та біохімічній активності). Ці ж методи дозволяють проводити визначення і відповідних фізико-хімічних параметрів певних білкових молекул.

Методи фракціонування:

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

- *метод ультрацентрифугування* (седиментаційного аналізу).

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

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

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

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

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

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

Для гель-фільтрації застосовують полімерні сполуки, найчастіше — похідні полісахариду декстрану (комерційна назва — Сефадекси), що мають форму гранул із порами

певного розміру. Під час проходження через хроматографічну колонку, яка містить гранули Сефадексу, суміші білків та інших хімічних сполук, відбувається фракціонування останніх залежно від розмірів молекул та, відповідно, здатності до проникнення в сітку гелю. Швидкість проходження різних молекул через молекулярні сита зворотно пропорційна їх розмірам та молекулярним масам.

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

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

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

Із метою хроматографічного розділення білків шляхом іонного обміну найчастіше використовують іонообмінники на основі целюлози: катіонообмінник ді етиламіноетилцелюлозу (ДЕАЕ-целюлозу) або аніонообмінник карбоксиметилцелюлозу (КМ-целюлозу).

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

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

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

Хромопротейни — білки, що мають забарвлену, пігментну простетичну групу (нуклеотид, порфірин у комплексі з металом); прикладами хромопротейнів є флавопротейни та цитохроми дихального ланцюга мітохондрій, гемоглобін еритроцитів.

Металопротейни — білки, які містять метал, що не входить до складу металопорфіринового комплексу.

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

Питання для самоконтролю

1. Які основні структури клітини та їх функції?
2. Нуклеїнові кислоти: структура, властивості?

3. Що таке обмін речовин?
4. Виділення білків.
5. Фракціонування білків та їх методи.

Лекція №6

3.2 Нуклеїнові кислоти: структура, властивості. Будова, властивості та біологічні функції ДНК

Порівняно з білками, вуглеводами та ліпідами нуклеїнових кислот у клітині дуже мало, але їхнє значення настільки велике, що можна сказати: без нуклеїнових кислот життя не можливе.

Нуклеїнові кислоти — це інформаційний банк, у якому знаходяться усі відомості про склад, розвиток і функціонування живих систем. У них не тільки зберігається спадковий матеріал, він активно реалізується під час процесів синтезу, розвитку організму, поділу клітин та розмноження.

Уперше нуклеїнові кислоти виділив і описав швейцарський біохімік Фрідріх Мішер, який у 1869 р. вилучив із ядер клітин специфічну речовину і назвав її «нуклеїном» (від лат. *nucleus* — ядро). Дослідження нуклеїнових кислот триває й досі.

Нуклеїнові кислоти — складні високомолекулярні біополімери, мономерами яких є нуклеотиди.

Число нуклеотидів у складі однієї молекули нуклеїнової кислоти може сягати 200 млн.

Вони можуть існувати вільно і у складі полімерів — молекул ДНК (дезоксирибонкулеїнової кислоти) і РНК (рибонкулеїнової кислоти).

Нуклеотиди

Молекула нуклеотиду складається з трьох компонентів: залишків нітратної основи, п'ятиуглецевого моносахариду (пентози) та ортофосфатної кислоти.

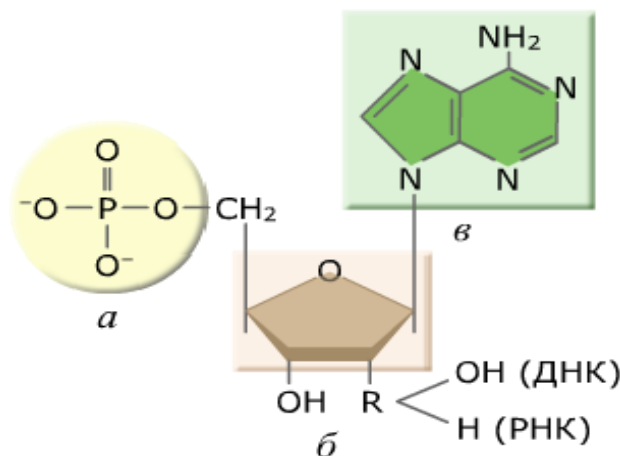
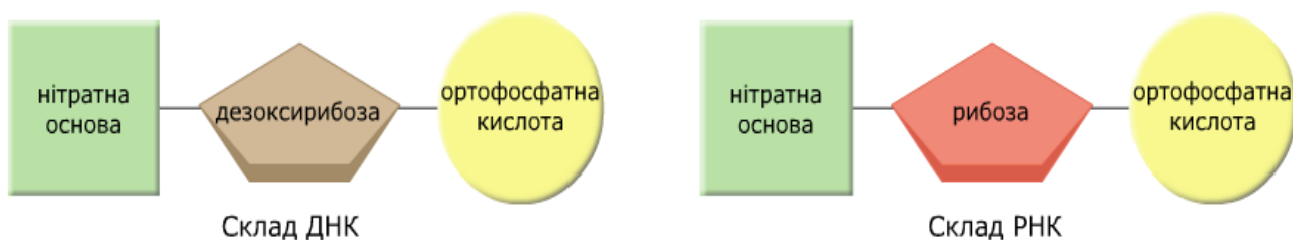


Рисунок 6 – Загальна формула нуклеотиду:

a — ортофосфатна кислота, *b* — п'ятиуглецевий моносахарид (пентоза), *c* — нітратна основа

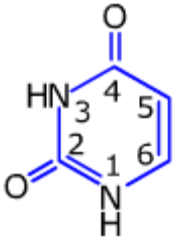
Залежно від виду пентози, що входить до складу нуклеотиду, розрізняють два типи нуклеотидів: рибонуклеотиди, що мають пентозу **рибозу**, і дезоксирибонуклеотиди, що мають пентозу **дезоксирибозу**. Рибонуклеотиди утворюють полімерні нуклеїнові кислоти РНК, а дезоксирибонуклеотиди — ДНК.



Нуклеотиди можуть відрізнятися не тільки за видом пентози, а і за залишками нітратних основ. Див. табл. 5.

Таблиця 5 – Залишок нітратних основ

Назва залишку нітратної основи	Позначення для відповідних нуклеотидів	Структурна формула нітратної (азотистої) основи
Аденін	А	
Гуанін	Г	
Піримідинові		
Цитозин	Ц	
Тимін	Т	

Урацил	У	
--------	---	--

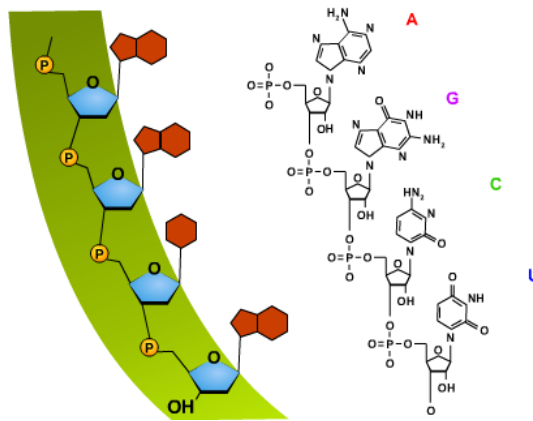
Нуклеотиди з аденіном, гуаніном і цитозіном входять до складу як ДНК, так і РНК. Проте тимін міститься лише в нуклеотидах ДНК, а урацил — в РНК. Див. табл. 6.

Таблиця 6 – Відмінності у складі ДНК і РНК за азотистими основами

ДНК	РНК
А	А
Г	Г
Ц	Ц
Т	У

РНК

Молекула РНК — це нерозгалужений ланцюг залишків нуклеотидів, які з'єднані один з одним послідовно ковалентним полярним зв'язком. Цей зв'язок утворюється між залишком пентози одного нуклеотиду і залишком ортофосфатної кислоти іншого нуклеотиду.



ДНК

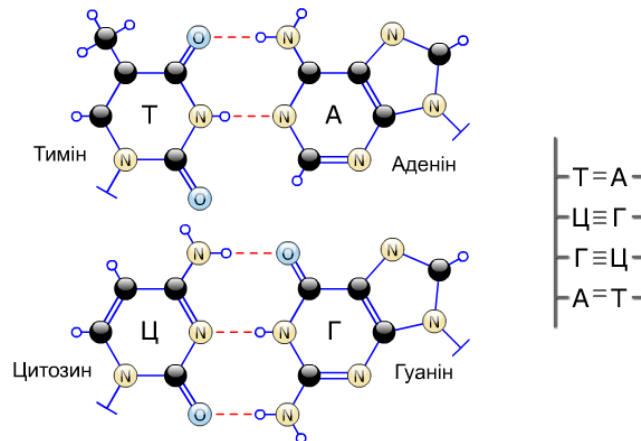
Будова ДНК

ДНК у еукаріотів міститься в ядрі, пластидах і мітохондріях клітин, а у прокаріотів, які не мають оформленого ядра, — входить до складу нуклеоїду.

Розшифрування структури нуклеїнових кислот та розуміння їхнього значення для спадкової передачі ознак та властивостей організмів стало значною подією, яка відкрила нові

горизонти у розумінні сутності життя і була відзначена Нобелівською премією 1962 року. Її отримали англійський фізик Ф. Крік і американський біохімік Дж. Уотсон.

ДНК подібна до РНК, але має більш складну будову. Вона складається з двох ланцюгів, кожен з яких принципово схожий на ланцюг РНК, з'єднаних між собою водневими зв'язками. Кожен нуклеотид одного ланцюга має водневі зв'язки з нуклеотидом другого ланцюга. Ці зв'язки виникають між азотистими основами нуклеотидів точно за правилом — залишок аденіну нуклеотиду одного ланцюга сполучається із залишком тиміну нуклеотиду іншого ланцюга, утворюючи три зв'язки, а залишок гуаніну — із залишком цитозину, утворюючи два зв'язки:

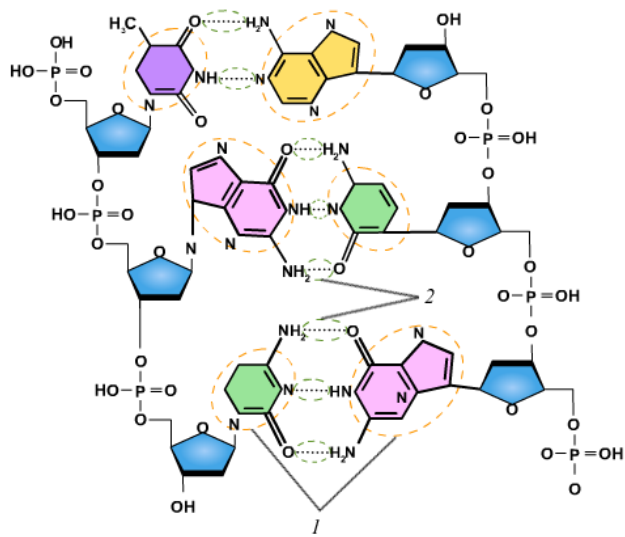


Така закономірність називається *принципом, або правилом, комплементарності*.

Принцип комплементарності — це закономірність розташування нуклеотидів у ДНК або під час синтезу РНК, згідно з якою гуаніну одного ланцюга завжди відповідає цитозин другого ланцюга, а аденіну одного ланцюга — тимін другого ланцюга ДНК або урацил РНК. Завдяки здатності утворювати водневі зв'язки аденіну з тиміном (урацилом), а гуаніну — з цитозином, нуклеотиди наче «доповнюють» один одного.

Отже, знаючи послідовність нуклеотидів одного ланцюга ДНК, можна абсолютно точно визначити таку для другого ланцюга.

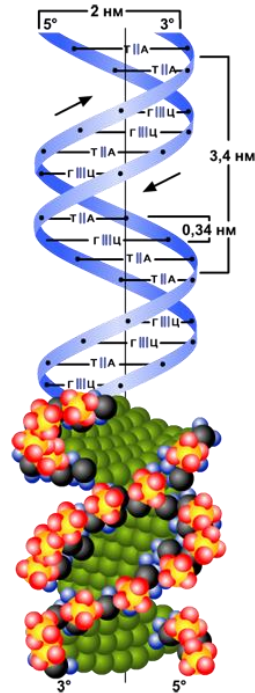
Таким чином, *первинна структура ДНК* — це певна послідовність нуклеотидів у двох ланцюгах. Причому, залишки пентози і ортофосфатної кислоти розташовані на периферії двох ланцюгів, а нітратні основи — усередині. Ланцюги прошиті водневими зв'язками і відповідають один одному згідно з правилом комплементарності. Водневі зв'язки слабкі, але у молекулі ДНК їх так багато, що комплементарні ланцюги зазвичай самостійно не розділяються. Молекула ДНК у первинній структурі не може існувати, тільки її фрагменти.



Первинна структура ДНК:

1 — залишки нуклеотиду; 2 — водневі зв'язки

Вторинна структура ДНК — це правоюгвинтова подвійна спіраль, утворена двома ланцюгами ДНК, які, обвиваючи один одного, закручуються вправо. Діаметр спіралі близько 2 нм, крок — 3,4 нм, у кожному витку розташовано по 10 пар залишків основ.

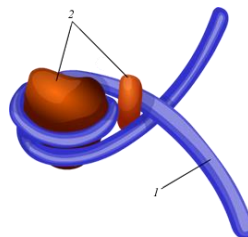


Вторинна структура ДНК — подвійна спіраль

Параметри подвійної спіралі

- Два комплементарні антипаралельні ланцюги закручені кругом однієї осі і пов'язані водневими зв'язками.
- Нуклеотиди у ланцюгу пов'язані ковалентним зв'язком.
- Азотисті основи знаходяться всередині спіралі, а залишки пентоз і ортофосфатної кислоти — зовні.
- Розмір витка (крок) спіралі становить 3,4 нм (10 пар нуклеотидів).
- Відстань між двома нуклеотидами — 0,34 нм.
- Діаметр спіралі — 2 нм.

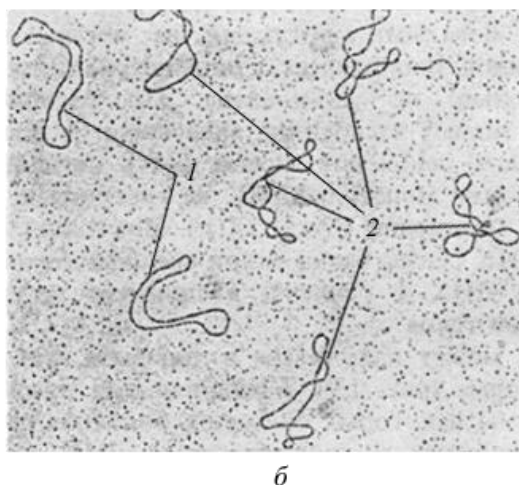
Третинна спіраль, або суперспіраль* — це компактна щільна структура, яка утворюється завдяки подальшій спіралізації вторинної структури. Вона існує завдяки взаємодії ДНК і спеціальних білків у хромосомах еукаріотів.



Фрагмент суперспіралі (третинної структури ДНК), що утворює комплекс з білком гістоном у хромосомі:

1 — ДНК, 2 — білки гістони

Подвійна спіраль ДНК може бути *незамкненою* і *кільцевою* (у прокаріотів).



Суперспіраль кільцевої ДНК:

а — схема, б — мікрофотографія, 1 — вторинна структура, 2 — третинна структура (суперспіралі)

Таким чином, хоча довжина ланцюгів ДНК може бути кілька сантиметрів, молекула завдяки вторинній і третинній структурам досить компактна, що сприяє збереженню і точному розподілу спадкового матеріалу при поділі клітин. Молекула ДНК досить лабільна, її конфігурація змінюється (частково «розкручується», стає більш або менш щільною). Це дозволяє їй ефективно функціонувати під час синтезу білка, процесів транскрипції та реплікації, про які розповімо пізніше.

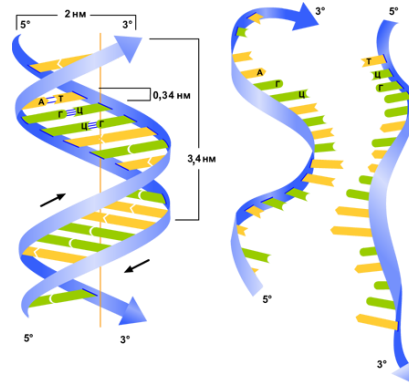
Кількісний вміст нуклеотидів в ДНК можна обчислити за *правилом Чаргаффа* (Е. Чаргафф, американський учений, та його колеги дослідили принцип комплементарності і виявили описані нижче закономірності у 1950 р.).

Саме в ДНК знаходяться гени, що є одиницями спадковості. **Ген** — це ділянка молекули ДНК (у деяких вірусів — РНК), у якій закодовано інформацію про будову певного білка або нуклеїнової кислоти. Сукупність генетичної інформації про весь організм утворює **геном**. Геном є цілісною системою, в якій гени впливають один на одного та взаємодіють між собою.

Є *структурні гени*, які кодують структуру білків і рибонуклеїнових кислот, вони несуть спадкову інформацію. Є *регуляторні гени*, які спадкової інформації не мають, а виконують інші функції — контролюють і направляють діяльність структурних генів — слугують місцем приєднання ферментів та інших біологічно активних сполук, які впливають на активність структурних генів і беруть участь у процесах реплікації ДНК і транскрипції. Розміри регуляторних генів, як правило, незначні — кілька десятків пар нуклеотидів, структурних — сотні й тисячі нуклеотидів. Масова частка регуляторних генів може сягати 80 %.

Властивості ДНК

Структура ДНК має дуже важливе значення, але в результаті дії певних факторів (висока температура, рентгенівське, жорстке ультрафіолетове або інфрачервоне опромінення, солі важких металів тощо) може порушуватися третинна або вторинна структура (*денатурація*). У разі припинення дії шкідливого фактору структура і функції ДНК можуть відновлюватися (*ренатурація*).



Денатурація та ренатурація ДНК

Якщо зміни незворотні, молекула разом з інформацією, яку вона містить, припиняє існування. Цей процес називається *деструкцією*.

Шкідливі фактори можуть викликати зміни у певній ділянці ДНК, що може викликати зміни структури і функцій організму. Цьому протидіє *репарація* (від лат. *reparatio* — відновлення) — відновлення структури нуклеїнової кислоти. За участі специфічних ферментів ушкоджені «неправильні» ділянки ДНК вирізаються і замінюються на «правильні», які синтезуються з вільних нуклеотидів.

Особливо важливою властивістю ДНК, зважаючи на її біологічні функції, є здатність до *реплікації*, або *самоподвоєння*.

Реплікація ДНК — це складний ферментативний процес утворення з однієї материнської ДНК двох дочірніх ДНК, які за кількісним і якісним складом ідентичні одна одній і вихідній материнській. Завдяки реплікації кожна дочірня клітина після поділу отримує такі самі молекули ДНК, які мала материнська клітина.

Реплікація є важливою ланкою у процесі підготовки клітини до поділу і відбувається у ядрі клітини за таким алгоритмом:

1. ДНК розплітається, водневі зв'язки між ланцюгами розшиваються.

2. На кожному з двох материнських ланцюгів за принципом комплементарності синтезуються два нових дочірніх.

3. Таким чином, з однієї материнської ДНК утворюються дві дочірні ідентичні ДНК.
Дослідіть процес за допомогою флеш-анімації

Процес реплікації ДНК називають *матричним синтезом*, бо синтез відбувається за правилом *комплементарності*, тому дочірній ланцюг утворюється не копіюванням, а за принципом відбитка з матриці.

Процес реплікації називають *напівконсервативним*, бо новоутворені дочірні ДНК мають один ланцюг новосинтезований, а другий — незмінений, материнський. Процес реплікації забезпечує точну передачу спадкової інформації від материнської молекули ДНК дочірнім.

Однією з властивостей ДНК є здатність до *транскрипції* — (від лат. *transcriptio* — переписування) — складного ферментативного процесу синтезу РНК на матриці ДНК.

Транскрипція відбувається за таким алгоритмом:

1. Фрагмент ДНК, що відповідає одному гену, розплітається, водневі зв'язки між ланцюгами розшиваються.

2. На одному з ланцюгів із вільних нуклеотидів синтезується молекула РНК за принципом комплементарності (аденіну комплементарний урацил).

3. Після закінчення синтезу водневі зв'язки руйнуються і новоутворена РНК залишає ланцюг ДНК, що був для неї матрицею.

4. Якщо є потреба у таких РНК ще, синтез продовжується, якщо ні — зв'язки між двома ланцюгами фрагменту ДНК відновлюються.

5. Таким чином, головні функції нуклеїнових кислот — збереження, реалізація та точна передача спадкової інформації при відтворенні — тісно пов'язані з будовою та властивостями їхніх молекул.

6. 10.4. АТФ

7. АТФ — це аденіловий нуклеотид, що акумулює та переносить енергію в організмі.

8. До аденілових нуклеотидів відносяться АМФ (аденозинмонофосфатна кислота), АДФ (аденозиндифосфатна кислота) і АТФ (аденозинтрифосфатна кислота). За хімічною природою вони є аденіловими ефірами аденозину.

9. АТФ — аденін, рибоза, три залишки ортофосфатної кислоти.

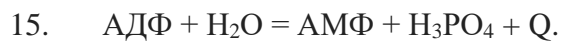
10. АДФ — аденін, рибоза, два залишки ортофосфатної кислоти.

11. АМФ — аденін, рибоза, залишок ортофосфатної кислоти.

12. Реакція утворення АДФ із АМФ (приєднується другий залишок ортофосфатної кислоти) потребує великої кількості енергії, майже 40 кДж. Вона поглинається під час реакції:

13. $AMF + H_3PO_4 = ADF + H_2O - Q$.

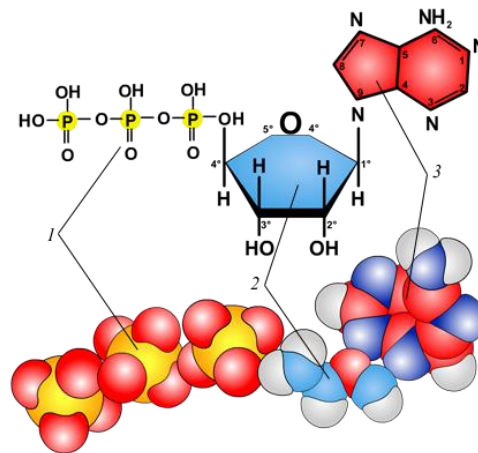
14. А при зворотному процесі вона виділяється:



16. Такий зв'язок називають **макроергічним** (від *makro* — великий), а АТФ — **макроергічною сполукою**.

17. Під час реакцій катаболізму відбувається виділення енергії, вона акумулюється (накопичується) у вигляді макрозв'язків АТФ та АДФ. Енергія у формі хімічного зв'язку зберігається, переноситься у те місце, де, наприклад, проходять реакції анаболізму, і вивільняється. Завдяки таким чудовим властивостям АТФ виконує в організмі роль акумулятора енергії.

18. Енергія, яка вивільняється в процесі розщеплення молекул АТФ, використовується для реакцій синтезу, активного транспорту речовин, підтримання певної температури тіла, забезпечення інших процесів життєдіяльності.



Структурна формула АТФ. Модель АТФ:

1 — залишки фосфатної кислоти, 2 — дезоксирибоза, 3 — азотиста основа аденін

У живих системах є й інші сполуки, аналогічні АТФ за функціями. Це *АДФ*, *інозиндифосфат* та *інозинтрифосфат* у рослин, *креатинфосфат* у голкошкірих і хордових, *аргінінфосфат* у кільчастих червів, членистоногих та моллюсків.

Резюме

Нуклеїнові кислоти виконують функції збереження, передачі, зміни та відтворення спадкової інформації. **Нуклеїнові кислоти** — складні високомолекулярні біополімери, мономерами яких є *нуклеотиди*, з'єднані ковалентним полярним зв'язком. Молекула нуклеотиду складається із залишків нітратної основи, п'ятиуглецевого моносахариду (пентози) та ортофосфатної кислоти.

Розрізняють два типи полімерних нуклеїнових кислот: *дезоксирибонуклеїнові* — ДНК і *рибонуклеїнові* — РНК. Існують три основні типи РНК: *іРНК* (*мРНК*), *тРНК* і *рРНК*.

У молекулах ДНК і РНК виділяють первинну, вторинну та третинну структури.

РНК складається з одного ланцюга, а ДНК — з двох, які з'єднані водневими зв'язками згідно з принципом комплементарності (аденін — з тиміном, гуанін — з цитозіном). РНК і ДНК можуть піддаватися *денатурації*, *ренатурації* та *деструкції* під дією хімічних агентів або

фізичних факторів. У разі пошкодження ДНК відбувається виправлення пошкодженого фрагменту — *репарація*.

ДНК складається з генів, які можна поділити на *структурні* (кодують структуру білків та РНК) та *регуляторні* (не несуть генетичної інформації).

В основі поділу клітини лежить здатність ДНК до *реплікації*, що здійснюється напівконсервативно, згідно з принципами комплементарності.

Основні функції нуклеїнових кислот — це збереження та реалізація спадкової інформації, передача її від батьківських форм нащадкам.

ДНК здатна до транскрипції. Інформація про будову гена переноситься на мРНК, яка безпосередньо бере участь у синтезі білка.

АТФ — мононуклеотид, що є універсальним хімічним акумулятором енергії в живих організмах.

Питання для самоконтролю

1. Які біологічні функції виконують нуклеїнові кислоти?
2. Яку будову має нуклеотид? Які види нуклеотидів ви знаєте?
3. Яку будову має РНК? Які види РНК ви знаєте?
4. Яку будову має ДНК?
5. Які закономірності характерні для будови ДНК?
6. Що таке транскрипція? Охарактеризуйте цей процес та його біологічне значення.
7. Що таке ген? Які різновиди генів ви знаєте?
8. Що таке реплікація? Як відбувається цей процес?
9. Чому АТФ називають універсальним акумулятором енергії? Відповідь аргументуйте.
10. Порівняйте будову молекул РНК і ДНК.*
11. Порівняйте процеси транскрипції і реплікації.*

Лекція №7

Тема 4. Вуглеводи та їх похідні. 4.1 І Моносахариди та їх похідні Складні вуглеводи. Олігосахариди. Гомополісахариди

Моносахариди. Визначення, класифікація (альдози і кетози: тріози,тетрози, пентози, гексози, гептози), біомедичне значення окремих представників. Пентози: рибоза, 2-дезоксирибоза, ксиліоза, рибітоза, ксилулоза. Гексози: глюкоза, галактоза, фруктоза.

Стереοізомерія моносахаридів (D- і L-форми). Відкриті та циклічні форми моносахаридів; циклооксотаутомерія (формули Фішера, Коллі-Толенса, Хеуорса). Фуранозні та піранозні цикли; α - та β -аномери.

Хімічні властивості моносахаридів: реакції за участю оксо- та гідроксильних груп; якісні реакції на моносахариди. Окислення моносахаридів, утворення альдонових та уронових кислот. L-аскорбінова кислота (вітамін С). Глікозидний гідроксил, його властивості; O- і N-глікозиди. Амінопохідні моносахаридів: глюкозамін, галактозамін. Відновлення моносахаридів: утворення сорбіту, маніту.

Олігосахариди. Будова. Дисахариди (сахароза, лактоза, мальтоза): структура, біомедичне значення.

Полісахариди. Гомополісахариди. Полісахариди: класифікація, структура. Гомополісахариди: крохмаль, глікоген, целюлоза (клітковина); декстрини: будова, гідроліз, біомедичне значення. Якісна реакція на крохмаль.

Гетерополісахариди. Визначення, структура. Будова та біомедичне значення глікозаміногліканів (мукополісахаридів) – гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфатів, гепарину.

Ліпіди

Прості ліпіди. Триацилгліцероли (тригліцериди, нейтральні жири): будова, хімічні властивості, фізіологічне значення. Вищі жирні кислоти: пальмітинова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова, арахідонова. Залежність фізико-хімічних властивостей природних жирів від їх жирно-кислотного складу. Аналітична характеристика жирів (йодне число). Гідроліз жирів (кислотний, лужний, ферментативний). Мила: будова, фізико-хімічні та біологічні властивості як поверхнево-активних сполук.

Складні ліпіди. Класифікація та будова основних класів складних ліпідів. Фосфоліпіди: фосфатидна кислота, фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін, фосфатидилсерин. Роль складних ліпідів у побудові біомембран.

Ізопреноїди (терпени, стероїди). Терпени (терпенові вуглеводні): будова; біомедичне значення як лікарських засобів (камфора, ментол, ефірні олії) та компонентів будови жиророзчинних вітамінів (вітамін К та Е). Стероїди як похідні циклопентанпергідрофенантрени (стерану). Стеран, конформаційна будова 5 α - та 5 β -стероїдів. Цис-, транс-зчленування ядер стерану. Будова біологічно важливих представників стероїдів: холестерину, вітаміну D, жовчних кислот, кортикостероїдів (кортизону, альдостерону), статевих гормонів (тестостерону, естрадіолу, прогестерону).

Протеїногенні амінокислоти, пептиди, білки

Амінокислотний склад білків та пептидів. Природні α -амінокислоти: класифікація за структурою радикалу R і кількістю амінних і карбоксильних груп та за полярністю і зарядом радикалу R. Фізико-хімічні властивості протеїногенних амінокислот як амфотерних електролітів. Реакції, застосовувані для кількісного визначення вільних аміно- та карбоксильних груп (реакції Ван-Слайка, Серенсена). Хімічні реакції, що використовуються для аналізу амінокислот в біосередовищах та гідролізах білків і пептидів: нінгідрінова,

флуорескамінова, ксантопротеїнова, реакції Мілона, Фоля. Хроматографічне розділення амінокислот.

Будова і властивості білків та пептидів. Молекулярна маса та форма білків. Пептидний зв'язок: утворення, структура; біуретова реакція на пептидну групу. Типи зв'язків між амінокислотними залишками у білкових молекулах: ковалентні (пептидні, дисульфідні), нековалентні, слабкі взаємодії (водневі, іонні, дипольні зв'язки, гідрофобні взаємодії).

Рівні структурної організації білкових молекул: первинна, вторинна, третинна та четвертинна. Встановлення первинної структури пептидів. Визначення амінокислотної послідовності. Олігомерні білки. Фізико-хімічні властивості білків. Методи осадження. Денатурація. Методи фракціонування та аналізу білків і пептидів (седиментація, хроматографія, електрофорез). Аналіз первинної структури білків і пептидів: методи Сенгера (застосування 2,4-динітрофторбензолу) та Едмана (застосування фенілізотіоціанату).

Ферменти як біологічні каталізатори білкової природи. Принципи номенклатури та класифікація ферментів. Поняття про механізми ферментативного каталізу.

Нуклеозиди та нуклеотиди. Азотисті основи пуринового і піримідинового ряду як компоненти нуклеозидів та нуклеотидів: будова, хімічні властивості, таутомерія. Мінорні азотисті основи.

Нуклеозиди. Нуклеотиди як фосфорильовані похідні нуклеозидів (нуклеозидмонофосфати, ди- і трифосфати АМФ, ГМФ, УМФ, ЦМФ, ТМФ); взаємодія як структурних компонентів нуклеїнових кислот. Вільні нуклеотиди: нуклеотиди – коферменти; циклічні нуклеотиди 3',5'-АМФ, 3',5'-ГМФ.

Нуклеїнові кислоти: дезоксирибонуклеїнові, рибонуклеїнові як полінуклеотиди. Полярність полінуклеотидних ланцюгів. Номенклатура нуклеозидів і нуклеотидів РНК та ДНК. Характеристика первинної, вторинної, третинної структур нуклеїнових кислот; зв'язки, що їх формують. Генетична роль ДНК. Типи РНК та їх роль в біосинтезі білка.

Фізіологічно активні сполуки. Біорегулятори

Поняття про фізіологічно активні сполуки (ФАС). Рецепторні та метаболітні механізми дії ФАС на функціонування клітин.

Вітаміни: загальна характеристика; поняття про коферментну дію вітамінів. Будова вітамінів В₁, В₂, В₆, РР, С.

Гормони: поняття про гормони як біорегулятори. Загальна характеристика гормонів білково-пептидної групи, похідних амінокислот, стероїдів та ейкозаноїдів.

Алкалоїди: загальне визначення, значення як діючих речовин лікарських засобів (класів піридину та піперидину, хіноліну та ізохіноліну, тропану, індолу).

Антибіотики: поняття про антибіотики; характеристика антибіотиків класів пеніцилінів, цефалоспоринів, стрептоміцинів.

Пестициди: загальне визначення; фосфор- та хлорорганічні пестициди – застосування в медицині, сільському господарстві, токсикологічне значення.

Питання для самоконтролю

1. Які функції виконують вуглеводи в організмі?
2. Наведіть формули різних моно- і дисахаридів.
3. Які продукти раціону людини є джерелами моно- і дисахаридів? Яка їхня роль?
4. Яка будова полісахаридів?
5. Назвіть харчові джерела полісахаридів (крохмалю, глікогену, клітковини, пектинових речовин). Які їхня будова і роль?
6. Введення яких продуктів у раціон сприятиме зниженню його енергетичної цінності й чому?
7. Яке біологічне значення фотосинтезу?
8. У чому полягає значення реакції мелаїнодиноутворення в харчових технологіях?
9. Яке технологічне значення мають пектинові речовини в харчовій промисловості?

Лекція №8

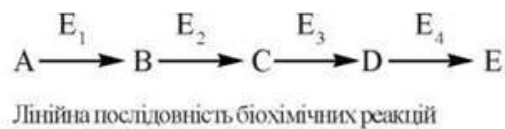
Розділ II. Загальні закономірності метаболізму. Тема 6. Ферменти. Структура, властивості

Метаболічні шляхи поділяються на:

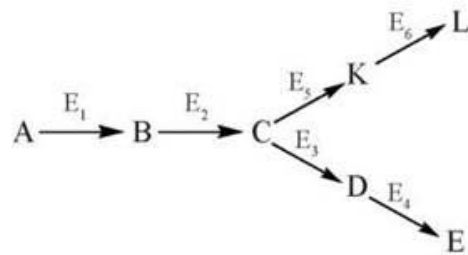
- катаболічні шляхи, які становлять в сукупності катаболізм — реакції розщеплення (гідролізу, окислення тощо) біоорганічних речовин, що надходять із зовнішнього середовища у складі продуктів харчування (вуглеводів, ліпідів, білків тощо) та біомолекул, які складають структуру клітин та тканин організму;

- анаболічні шляхи, які становлять анаболізм — реакції синтезу складних біоорганічних сполук, що складають різні структурні утворення організму (зокрема, біополімерів — білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів) та забезпечують його функціонування (ліпідів, моносахаридів, амінокислот, нуклеотидів, вітамінів, коферментів, гормонів тощо).

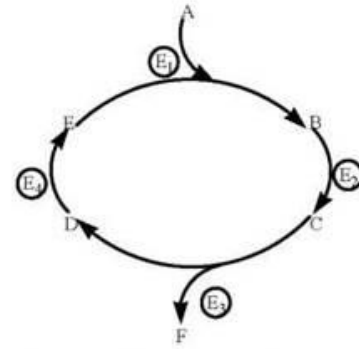
- амфіболічні шляхи, які містяться на “перехрестях” катаболізму та анаболізму; метаболіти, що складають амфіболічні шляхи, можуть перетворюватися як в катаболічних, так і в анаболічних процесах; прикладом може бути цикл трикарбонних кислот.



Лінійна послідовність біохімічних реакцій



Розгалужена послідовність біохімічних реакцій



Циклічний метаболічний шлях

Обмін речовин в організмі безпосередньо пов'язаний з *обміном енергії*. Серед реакцій метаболізму розрізняють екзергонічні та ендергонічні реакції.

Екзергонічні реакції (процеси) — такі, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, необхідної для функціонування живих організмів.

Найбільш важливими екзергонічними процесами в живих системах є окислювальні реакції, що каталізуються окислювально-відновлювальними ферментами мембран мітохондрій. Енергія, яка вивільняється в окислювальних реакціях, здебільшого акумулюється у формі макроергічних сполук.

Ендергонічні реакції (процеси) — такі, що потребують для своєї течії витрат енергії; це ферментативні реакції синтезу та відновлення:

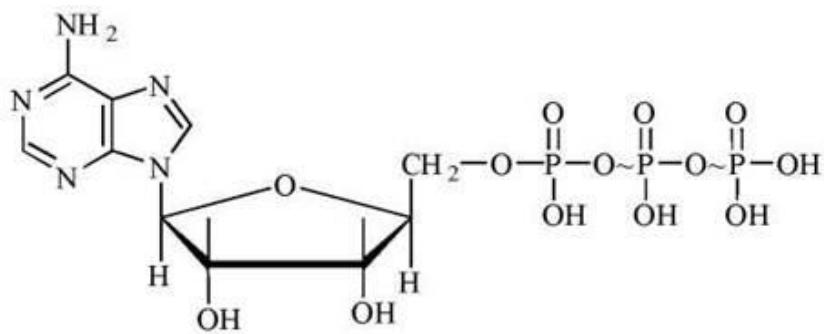
- *реакції синтезу* призводять до утворення нових хімічних зв'язків, ускладнення структури біомолекул (простих сполук та біополімерів); за джерело енергії в більшості реакцій синтезу правлять макроергічні зв'язки АТФ;

- *реакції відновлення* — приєднання до біоорганічних сполук (здебільшого, ненасичених зв'язків) атомів водню; в реакціях відновлення як донори використовуються молекули відновленого нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФН).

Спряження ендергонічних процесів з екзергонічними здійснюється за рахунок синтезу протягом екзергонічної реакції сполук з високим енергетичним потенціалом, які в подальшому використовуються в ендергонічних реакціях, що забезпечує передачу хімічної енергії від екзергонічного до ендергонічного процесу.

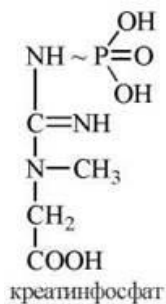
Сполуки з високим енергетичним потенціалом — це біомолекули (органічні фосфати), що мають високу стандартну вільну енергію переносу кінцевої фосфатної групи (зокрема, гідролізу) ΔG° (або ΔG° при рН = 7,0). Такі біомолекули та відповідні хімічні зв'язки мають назву макроергічних. Присутність у цих сполуках високоенергетичного (макроергічного) фосфатного зв'язку позначається символом ~ (знак “тильда”), тобто ~ Ф, або ~ Р (англ.).

Головною макроергічною сполукою в живих організмах є молекула АТФ. У структурі молекули АТФ є два макроергічні зв'язки, молекули АДФ — один макроергічний зв'язок:



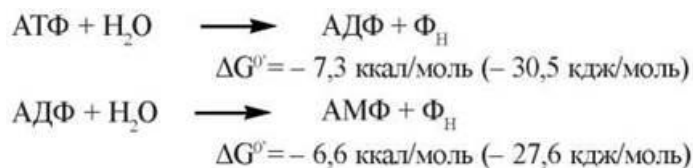
Аденозинтрифосфорна кислота (АТФ)

До макроергічних сполук належать також такі інтермедіати вуглеводного, ліпідного і амінокислотного метаболізму, як фосфоенолпіруват, 1,3-дифосфогліцерат та важливий енергетичний резерв м'язів — креатинфосфат.

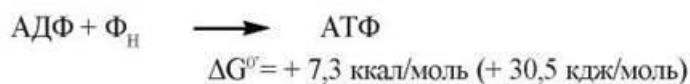


креатинфосфат

Вивільнення хімічної енергії відбувається за умов гідролізу АТФ та АДФ або переносу макроергічних фосфатних груп на інші акцептори:



Зворотне перетворення АДФ в АТФ за участю неорганічного фосфату (Φ_{H}), тобто фосфорилування АДФ до АТФ вимагає відповідних витрат хімічної енергії:



Відповідно до цих енергетичних закономірностей, циклічні перетворення АТФ в АДФ зв'язують процеси, що генерують $\sim \Phi$, з процесами, що споживають $\sim \Phi$. Таким чином, у всіх біологічних системах АТФ є основною сполукою, яка передає енергію від екзергонічних до ендергонічних процесів (біохімічних реакцій та фізіологічних функцій).

Схема спряження екзергонічних (А—В) з ендергонічними (С—D) реакціями через систему АТФ — АДФ подана на рис. 7

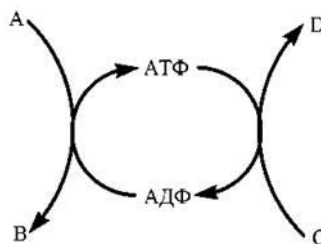


Рис. 7 – Роль системи АТФ—АДФ у спряженні екзергонічних та ендергонічних процесів

Протягом біологічної еволюції на Землі виникли два типи обміну речовин — аутоτροφний та гетеротрофний, що розрізняються залежно від того, у якій формі організми отримують з навколишнього середовища необхідні для їх життєдіяльності і побудови біоструктур вуглець та енергію.

Аутотрофні клітини (організми) можуть використовувати як єдине джерело вуглецю CO₂ атмосфери, з якого вони здатні утворювати всі свої вуглецьвмісні компоненти. До аутотрофних належать фотосинтезуючі клітини вищих зелених рослин та клітини деяких прокариотів — синьо-зелених водоростей, зелених та пурпурових бактерій. Енергію для своїх ендергонічних реакцій аутотрофи отримують за рахунок енергії сонячного світла, яка уловлюється та трансформується в хімічну енергію спеціальними світлочутливими білками, зокрема хлорофілами хлоропластів зелених рослин.

Сумарне рівняння фотосинтезу:



Гетеротрофні клітини (організми) отримують вуглець, необхідний для побудови власних молекул і біоструктур, у вигляді складних біоорганічних сполук (вуглеводів, ліпідів, білків тощо), що містяться в продуктах харчування. За джерело енергії для процесів життєдіяльності у гетеротрофів правлять реакції біологічного окислення метаболітів, які утворюються при катаболізмі моносахаридів, ліпідів та деяких амінокислот.

До гетеротрофних належать еукаріотичні клітини тваринних організмів, у яких основні екзергонічні процеси, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, відбуваються в мітохондріях.

Питання для самоконтролю

1. Яку роль ферменти виконують в організмі?
2. Як побудовані ферменти та їх активні центри?
3. Які властивості мають ферменти?
4. Як впливають на активність ферментів фізичні й хімічні фактори?
5. Цим обумовлена специфічність дії ферментів? Наведіть вили специфічності.
6. Які номенклатура й класифікація ферментів?

Лекція №9

Тема 7. Ферменти. Механізми каталізу. Кінетика. Регуляція.

7.1 Механізми дії ферментів

Ферменти збільшують швидкості біохімічних реакцій, які вони каталізують, у 10⁸-10²⁰ разів; при відсутності ферменту будь-яка метаболічна реакція практично не відбувається. Відомо, що константа швидкості хімічної реакції залежить від її енергії активації та температури, що виражається рівнянням Арреніуса в експоненційній формі:

$$k = A e^{-\Delta E/RT}$$

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

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

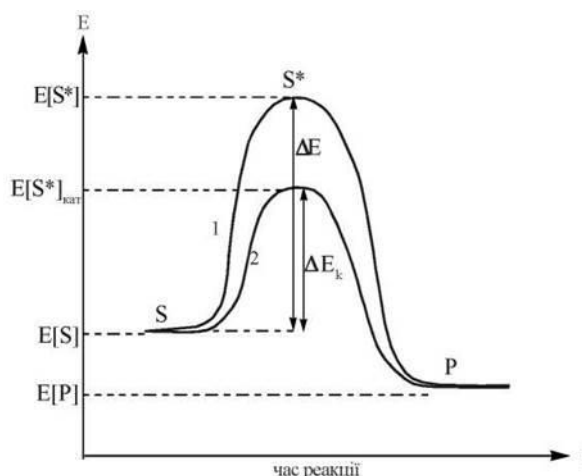


Рис. 8 – Енергетичні діаграми хімічної реакції ($S \rightarrow P$) без каталізатора (1) та в присутності каталізатора — ферменту (2). ΔE та ΔE_k — енергія активації реакції без та в присутності каталізатора, відповідно.

Порівняно з хімічними каталізаторами, ферменти значно зменшують ΔE реакцій, які вони каталізують. Так, наприклад, у реакції розщеплення перекису водню енергія активації може зменшуватися під дією неорганічних каталізаторів (йодиду, платини) або, більш сильно, під впливом специфічного ферменту каталази, що призводить до відповідних величин збільшення швидкості реакції.



Таблиця 7. Неферментативний та ферментативний каталіз розщеплення перекису водню ($t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; константу швидкості некаталізуючої реакції прийнято за одиницю) (за S. Raporot, 1964)

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

+ Платина	12	$3 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^4$
+ Каталаза	2	$4 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{11}$

Активні центри ферментів

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

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

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

До складу активних центрів різних ферментів входять радикали певних амінокислотних залишків, головним чином ОН-групи серину, треоніну та тирозину, імідазольне кільце гістидину, SH-група цистеїну, COO⁻-групи дикарбонових амінокислот, NH₃⁺-групи аргініну та лізину (рис. 7.2). В утворенні активних центрів беруть участь також кофактори даного ферменту: простетичні групи, іони металів (рис. 9).

Активний центр локалізується, як правило, в заглибленні, просторовій ніші, що утворюється в макромолекулі білка-ферменту. Структура активного центру є комплементарною до просторової будови субстрату, що стало основою уявлення Е. Фішера про відповідність ферменту і субстрату як “ключа і замка”.

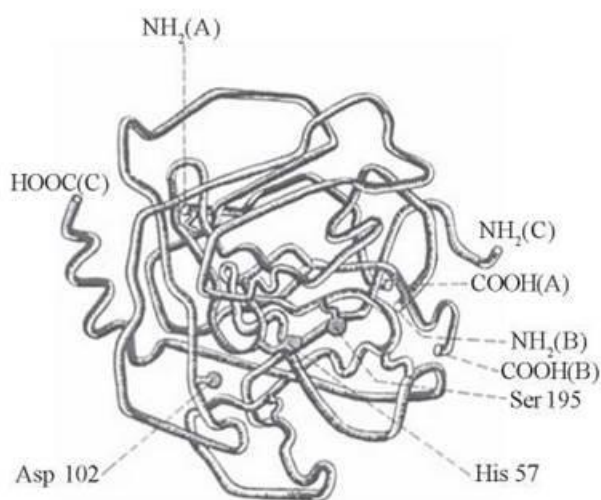


Рис. 9 – Тривимірна будова ферменту хімотріпсину.

Активний центр ферменту сформований амінокислотними залишками Ser-195, His-57 та Asp-102.

Пізніші теорії ферментативного каталізу (Д. Кошленд) враховують можливі взаємні зміни просторових конформацій ферменту і субстрату під час їх взаємодії (“теорія індукованої відповідності ферменту і субстрату”).

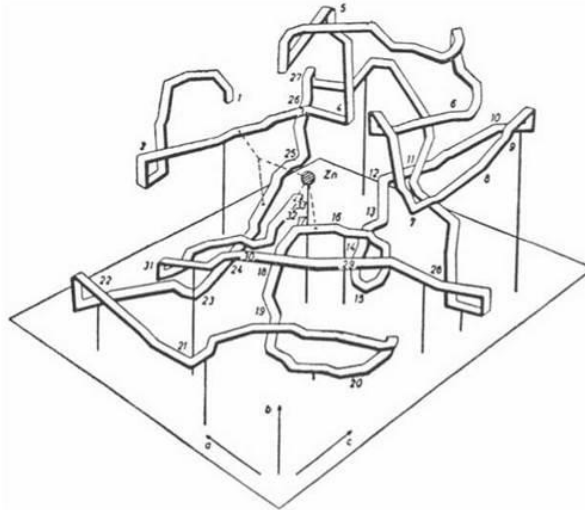


Рис. 10 – Розташування атома Zn в активному центрі ферменту карбоангідрази.

У структурі активного центру розрізняють:

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

- каталітично активну ділянку, до складу якої входять хімічні групи, що беруть безпосередню участь у перетворенні субстрату (групи $-OH$, $-SH$, $\geq N$, $-NH_3^+$, $-COO^-$).

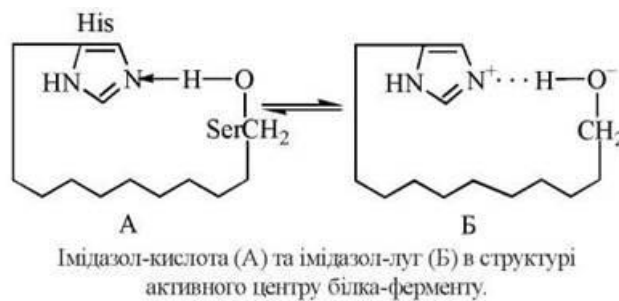
Механізми перетворення субстрату за каталітичної дії ферменту

У механізмі ферментативного перетворення субстрату беруть участь такі молекулярні ефекти:

1. *Ефекти зближення та орієнтації.* Адсорбція та фізико-хімічна взаємодія субстратів з активними центрами ферментів супроводжуються локальним зростанням концентрації реагуючих молекул, їх зближенням та найбільш ефективною орієнтацією одна до одної та до каталітично активних груп активного центру.

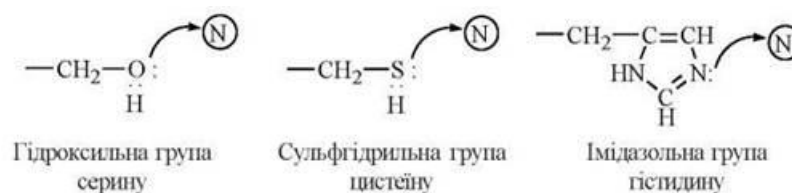
2. *Ефекти кислотно-основного каталізу.* Певні функціональні групи радикалів амінокислот, що входять до структури активних центрів, мають властивості кислот або основ Бренстеда, тобто донорів чи акцепторів протонів (амінні, карбоксильні, сульфгідрильні, імідазольні групи).

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



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

Нуклеофільні групи в складі активних центрів ферментів:



Електрофільні групи в складі активних центрів ферментів:

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

Механізми каталітичної дії хімотрипсину

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

Хімотрипсин (α -хімотрипсин) — протеолітичний фермент (протеаза), що розщеплює пептидні зв'язки за участю води в молекулах певних білків та пептидів. Як уже зазначалося, каталітичний центр хімотрипсину утворюється з гідроксильної групи серину та імідазольної групи гістидину, що розташовані в 195-му (Ser-195) та 57-му (His-57) положеннях пептидного ланцюга молекули ферменту.

Перший етап каталітичного акту.

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

Другий етап каталітичного акту.

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

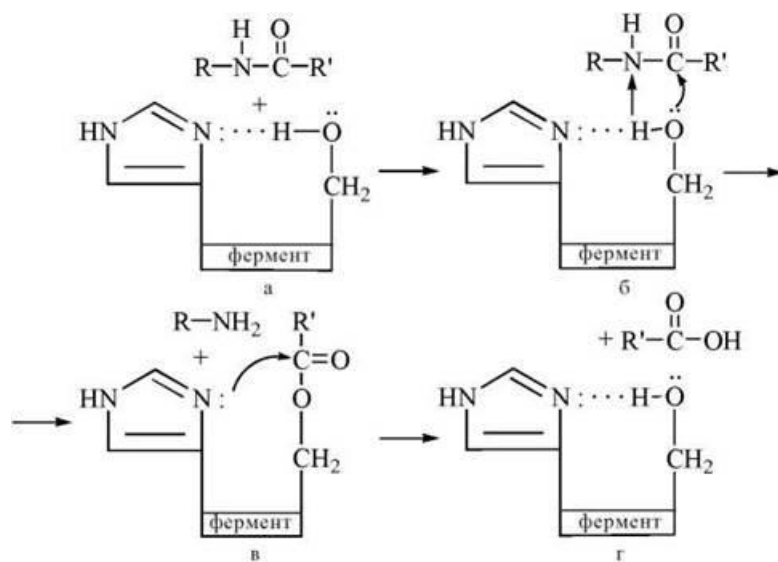
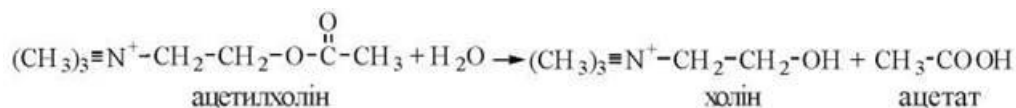


Рис. 10 – Участь функціональних груп активного центру хімотрипсину (His-57 та Ser-195) в каталітичному акті розщеплення пептидного зв'язку в молекулі субстрату.

Механізми каталітичної дії ацетилхолінестерази

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



Ацетилхолінестераза також належить до гістидин-серинових гідролаз і здійснює гідролітичне розщеплення субстрату з проміжним утворенням ацетильованого за залишком серину ферменту. Разом із тим, до активного центру ацетилхолінестерази входить гідроксильна група тирозину, що, виконуючи функцію лужного каталізатора, сприяє гідролізу ацетильованого серину та регенерації вихідної структури активного центру ферменту.

Питання для самоконтролю

1. Які процеси харчових виробництв засновані на дії ферментів?
2. Охарактеризуйте різні класи ферментів.
3. Які ферменти застосовуються в консервній промисловості?
4. Які ферменти застосовуються в м'ясопереробній промисловості?
5. Які ферменти застосовуються в крохмале-патоковій промисловості?

Лекція 10

Тема 8. Обмін речовин: катаболізм, анаболізм. 8.1. Загальні закономірності обміну

Обмін речовин (метаболізм) — сукупність біохімічних реакцій перетворення хімічних сполук (*метаболітів*), що відбуваються в живих організмах. Постійний обмін речовинами та енергією з навколишнім середовищем є головною ознакою живої клітини, що визначає її термодинамічно стаціонарний стан та протидіє зростанню ентропії в будь-якій біологічній системі.

Загальні закономірності обміну

Обмін речовин в організмі людини та вищих тварин складається з декількох послідовних стадій, що включають у себе:

- надходження біоорганічних речовин (поживних сполук) — білків, ліпідів, вуглеводів, вітамінів, мінеральних елементів, води — до організму в складі продуктів харчування;

- перетворення поживних сполук (білків, полісахаридів, жирів) у травному каналі до простих сполук (амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, гліцерину), що здатні всмоктуватися епітелієм слизової оболонки шлунка та кишечника;

- біотранспорт молекул — продуктів травлення поживних речовин кров'ю та лімфою, надходження їх через мембрани судин та клітинні мембрани до певних органів і тканин (печінки, м'язів, головного мозку, нирок, жирової тканини тощо);

- внутрішньоклітинний метаболізм біомолекул в органах і тканинах (проміжний обмін, або власне метаболізм у вузькому значенні);

- виділення (екскреція) з організму — через нирки, легені, шкіру, кишечник — кінцевих продуктів обміну речовин (діоксиду вуглецю, аміаку, сечовини, води, продуктів кон'югації деяких органічних молекул та продуктів їх окислення).

Реакції внутрішньоклітинного метаболізму включають у себе такі біохімічні перетворення:

- а) розщеплення біоорганічних молекул (глюкози, жирних кислот, амінокислот, гліцерину) до кінцевих продуктів проміжного обміну (діоксиду вуглецю, води, аміаку) з вивільненням хімічної енергії та акумуляцією її у формі аденозинтрифосфорної кислоти (аденозинтрифосфату, АТФ), інших макроергічних фосфатів або протонного потенціалу, що забезпечує енергетичні потреби основних процесів життєдіяльності. Сукупність процесів розщеплення біомолекул з вивільненням енергії отримала назву катаболізму;

- б) синтез специфічних, генетично притаманних даному організмові біомолекул (білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів, ліпідів, біорегуляторів тощо), що необхідні для утворення власних клітинних та позаклітинних біоструктур. Ці процеси отримали назву анаболізму та потребують використання енергії у формі АТФ.

- в) використання енергії (у формі АТФ або протонного потенціалу) для забезпечення таких процесів клітинної фізіології, як функціонування скоротливих структур (м'язове скорочення, діяльність елементів цитоскелета, війок і джгутиків тощо), екзо- та ендоцитоз, генерація мембранного потенціалу, активний транспорт метаболітів та неорганічних іонів.

Процеси перетворення одних метаболітів (біомолекул) на інші, що каталізуються ферментами, складають *метаболічні шляхи*.

Послідовності реакцій, з яких складаються метаболічні шляхи, можуть бути лінійними, розгалуженими та циклічними.

Метаболічні шляхи поділяються на:

- катаболічні шляхи, які становлять в сукупності катаболізм — реакції розщеплення (гідролізу, окислення тощо) біоорганічних речовин, що надходять із зовнішнього середовища у

складі продуктів харчування (вуглеводів, ліпідів, білків тощо) та біомолекул, які складають структуру клітин та тканин організму;

- анаболічні шляхи, які становлять анаболізм — реакції синтезу складних біоорганічних сполук, що складають різні структурні утворення організму (зокрема, біополімерів — білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів) та забезпечують його функціонування (ліпідів, моносахаридів, амінокислот, нуклеотидів, вітамінів, коферментів, гормонів тощо).

- амфіболічні шляхи, які містяться на “перехрестях” катаболізму та анаболізму; метаболіти, що складають амфіболічні шляхи, можуть перетворюватися як в катаболічних, так і в анаболічних процесах; прикладом може бути цикл трикарбонових кислот.

Обмін речовин в організмі безпосередньо пов’язаний з *обміном енергії*. Серед реакцій метаболізму розрізняють екзергонічні та ендергонічні реакції.

Екзергонічні реакції (процеси) — такі, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, необхідної для функціонування живих організмів.

Найбільш важливими екзергонічними процесами в живих системах є окислювальні реакції, що каталізуються окислювально-відновлювальними ферментами мембран мітохондрій. Енергія, яка вивільняється в окислювальних реакціях, здебільшого акумулюється у формі макроергічних сполук.

Ендергонічні реакції (процеси) — такі, що потребують для своєї течії витрат енергії; це ферментативні реакції синтезу та відновлення:

- *реакції синтезу* призводять до утворення нових хімічних зв’язків, ускладнення структури біомолекул (простих сполук та біополімерів); за джерело енергії в більшості реакцій синтезу правлять макроергічні зв’язки АТФ;

- *реакції відновлення* — приєднання до біоорганічних сполук (здебільшого, ненасичених зв’язків) атомів водню; в реакціях відновлення як донори використовуються молекули відновленого нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФН).

Спряження ендергонічних процесів з екзергонічними здійснюється за рахунок синтезу протягом екзергонічної реакції сполук з високим енергетичним потенціалом, які в подальшому використовуються в ендергонічних реакціях, що забезпечує передачу хімічної енергії від екзергонічного до ендергонічного процесу.

Сполуки з високим енергетичним потенціалом — це біомолекули (органічні фосфати), що мають високу стандартну вільну енергію переносу кінцевої фосфатної групи (зокрема, гідролізу) ΔG° (або ΔG° при $\text{pH} = 7,0$). Такі біомолекули та відповідні хімічні зв’язки мають назву макроергічних. Присутність у цих сполуках високоенергетичного (макроергічного) фосфатного зв’язку позначається символом \sim (знак “тильда”), тобто $\sim \text{Ф}$, або $\sim \text{Р}$ (англ.).

Головною макроергічною сполукою в живих організмах є молекула АТФ. У структурі молекули АТФ є два макроергічні зв’язки, молекули АДФ — один макроергічний зв’язок:

До макроергічних сполук належать також такі інтермедіати вуглеводного, ліпідного і амінокислотного метаболізму, як фосфоенолпіруват, 1,3-дифосфогліцерат та важливий енергетичний резерв м'язів — креатинфосфат.

Відповідно до цих енергетичних закономірностей, циклічні перетворення АТФ в АДФ зв'язують процеси, що генерують $\sim \Phi$, з процесами, що споживають $\sim \Phi$. Таким чином, у всіх біологічних системах АТФ є основною сполукою, яка передає енергію від екзергонічних до ендергонічних процесів (біохімічних реакцій та фізіологічних функцій).

Схема спряження екзергонічних (А—В) з ендергонічними (С—D) реакціями через систему АТФ — АДФ подана на рис. 8.1.

Протягом біологічної еволюції на Землі виникли два типи обміну речовин — аутоτροφний та гетеротрофний, що розрізняються залежно від того, у якій формі організми отримують з навколишнього середовища необхідні для їх життєдіяльності і побудови біоструктур вуглець та енергію.

Аутоτροφні клітини (організми) можуть використовувати як єдине джерело вуглецю CO_2 атмосфери, з якого вони здатні утворювати всі свої вуглецьвмісні компоненти. До аутоτροφних належать фотосинтезуючі клітини вищих зелених рослин та клітини деяких прокариотів — синьо-зелених водоростей, зелених та пурпурових бактерій. Енергію для своїх ендергонічних реакцій аутотрофи отримують за рахунок енергії сонячного світла, яка уловлюється та трансформується в хімічну енергію спеціальними світлочутливими білками, зокрема хлорофілами хлоропластів зелених рослин.

Гетеротрофні клітини (організми) отримують вуглець, необхідний для побудови власних молекул і біоструктур, у вигляді складних біоорганічних сполук (вуглеводів, ліпідів, білків тощо), що містяться в продуктах харчування. За джерело енергії для процесів життєдіяльності у гетеротрофів правлять реакції біологічного окислення метаболітів, які утворюються при катаболізмі моносахаридів, ліпідів та деяких амінокислот.

До гетеротрофних належать еукаріотичні клітини тваринних організмів, у яких основні екзергонічні процеси, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, відбуваються в мітохондріях.

Питання для самоконтролю

1. Як регулюється обмін речовин в організмі?
2. Яка роль нервової системи в регуляції обміну речовин?
3. Назвіть нейромедіатори. Яке значення кожного з них?

Лекція 11

Тема 9. Біоенергетичні процеси: транспорт електронів, окисне фосфорилування в мітохондріях. 9.1 Реакції біологічного окислення. Ферменти біологічного окислення.

Молекулярна організація ланцюга біологічного окислення в мітохондріях

Біоенергетичні процеси — біологічне окислення та спряжене з ним окисне фосфорилування — є кінцевою фазою катаболізму молекул у живих організмах, що реалізується складними мультиензимними комплексами внутрішніх мембран мітохондрій. Результатом цих структурованих у біомембранах реакцій є генерація макроергічних зв'язків у молекулі АТФ — основному постачальнику енергії для всіх ендергонічних процесів клітин.

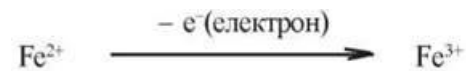
Реакції біологічного окислення

Внутрішньомолекулярне окислення біологічних субстратів (*біологічне окислення*) є основним молекулярним механізмом, за рахунок якого забезпечуються енергетичні потреби функціонування живих організмів.

Окислення — це процес втрати атомом, молекулою, що окислюється (субстратом окислення), електронів або атомів водню (протонів та електронів).

Відновлення — реакція, зворотна окисленню, супроводжується приєднанням органічним субстратом електронів або атомів водню (гідруванням субстрату).

Прикладом окислювально-відновлювальної реакції, поширеної в біологічних системах, є перетворення ферро-іону в ферри-іон:



В окислювально-відновлювальному процесі завжди беруть участь два типи речовин: *окисник* (сполука, що приймає електрони) та *відновник* (сполука, що віддає електрони окиснику).

Електрони та атоми водню, що беруть участь в окислювально-відновлювальних реакціях, мають назву *відновлювальних еквівалентів*.

Окислювально-відновлювальна реакція може полягати в міжатомному або міжмолекулярному передаванні відновлювальних еквівалентів від донора електронів (сполуки, що окислюється) акцептору електронів (сполуці, що відновлюється) без безпосереднього приєднання акцептора до донора. Існують також реакції, в ході яких утворюється новий хімічний зв'язок між атомом вуглецю біомолекули, що окислюється, та гетероатомом, який є більш електронегативним і виступає окисником (зокрема, атомом кисню).

Окисник та відновник складають *окислювально-відновлювальну пару* (систему) (редокс-систему). Здатність окислювально-відновлювальної системи віддавати або приймати електрони характеризується її *окислювально-відновлювальним потенціалом*, значення якого обчислюється за рівнянням Нернста:

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{OX}]}{[\text{RED}]}$$

де: R — газова стала, T — абсолютна температура, n — кількість електронів, що беруть участь у реакції, F — число Фарадея, $[OX]$ та $[RED]$ — концентрації, відповідно, окисленої та відновленої форми сполуки, E_0 — стандартний окислювально-відновлювальний потенціал системи (тобто окислювально-відновлювальний потенціал за умов рівностей концентрацій окисленої та відновленої форм редокс-пари).

Величина E_0 кількісно визначає здатність системи бути донором або акцептором електронів відносно іншої редокс-системи. Згідно з рекомендаціями Міжнародного союзу з теоретичної та прикладної хімії (International Union of Pure and Applied Chemie — IUPAC), прийнято вважати, що *більш негативні редокс-потенціали мають системи з підвищеною здатністю віддавати електрони, а більш позитивні — системи, що схильні акцептувати електрони.*

Стандартні окислювально-відновлювальні потенціали (у вольтах) вимірюють відносно потенціалу водневого електрода H^+/H_2 , приймаючи останній за 0,0 в при $pH=0$. Однак для біологічних систем більш зручно визначати редокс потенціали за умов $pH=7,0$ — такий стандартний окислювально-відновлювальний потенціал позначається E_0' . За цих умов E_0' водневого електрода дорівнює — 0,42в. Значення E_0' біологічно важливих редокс-систем наведені нижче.

Тканинне дихання

Реакції біологічного окислення складають молекулярну основу *тканинного дихання* — поглинання O_2 живими тканинами, яке є інтегральним фізіологічним показником інтенсивності перебігу в них окислювально-відновлювальних процесів. Джерелом кисню для цього процесу є O_2 , який надходить в тканини за умов нормальної діяльності системи зовнішнього дихання та кисеньтранспортивальної функції гемоглобіну крові, і через плазматичні мембрани дифундує всередину клітин.

У результаті тканинного дихання, яке відбувається в *мітохондріях*, атоми кисню включаються в молекулу води, а вуглець біоорганічних сполук, що окислюються, виділяється у формі двоокису вуглецю. Саме мітохондріальне дихання є біохімічною основою утворення та акумуляції вільної хімічної енергії, яка використовується у ендергонічних процесах.

У гепатоцитах печінки та клітинах деяких інших спеціалізованих тканин деяка частина кисню, який поглинається клітиною під час тканинного дихання, використовується в біологічному окисленні екзогенних та ендогенних субстратів у мембранах *ендоплазматичного ретикулу* — процесі *мікросомального окислення*, що є механізмом модифікації гідрофобних молекул в організмі. Його частка в сумарному балансі поглинання клітиною кисню складає в гепатоцитах до 20 %.



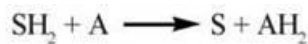
Рис. 11 – Варбург (Warburg) Отто, німецький біохімік (1883-1970). Зробив значний внесок у з'ясування біохімічних механізмів тканинного дихання, будови та функції дихальних ферментів, коферментів НАД і ФАД. Нобелівська премія (1931).

Типи реакцій біологічного окислення

Усі окислювально-відновлювальні реакції, що відбуваються в живих клітинах, каталізуються ферментами з класу *оксидоредуктаз*.

У процесах біологічного окислення, що мають місце в живих системах, виділяють такі класи реакцій:

1. Реакції, пов'язані з передаванням субстратом, що окислюється (SH_2), певному акцептору (А), водню (тобто протонів і електронів):



Реакції такого типу називаються реакціями *дегідрування*, а ферменти, що їх каталізують — *дегідрогеназами*.

Коферментами дегідрогеназ, що виконують функції безпосередніх акцепторів відновлювальних еквівалентів, є такі сполуки:

- *нікотинамідні (піридинові) коферменти* — нуклеотиди НАД⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотид) та НАДФ⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат);
- *флавінові коферменти* — нуклеотиди ФАД (флавінаденіндинуклеотид) та ФМН (флавінмононуклеотид).

Ці коферменти передають електрони на подальші біохімічні акцептори, утворюючи ланцюги передавання відновлювальних еквівалентів у біологічних системах.

Залежно від хімічної природи акцептора, з яким взаємодіють дегідрогенази, реакції дегідрування поділяють на такі класи:

Реакції дегідрування, в яких акцептором є хімічна сполука (R), відмінна від кисню:



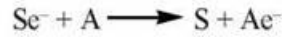
1.1 Ферменти, що каталізують такі реакції, — *анаеробні дегідрогенази*.

1.2. Реакції дегідрування, в яких як акцептор використовується кисень:



Ферменти, що каталізують ці реакції, — *аеробні дегідрогенази*, або *оксидази*; в результаті їх дії утворюється перекис водню.

2. Реакції, що відбуваються з передаванням від субстрату до акцептора електронів (одного або двох):

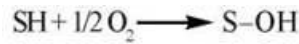


Реакції такого типу каталізуються *цитохромами* дихального ланцюга мітохондрій.

3. Реакції, що полягають у безпосередньому приєднанні до субстрату, який окислюється, одного або двох атомів кисню.

Такі реакції дістали назву *оксигеназних*, а відповідні ферменти, що їх каталізують, — *оксигеназ*. Залежно від кількості атомів кисню, що взаємодіють із субстратом, оксигеназні реакції поділяють на:

- *монооксигеназні*:



- *діоксигеназні*:



Монооксигеназні реакції каталізуються цитохромом P-450 і лежать в основі *окислювального гідроксилювання* багатьох гідрофобних субстратів екзогенного та ендогенного походження (мікросомальне окислення). До діоксигеназних належать реакції *перекисного окислення ліпідів*, тобто ненасичених жирних кислот, що входять до складу ліпідів природного походження.

Питання для самоконтролю

1. Які номенклатура й класифікація ферментів?
2. Які процеси харчових виробництв засновані на дії ферментів?
3. Охарактеризуйте різні класи ферментів.
4. Які ферменти застосовуються в консервній промисловості?
5. Які ферменти застосовуються в м'ясопереробній промисловості?
6. Які ферменти застосовуються в крохмале-патоковій промисловості?

Лекція 12

Розділ III. Метаболізм основних класів біомолекул.

Тема 10. Метаболізм вуглеводів. Аеробне та анаеробне окиснення глюкози.

10.1 Шляхи внутрішньоклітинного катаболізму моносахаридів

Прості вуглеводи (моносахариди — глюкоза, фруктоза, галактоза, маноза) після всмоктування в кишковому тракті та проникнення всередину клітин підлягають метаболічним перетворенням, які становлять підґрунтя їх біоенергетичної функції. Безпосередній і найбільший внесок в утворення АТФ здійснює окислення глюкози до кінцевих продуктів катаболізму — діоксиду вуглецю та води. Крім того, певна кількість вуглеводів, що постійно надходять в організм з продуктами харчування, формують енергетичні депо метаболічного палива у вигляді глікогену та нейтральних жирів.

Шляхи внутрішньоклітинного катаболізму моносахаридів

Основним моносахаридом, що в результаті катаболічних реакцій окислення до кінцевих простих продуктів утворює найбільшу кількість АТФ, є D-глюкоза, основним джерелом якої в організмі людини та тварин є крохмаль рослинних продуктів харчування. Інші прості вуглеводи, що надходять до організму в складі їжі (фруктоза — як компонент дисахариду сахарози, галактоза — як компонент лактози тощо), підлягають метаболічним перетворенням переважно після їх трансформації у фосфорні ефіри глюкози.

Основні шляхи внутрішньоклітинного катаболізму глюкози:

- *аеробне окислення*, в результаті якого глюкоза розщеплюється до двооксиду вуглецю та води;
- *гліколітичний шлях розщеплення (гліколіз)*, в результаті якого глюкоза утворює проміжні продукти катаболізму (пірвіноградну або молочну кислоту).

Глюкоза, яка всмоктується в кров у кількості, що перевищує безпосередні енергетичні потреби організму, відкладається про запас у вигляді глікогену (“тваринного крохмалю”) або використовується для синтезу триацилгліцеролів жирової тканини.

Вторинні шляхи перетворення глюкози, що призводять до утворення біологічно важливих метаболітів:

- пентозофосфатний шлях (шунт) окислення глюкози, в результаті якого утворюються необхідні для інших реакцій метаболізму фосфорні ефіри моносахаридів (пентоз, тріоз тощо) та відновлена форма НАДФ⁺ (НАДФН);
- перетворення глюкози на глюкуронову кислоту;
- перетворення глюкози на аскорбінову кислоту (метаболічний шлях функціонує лише в деяких видів тваринних організмів).

Регуляція обміну глюкози. Цукровий діабет

Енергетика гліколізу

Враховуючи дві молекули АТФ, що використовуються на першій стадії гліколізу (гексокіназна та фосфофруктокіназна реакції), та чотири молекули АТФ, що утворюються на другій стадії (фосфогліцераткіназна та пірваткіназна реакції), сумарний процес *аеробного та анаеробного* гліколізу можна подати таким рівнянням:



Утворення в реакціях гліколізу молекул АТФ за рахунок безпосереднього перенесення макроергічних фосфатних груп від 1,3-диФГК та ФЕП на АДФ отримало назву *субстратного фосфорилування* (“фосфорилування на рівні субстрату”).

Енергетика аеробного окислення глюкози

Для підрахунку загальної кількості молекул АТФ, що генеруються за умов повного окислення глюкози до двоокису вуглецю та води, враховують:

- кількість молекул АТФ, які утворились на етапі аеробного гліколізу (2 молекули АТФ);
- кількість молекул АТФ, які утворились за рахунок окислення в мітохондріях двох молекул гліколітичного НАДН ($2 \times 3 = 6$ молекул АТФ);
- кількість молекул АТФ, які утворились на етапі окисного декарбоксилювання двох молекул пірувату за рахунок окислення в мітохондріях НАДН, утвореного в піруватдегідрогеназній реакції ($2 \times 3 = 6$ молекул АТФ);
- кількість молекул АТФ, які утворились за рахунок окислення в циклі трикарбонових кислот двох молекул ацетил-КоА ($2 \times 12 = 24$ молекули АТФ).

Сумарне рівняння аеробного окислення глюкози, що враховує АТФ, генеровану при субстратному фосфорилуванні на гліколітичному етапі та за рахунок окисного фосфорилування в мітохондріях, таке:



У зв'язку зі значно більшою енергетичною ефективністю аеробного окислення глюкози, порівняно з гліколізом, останній процес розглядається як еволюційно більш прадавній шлях катаболізму глюкози, що мав першорядне значення в умовах відсутності в первісній земній атмосфері кисню.

Шляхи внутрішньоклітинного катаболізму моносахаридів

1. Яку роль відіграє біологічне окиснення у процесах життєдіяльності організму?
2. У чому полягають відмінності біологічного окиснення й окиснення в неживій природі?
3. Назвіть групи ферментів, що беруть участь у біологічному окисненні.
4. Яка структура анаеробних і аеробних дегідрогеназ?
5. Охарактеризуйте роль гемінових ферментів у біологічному окисненні.
6. Як здійснюється транспорт електронів і протонів у біологічному окисненні?
7. У чому полягають відмінності між тканинним диханням і окисним фосфорилуванням?

Лекція 13

Тема 14. Метаболізм ліпідів. Катаболізм триацилгліцеролів та жирних кислот. 14.

1 Шляхи перетворення амінокислот у тканинах

14.2. Трансамінування амінокислот. 14.3 Дезамінування амінокислот

У тілі дорослої людини міститься в середньому 12-15 кг білків, що виконують численні каталітичні, регуляторні, структурні функції. Приблизно половину цієї маси (6-7 кг) складають екстрацелюлярні білки опорних тканин, серед яких перше місце за кількістю займає *колаген*. Другу половину білків тіла складають інтрацелюлярні білки тканин та білки крові з високою швидкістю обміну. Завдяки обміну білків у катаболічних та анаболічних реакціях, тобто безперервному перебігу процесів протеолізу та білкового синтезу, в організмі існує постійний фонд (пул) вільних амінокислот, які підлягають різноманітним біохімічним перетворенням.

Шляхи перетворення амінокислот у тканинах

Подібно до інших біомолекул, білки, які входять до складу живого організму, знаходяться в стаціонарному стані постійного оновлення відбуваються розщеплення їх тканинними протеазами та синтез нових поліпептидних молекул.

Загальний пул амінокислот у тілі людини складається з потоків, які забезпечують *надходження* вільних амінокислот та їх *використання* в різноманітних анаболічних та катаболічних процесах. Сумарна кількість амінокислот, що перетворюються за добу, складає в організмі дорослої здорової людини в стані азотистої рівноваги 300-500 г, а стаціонарна їх концентрація дорівнює близько 50-100 г на масу тіла.

Потік амінокислот, що входить до амінокислотного пулу, складається з таких джерел:

1. Амінокислот, які всмоктуються ентероцитами кишечника внаслідок гідролізу харчових білків у травному каналі (шлунку, тонкому кишечнику); біохімічні процеси протеолізу білків у травному каналі будуть розглянуті окремо. Кількісне значення цієї складової становить (залежно від характеру харчування) 60-100 г на добу. Додаткову компоненту в цей потік (від 35 до 200 г білка) вносить протеоліз ендogenous білків з епітелію ентероцитів, що злуцується (I. Halkerston, 1988).

2. Амінокислот, які вивільняються в результаті розщеплення власних клітинних і позаклітинних білків. Середня тривалість напівжиття ($T_{1/2}$) в індивідуальних білків значно варіює, становлячи від декількох годин для певних ферментів гепатоцитів до декількох років для структурного білка колагену.

У здорової дорослої людини середнє добове оновлення тканинних білків складає 1-2 % від загальної маси білків тіла і відбувається переважно за рахунок деградації до амінокислот білків м'язів (30-40 г білків за добу). Розщеплення тканинних білків каталізується протеазами лізосом і значно збільшується за умов білкового та повного голодування, під час виснажливих хвороб (особливо інфекційних, онкологічних захворювань), що порушують процеси біосинтезу білків і спричиняють переважання катаболічних процесів над анаболічними.

3. Амінокислот, які синтезуються в організмі. Організм людини має обмежені можливості щодо утворення амінокислот *de novo*: його ферментні системи здатні синтезувати з

інших інтермедіатів в кількості, достатній для синтезу власних білків, лише вісім “замінних” (“необхідних”, “несуттєвих” — nonessential, англ.) L-амінокислот. Амінокислоти, які в організмі людини не синтезуються, надходячи тільки з продуктами харчування, є “незамінними” (“необхідними”, “суттєвими” — essential, англ.).

До замінних амінокислот належать: аланін, аспарагінова кислота, аспарагін, глутамінова кислота, глутамін, пролін, гліцин, серин. При біосинтезі замінних амінокислот їх вуглецева частина утворюється з інтермедіатів окислення глюкози та цитратного циклу, а аміногрупа постачається з інших амінокислот у реакціях трансамінування. “Умовно замінними” є амінокислоти цистеїн та тирозин, які можуть синтезуватися із незамінних — метіоніну та фенілаланіну, відповідно; “частково замінні” амінокислоти (гістидин, аргінін) синтезуються в недостатній кількості.

Потік амінокислот, що виходить з амінокислотного пулу, включає анаболічні і катаболічні шляхи перетворення вільних амінокислот і складається з таких компонентів:

1. Використання амінокислот для синтезу білків організму. Цей потік у дорослих людей, що споживають збалансовану дієту, забезпечує покриття протеолізу власних білків — стан *азотистої рівноваги*. Для синтезу власних ферментних, структурних білків та фізіологічно активних сполук білкової і пептидної природи (на анаболічні потреби) використовується близько 75-80 % амінокислот, що вивільняються при розщепленні тканинних білків, та амінокислот, які надходять із кишечника.

2. Використання амінокислот, які не включені в анаболічні процеси, в катаболічних реакціях. При цьому молекули амінокислот розщеплюються з утворенням діоксиду вуглецю, води (через цикл лимонної кислоти) та кінцевих продуктів азотистого обміну (у людини — переважно *сечовини*). Певна частина безазотистого вуглецевого скелета амінокислот використовується для утворення глюкози (глюконеогенезу) та кетонів тіл (кетогенезу).

Розщепленню підлягають усі амінокислоти, що не використовуються для синтезу білків або фізіологічно активних сполук (ФАС) незалежно від джерела походження, оскільки *резерви білків у тваринних організмах не утворюються (на відміну від вуглеводів та ліпідів)*. Разом з тим, біоенергетичне значення катаболізму амінокислот у здорової людини незначне, порівняно з вуглеводами та ліпідами (близько 10 % від загальних енергетичних потреб), суттєво збільшуючись лише за умов голодування.

Першим етапом катаболізму вільних L-амінокислот є відщеплення α -аміногрупи в реакціях *трансамінування та дезамінування*. Деякі амінокислоти використовуються в реакціях *декарбоксілювання* з утворенням амінів гормональної та нейромедіаторної дії, які в подальшому також розщеплюються шляхом дезамінування.

Суцільні стрілки — реакції використання амінокислот в анаболічних та катаболічних процесах; перервні стрілки — реакції надходження амінокислот в загальний амінокислотний пул.



Рис. 12 – Схема загальних шляхів перетворення амінокислот.

Трансамінування амінокислот

Реакції трансамінування полягають у переносі α -аміногрупи від амінокислоти на α -вуглецевий атом α -кето-кислоти — акцептора аміногрупи (здебільшого — α -кетоглутарату); в результаті реакції утворюється α -кетоаналог вихідної амінокислоти та нова амінокислота (в разі використання як акцептора α -кетоглутарату — L-глутамат):

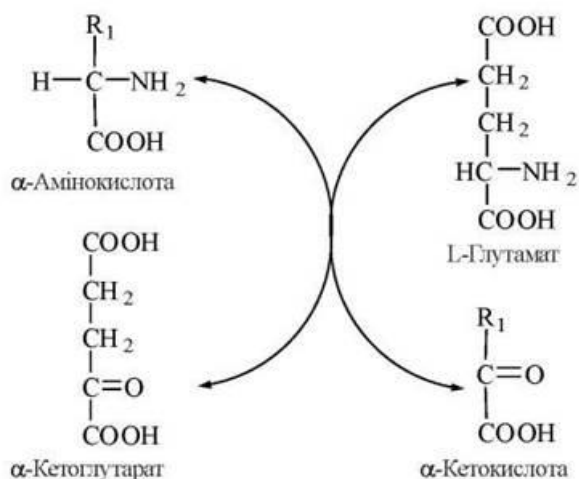


Рис. 13 – Загальна схема реакцій трансамінування.

Ферменти, що каталізують реакції трансамінування, — аміотрансферази (трансамінази).

Аміотрансферазні реакції

У різних тканинах організму людини і тварин міститься більше десяти різних аміотрансфераз, що розрізняються за своєю субстратною специфічністю. Найбільш поширеними є такі аміотрансферази:

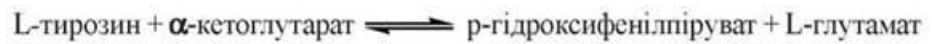
- (1) аланінаміотрансфераза (глутамат-піруваттрансаміназа — ГПТ):



- (2) аспартатаміотрансфераза (глутамат-оксалоацетаттрансаміназа — ГОТ):



- (3) тирозинаміотрансфераза:



(4) лейцинаміотрансфераза:



Реакції трансамінування, що каталізуються аміотрансферазами, активно перебігають в багатьох органах, найактивніше — в печінці, скелетних м'язах, міокарді, головному мозку, нирках. Визначення активності *аланінаміотрансферази* (*аланінової трансамінази* — АЛТ) та *аспартатаміотрансферази* (*аспарагінової трансамінази* — АсТ) широко застосовується в медичній практиці з метою діагностики пошкоджень внутрішніх органів. Внаслідок виходу цих ферментних білків через ушкоджені клітинні мембрани в кров при інфаркті міокарда спостерігається значне підвищення активності в сироватці крові АсТ, при вірусних та токсичних пошкодженнях печінки — АЛТ.

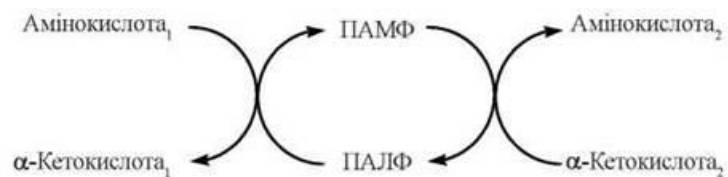
Механізм дії аміотрансфераз

Аміотрансферази є складними білками-ферментами, простетичною групою в яких є коферментні форми вітаміну В₆ (піридоксину, піридоксолу) — *піридоксальфосфат* (ПАЛФ) та *піридоксамінфосфат* (ПAMФ), що утворюється з ПАЛФ у процесі переносу аміногрупи.

Утворення коферменту з вітаміну В₆, що надходить в організм із продуктами харчування, відбувається шляхом фосфорилування піридоксолу до піридоксолфосфату (ПОЛФ) за дії АТФ-залежної *кінази* з подальшим окисленням ПОЛФ до ПАЛФ специфічним флавопротеїном.

У складі ферменту аміотрансферази кофермент (ПАЛФ) сполучений з поліпептидним ланцюгом за рахунок утворення *альдимінного зв'язку* (основи Шиффа) з ε-аміногрупою залишку лізину (Lys-258).

У процесі каталітичного акту трансамінування відбувається циклічне перетворення ПАЛФ на ПAMФ:



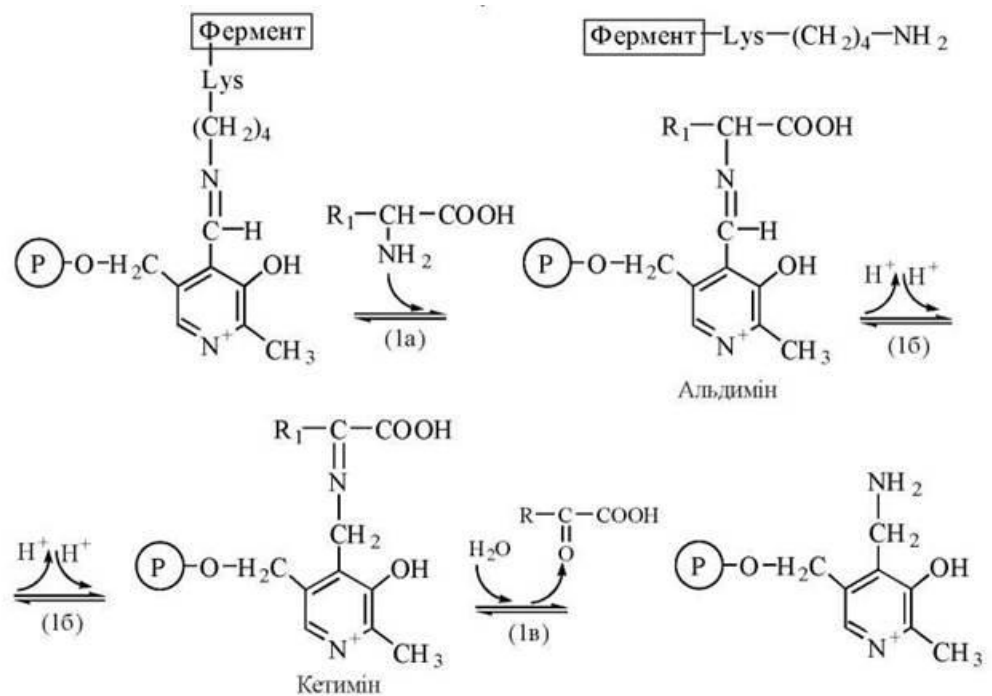
Процес складається з двох напівреакцій:

Ads by **optAd360**

1) взаємодія амінокислоти, що втрачає аміногрупу, з піридоксальфосфатом з утворенням кетокислоти та піридоксамінфосфату:



Механізм реакції полягає у взаємодії амінокислоти з ПАЛФ-Е із заміною альдимінного зв'язку у складі ПАЛФ-Е на альдимінний зв'язок між коферментом та амінокислотою (1a); після внутрішньомолекулярного перегрупування (1б) відбувається гідроліз кетиміну (1в) з утворенням коферментної форми, що містить аміногрупу (ПAMФ), та α-кетокислоти₁:



Напівреакція каталітичного циклу трансамінування.

2) взаємодія α -кетокислоти₂, що акцептує аміногрупу, з піридоксамінфосфатом з утворенням нової амінокислоти та регенерацією піридоксальфосфату:



Механізм цієї напівреакції аналогічний розглянутому для першої напівреакції (при її течії в зворотному напрямку); ПАЛФ, що регенерує в результаті другої напівреакції, знову сполучається альдимінним зв'язком з білковою частиною ферменту.

Процес трансамінування та ферменти, що його каталізують, були вперше описані в 1937 р. А.О. Браунштейном та М.Г. Крицман; пізніше А.О. Браунштейном та М.М. Шемякіним була запропонована теорія піридоксалевого каталізу. А.О. Браунштейн народився в м. Харкові, закінчив Харківський медичний інститут, працював в Інституті біологічної і медичної хімії АМН СРСР, Інституті молекулярної біології АН СРСР.



Рис. 14 – Браунштейн Олександр Овсійович (1902-1986)— академік АН та АМН СРСР.

Біохімічне значення реакцій трансамінування

Як впливає з наведеного, в реакціях трансамінування не відбувається дезамінування, тобто вивільнення аміаку, оскільки аміногрупа, що відщеплюється від α -L-амінокислоти, акцептується відповідною α -кетокислотою, здебільшого — α -кетоглутаровою.

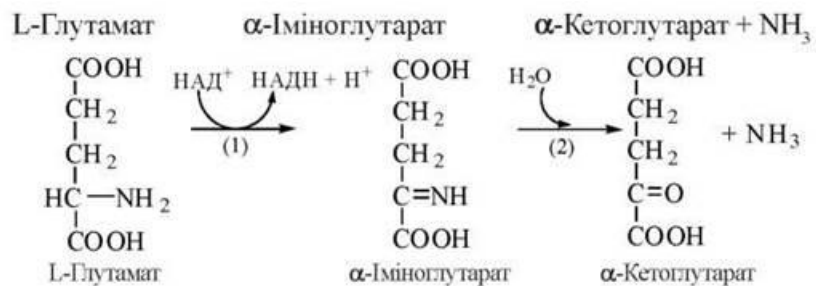
Біохімічне значення трансамінування суттєво відрізняється в різних органах.

У печінці роль трансамінування полягає в його *колекторній функції*, тобто збиранні аміногруп від різних амінокислот переважно в одній молекулярній формі — у вигляді L-глутамінової кислоти. Біохімічний сенс такого процесу полягає в тому, що саме L-глутамат є основним субстратом реакцій дезамінування, тобто постачальником аміногруп на метаболічний шлях утворення сечовини — кінцевого продукту азотистого катаболізму.

У м'язах спрямованість реакцій трансамінування призводить до утворення значної кількості *аланіну* (за рахунок переамінування амінокислот з піруватом), що виділяється в кров'яне русло і поглинається гепатоцитами; в печінці аланін знову перетворюється на піруват, який використовується в глюконеогенезі.

Дезамінування амінокислот

У клітинах людини і тварин найбільш активно дезамінується L-глутамінова кислота; процес відбувається за механізмом *окислювального дезамінування*, згідно з рівнянням:



Перший етап — утворення α -іміноглутарату — каталізується ферментом НАД-залежною *глутаматдегідрогеназою*, що локалізована в мітохондріях; другий етап — утворення α -кетоглутарату — є неферментативним. α -Кетоглутарат, що утворився, окислюється в циклі трикарбонних кислот, а аміак поглинається ферментативною системою синтезу сечовини.

Зворотний процес — відновлювальне амінування α -кетоглутарату до L-глутамату — може перебігати в цитозолі при участі цитозольної НАДФ-залежної глутаматдегідрогенази і бути допоміжним механізмом зв'язування аміаку.

Непряме дезамінування L-амінокислот

Оскільки L-глутамат є амінокислотою, що утворюється при трансамінуванні більшості L-амінокислот, течія L-глутаматдегідрогеназної реакції є центральним біохімічним механізмом, завдяки якому здійснюється дезамінування більшості вільних амінокислот і утворюється основна кількість аміаку в тваринному організмі.

Таке дезамінування вільних L-амінокислот за механізмом спряження реакцій трансамінування з α -кетоглутаратом і окислювального дезамінування L-глутамату отримало назву *непрямого дезамінування*:

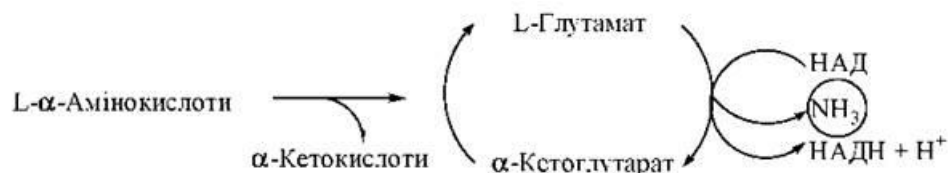
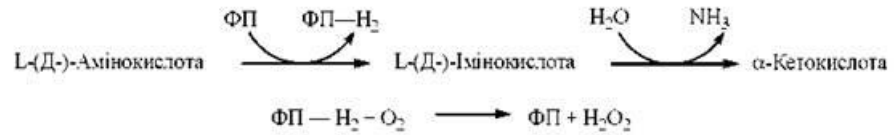


Рис. 15 – Схема непрямого дезамінування L-амінокислот.

Найбільш активно непряме дезамінування амінокислот за участю глутаматдегідрогенази відбувається в печінці, де аміак, що звільнюється, надходить у цикл сечовиноутворення.

Оксидази L- та D-амінокислот

У печінці і нирках містяться ферменти — оксидази амінокислот. Це флавопротеїни (ФП), що каталізують реакції окислювального дезамінування L- та D-амінокислот з утворенням перекису водню:



Оксидази L-амінокислот є ФМН-залежними, оксидази D-амінокислот — ФАД-залежними ферментами. Перекис водню є токсичним метаболітом, що ініціює перекисне окислення мембранних фосфоліпідів клітини. Знешкодження перекису водню досягається його розщепленням *каталазою* пероксисом:



Оксидази L- та D-амінокислот за фізіологічних умов є малоактивними ферментами, і їх біохімічне значення остаточно нез'ясоване.

Питання для самоконтролю

1. Які продукти є джерелами поліненасичених жирних кислот?
2. Від чого залежить характер і ступінь зміни жирів при технологічній обробці?
3. Наявність яких речовин каналізує процеси окиснення жирів при технологічній обробці?
4. Як відбувається розщеплення ліпідів у шлунково-кишковому тракті людини?
5. Яким ж склад жовчі та її роль у розщепленні ліпідів?
6. Яких перетворень у клітині зазнає гліцерол?
7. Наведіть реакції β (бета)-окиснення вищих жирних кислот?

Лекція 14

Тема 17. Молекулярні реплікації ДНК та транскрипції РНК

- 17.1 Біологічне значення реплікації ДНК. Напівконсервативний механізм реплікації.
 17.2. Ферменти реплікації ДНК у прокариотів та еукариотів. 17.3 Молекулярні механізми реплікації ДНК

Значення відкриття в 1953 р. Дж. Уотсоном та Ф. Кріком будови молекули ДНК як подвійної спіралі полягало не тільки в розшифровці геометричної структури молекули. Модель, що була запропонована, розкривала можливості для створення чітких наукових уявлень про

механізм подвоєння — *реплікації* молекули ДНК, *тобто рівного розподілу між дочірніми клітинами генетичного матеріалу*, що становило чи не найбільшу біологічну таємницю протягом усього існування людства.

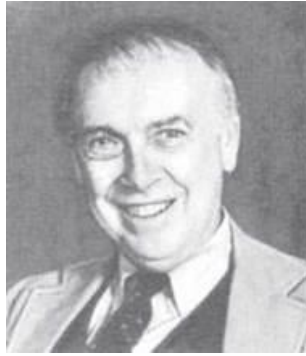


Рис. 16 – Уотсон (Watson) Джеймс Д. (народ. 1928 р.), американський біохімік, один із фундаторів молекулярної біології. Нобелівська премія (1962).



Рис. 17 – Крік (Crick) Френсис (народ. 1916 р.), англійський фізик, один із фундаторів молекулярної біології. Нобелівська премія (1962).

Як зазначав пізніше Дж. Уотсон, “існування двох переплетених ланцюгів з однаковою послідовністю основ не могло бути випадковим. Навпаки, це дає право вважати, що один із ланцюгів кожної молекули на певній стадії править за матрицю для синтезу іншого ланцюга. За такою схемою реплікація гена починалася б із його розділення на два однакові ланцюги. Потім на обох материнських матрицях могли б утворюватися два дочірніх ланцюги, в результаті чого формувалися б дві молекули ДНК, ідентичні первісній” (J. Watson, 1968).

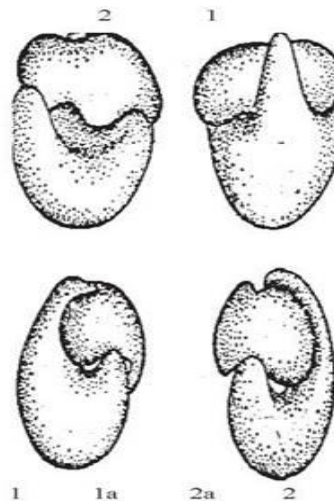


Рис. 18 – Модель реплікації ДНК за механізмом Уотсона та Кріка.

1, 2 — материнські ланцюги ДНК; 1а, 2а — дочірні ланцюги ДНК.

Напівконсервативний та консервативний механізми реплікації

Модель подвоєння (реплікації) молекули ДНК, що була первинно запропонована Дж. Уотсоном та Ф. Кріком, отримала назву *напівконсервативного механізму реплікації*. Згідно з цим механізмом, “материнська” молекула ДНК в процесі реплікації розділяється на два ланцюги, кожен з яких править за матрицю для синтезу за принципом комплементарності другого ланцюга з утворенням ідентичних “дочірніх” молекул.

Поряд із зазначеною моделлю Уотсона-Кріка, як теоретично можливий розглядався також *консервативний механізм реплікації*, відповідно до якого при подвоєнні клітини “стара” материнська молекула ДНК залишається незайманою, а з вільних мононуклеотидів складаються повністю нові молекули ДНК:

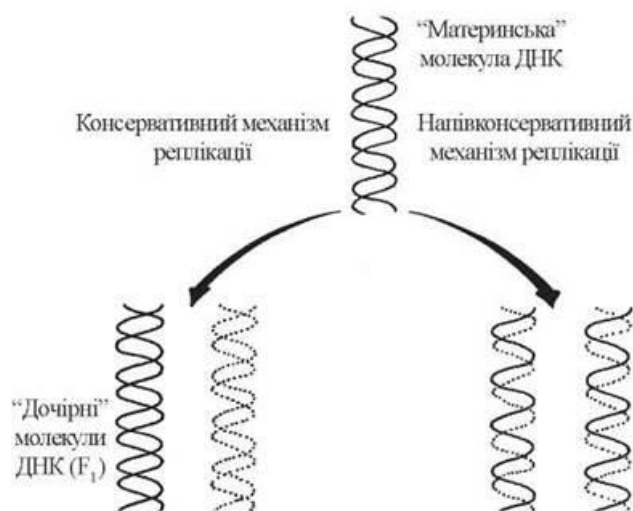


Рис. 19 – Теоретично можливі механізми реплікації ДНК.

Експериментальне обґрунтування напівконсервативного механізму реплікації ДНК було здійснено в досліджах М. Мезелсона та Ф. Сталя (M. Meselson, F.W. Stahl; 1957). Головна ідея експерименту М. Мезелсона та Ф. Сталя ґрунтувалася на різній питомій щільності і, відповідно, можливості фракціонування методом ультрацентрифугування в градієнті щільності CsCl молекул ДНК, що відрізняються за вмістом легкого (N^{14}) або важкого (N^{15}) ізотопів азоту. Схему експерименту можна розділити на такі етапи:

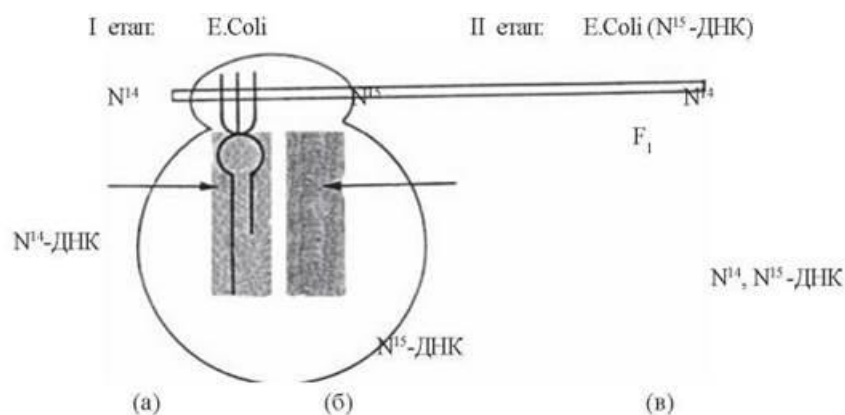


Рис. 20 – Схema експерименту М. Мезелсона та Ф. Сталя.

1) вирощування клітин *E. Coli* на середовищі, що містило як джерело азоту NH_4Cl з легким ізотопом (N^{14}); була встановлена щільність “легких” молекул ДНК, що містилися в таких клітинах;

2) вирощування клітин *E. Coli* протягом декількох поколінь на середовищі, що містило як джерело азоту NH_4Cl з важким ізотопом (N^{15}); була встановлена щільність “важких” молекул ДНК, що містилися в таких клітинах;

3) клітини *E. Coli*, що містили у своєму складі “повністю важкі” молекули ДНК (N^{15} -ДНК) знову були перенесені на середовище з легким (N^{14}) ізотопом азоту; після першої реплікації дочірні клітини (F_1) збиралися, з них екстрагувалася ДНК і методом ультрацентрифугування визначалася її щільність. Було встановлено, що щільність цієї ДНК з покоління F_1 була *проміжною* між щільністю “легких” (N^{14}) та “важких” (N^{15}) молекул ДНК, тобто складалася наполовину з “легких” і наполовину з “важких” ланцюгів, що відповідало будові (N^{14} , N^{15} -ДНК), підтверджуючи тим самим напівконсервативний механізм реплікації.

Ферменти реплікації ДНК у прокариотів та еукаріотів

А. Корнберг та співавт. (Kornberg Artur, 1956) інкубували екстракти *E. Coli*, що містили ферменти та деяку кількість ДНК, із сумішшю дезоксинуклеозидтрифосфатів (дНТФ), а саме: дАТФ, дТТФ, дГТФ та дЦТФ.

Було встановлено, що в цих умовах синтезується певна кількість нової ДНК (точніше, *полідезоксирибонуклеотиду*), до складу якого входили дезоксинуклеозидмонофосфати (дНМФ) із складу дНТФ, що були використані для біосинтезу. *При цьому новий ланцюг ДНК утворювався за рахунок приєднання дНМФ до кінця одного з ланцюгів ДНК, що вже існувала (передіснуючої ДНК).*

Рівняння реакції в найпростішій формі має вигляд:



Фермент, що каталізував зазначену реакцію, отримав назву *ДНК-полімерази I*, і його вивчення дозволило з’ясувати деякі принципові особливості біосинтезу ДНК як у прокариотів, так і в еукаріотів, хоча, як з’ясувалося, він не є основним ензимом в реплікації ДНК, а виконує в цьому процесі певні допоміжні функції.

Необхідність вихідної (передіснуючої) ДНК в системі Корнберга

ДНК-полімераза I, що здійснювала утворення 3'-5'-фосфодієфірних зв’язків в системі Корнберга, могла функціонувати тільки в присутності вже існуючої (“передіснуючої”) ДНК. Передіснуюча ДНК, що необхідна для утворення нового *полідезоксирибонуклеотиду*, виконує дві функції (рис. 20.6). Вона служить:

- (1) *затравкою* для подовження ланцюга полідезоксирибонуклеотиду;
- (2) *матрицею*, що визначає (програмує) послідовність включення в ланцюг, що синтезується, нових нуклеотидів.

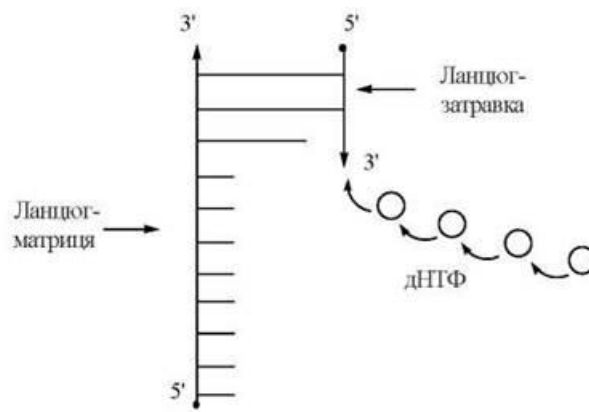


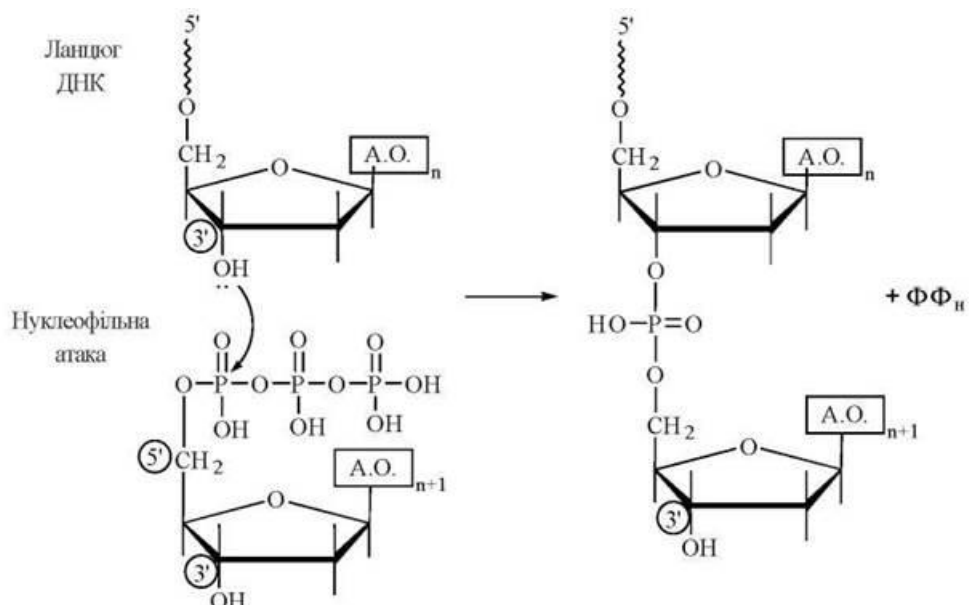
Рис. 21 – Схема синтезу нового ланцюга ДНК при наявності ланцюга-затравки та ланцюга-матриці.

Пізніше було встановлено, що ДНК-полімераза I (“фермент Корнберга”) не є основним ферментом в реплікації ДНК у прокаріотів. Проте, певні особливості цього синтезу виявилися справедливими і для функціонування інших полімераз.

Особливості синтезу ДНК в ДНК-полімеразній системі:

- ДНК-полімераза не може синтезувати повністю новий ланцюг ДНК, а спроможна лише приєднувати дНМФ до вже існуючого ланцюга;
- синтез нового ланцюга ДНК відбувається в напрямку 5'-3', тобто ДНК-полімераза послідовно приєднує нуклеотиди (дНМФ з наявних дНТФ) до 3'-кінця одного з ланцюгів ДНК (ланцюга-”затравки”);
- для синтезу нового ланцюга ДНК необхідний також ланцюг-матриця; нуклеотиди сполучаються з 3'-кінцем ланцюга-”затравки” відповідно до нуклеотидної послідовності в ланцюгу-”матриці” (тобто, за принципом *комплементарності*).

Механізм подовження (*елонгації*) ланцюга ДНК полягає в утворенні нових 3'-5'-фосфодієфірних зв'язків, що синтезуються в напрямку 5'→3'. При цьому відбувається *нуклеофільна атака* з боку вільної 3'-гідроксильної групи кінцевого нуклеотиду ланцюга, що вже існує, на α -фосфат дНТФ, який вступає в реакцію:



Ферменти біосинтезу ДНК у прокариотів

1) ДНК-полімераза I — білок з м.м. 103 кД.

Біохімічні функції:

5'→3' — полімеразна активність (розглянута вище);

5'→3' — екзонуклеазна активність (тобто спроможність видаляти нуклеотиди вище від напрямку синтезу);

3'→5' — екзонуклеазна активність (“коригуюча” активність, або спроможність видаляти вже включений нуклеотид, якщо він включений помилково, тобто не є комплементарним ланцюга-матриці);

2) ДНК-полімераза II (білок з м.м. 120 кД) не є основним в реплікації ДНК у прокариотів; за уявленнями, що існують, переважною функцією цього ферменту є участь у репарації ДНК;

3) ДНК-полімераза III — головний фермент, що реалізує процес елонгації ДНК у *E. Coli*.

За своєю молекулярною будовою ДНК-полімераза III є асиметричним димером з м.м. близько 900 кД. Це мультисубодиночний фермент, ціла молекула якого (холофермент) містить у своєму складі 10 типів субодиноць — поліпептидних ланцюгів.

Фермент має 5'→3'-полімеразну, 3'→5'-екзонуклеазну та АТФ-азну активності. ДНК-полімераза III є високопроцесійним ферментом, що може, не залишаючи матрицю, каталізувати сполучення в ланцюг багатьох тисяч мононуклеотидів (на відміну від 15-20 нуклеотидів при дії ДНК-полімерази I). Швидкість полімеразної реакції складає близько 1000 нуклеотидів за секунду.

АТФ-азна активність є передумовою утворення комплексу холоферменту ДНК-полімерази з матрицею: спочатку АТФ взаємодіє з β-субодиноцею холоферменту, а потім активований холофермент сполучається з матричним ланцюгом ДНК, що супроводжується гідролізом АТФ.

Ферменти біосинтезу ДНК в еукаріотів

У клітинах еукаріотів знайдено декілька типів ДНК-полімераз (табл. 20.1).

Таблиця 8 – ДНК-полімерази еукаріотів

Тип	Молекулярна маса, кД	Локалізація в клітині
α	250	Ядро
β	39	Ядро
γ	200	Мітохондрії
δ	170	Ядро
ε	260	Ядро

Ферментами, що відіграють основну роль у реплікації ДНК в еукаріотів, є ДНК-полімерази α та δ , які є високопроцесійними ферментами з 5'→3'-полімеразною активністю. Полімерази β та ϵ беруть участь в репарації ядерної ДНК, а γ -полімераза відповідає за реплікацію мітохондріальної ДНК.

Вміст ферменту ДНК-полімерази α помітно зростає під час S-фази клітинного циклу, коли відбувається активний синтез ДНК. Активність ДНК-полімераз α , δ та ϵ специфічно блокується афідиколіном — дитерпеноїдом з грибів, що діє як потужний антипухлинний антибіотик.

Молекулярні механізми реплікації ДНК

Загальна схема процесу біосинтезу ДНК, що була вивчена в системі А. Корнберга, залишилася правильною до даного часу. Але, враховуючи, що молекула ДНК є подвійною спіраллю із закрученими один навколо одного антипаралельними ланцюгами, існують певні геометричні — *топологічні* складності, що виникають при реплікації молекул ДНК прокаріотів та еукаріотів.

Топологічні проблеми реплікації ДНК

1. Спіралізація та суперспіралізація подвійної спіралі ДНК. Топоізомерази.

Нативні ДНК є двоспіральними молекулами, тому реплікації материнської молекули повинно передувати її *розплетення* з утворенням *реплікативної вилки*, що складається з двох розведених матричних ланцюгів (відповідно до напівконсервативного механізму реплікації). Структурні складності цього процесу полягають також у тому, що у прокаріотів (зокрема у *E. Coli*) двоспіральні молекули ДНК є *кільцевими, зачіпленими* — тобто вони не мають вільних кінців, і їх неможливо розділити без розриву одного з ланцюгів.

Розплетення та відокремлення двох ланцюгів ДНК, що передуює синтезу дочірніх ланцюгів, реалізується при дії спеціальних типів білків:

- ферментів *топоізомераз*, які забезпечують зміну кількості супервитків у кільцевих замкнутих молекулах ДНК. Топоізомерази, і, зокрема *ДНК-гіраза* прокаріотів (*gyration* — обертання, англ.), здійснюють у зачіплених нитках ДНК розриви полінуклеотидних ланцюгів, що створює механічні передумови для їх розкручування. Топоізомерази присутні також у хроматиновому апараті еукаріотів: вони вносять дволанцюгові розриви в довгі лінійні ДНК хромосом, забезпечуючи підготовку останніх до реплікації;

- ферментів *хеліказ* (*helix* — спіраль, англ.), що в АТФ-залежному процесі розкручують, розплітають короткі ділянки ДНК, утворюючи *реплікативні вилки* (*replication fork* — англ.) — місця послідовного розплетення подвійного ланцюга та синтезу нових ниток ДНК;

- білків, що зв'язують *однониткові ДНК* (*SSB-білки* — *single strand binding proteins*, англ.), протидіючи їх повторному об'єднанню (ренатурації).

Утворення реплікативної вилки в *кільцевих* дволанцюгових молекулах ДНК *E. Coli* призводить до формування *тета-структур* (таких, що нагадують грецьку літеру “тета”), які містять реплікативну вилку, що пересувається у міру синтезу дочірніх ланцюгів ДНК:

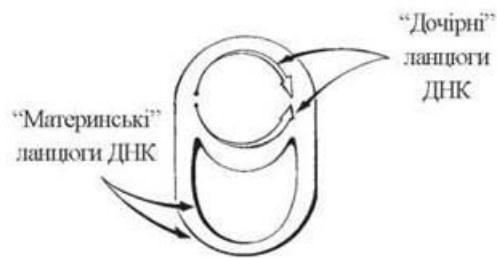


Рис. 22 – Кільцева хромосома *E. Coli* в період реплікації ДНК. Геометрична структура, що утворилася, нагадує грецьку літеру θ (“тета”) (за L. Stryer, 1995; модифіковано).

У ДНК еукаріотів, що організовані у вигляді лінійних дволанцюгових молекул у складі ядерного хроматину, утворюється водночас багато (ймовірно, від сотень до декількох тисяч) реплікативних вилок, що сприяє ефективній реплікації цілої еукаріотичної хромосоми. Одночасна реплікація ДНК в багатьох точках морфологічно виявляється утворенням упродовж хромосоми “реплікаційних бульбашок” (рис. 20.8).



Рис. 23 – Утворення реплікаційних “бульбашок” у процесі подвоєння хромосом еукаріотів (за D. Granner, 1988; модифіковано).

Ділянки геному еукаріот, де формуються реплікативні вилки, мають назву “точок огі” (origin — початок, англ.). Завдяки багатоцентровій реплікації хромосоми, повне подвоєння генетичного матеріалу клітин вищих організмів (зокрема, ссавців) займає близько 9 год.

2. Значення антипаралельності ланцюгів ДНК. Фрагменти Оказаки

У зв’язку з антипаралельністю двох ланцюгів ДНК (один — $5' \rightarrow 3'$, а другий — $3' \rightarrow 5'$), одночасна реплікація комплементарних їм ланцюгів повинна була б йти також у *протилежних напрямках* (тобто $3' \rightarrow 5'$ та $5' \rightarrow 3'$, відповідно). Але, як уже наголошувалося, ДНК-полімерази можуть синтезувати полідезоксирибонуклеотидні ланцюги лише в напрямку $5' \rightarrow 3'$. Це протиріччя було усунуте завдяки дослідженням японського вченого Реджі Оказакі (Okazaki), який встановив, що синтез одного з дочірніх ланцюгів ДНК є *перервним* і здійснюється у вигляді коротких (1-2 тис. нуклеотидів) ланцюгів, які пізніше з’єднуються між собою.



Рис. 24 – Оказакі (Okazaki) Реджі (1930-1975).

Таким чином, синтез двох дочірніх ланцюгів ДНК здійснюється за різними механізмами. Розрізняють:

лідуючий (*leading* — англ.) ланцюг — який утворюється шляхом безперервного нарощування нуклеотидного ланцюга в напрямку $5' \rightarrow 3'$;

відстаючий (*lagging* — англ.) ланцюг — який утворюється з фрагментів Оказакі, що синтезуються в ДНК-полімеразних реакціях в напрямку $5' \rightarrow 3'$.

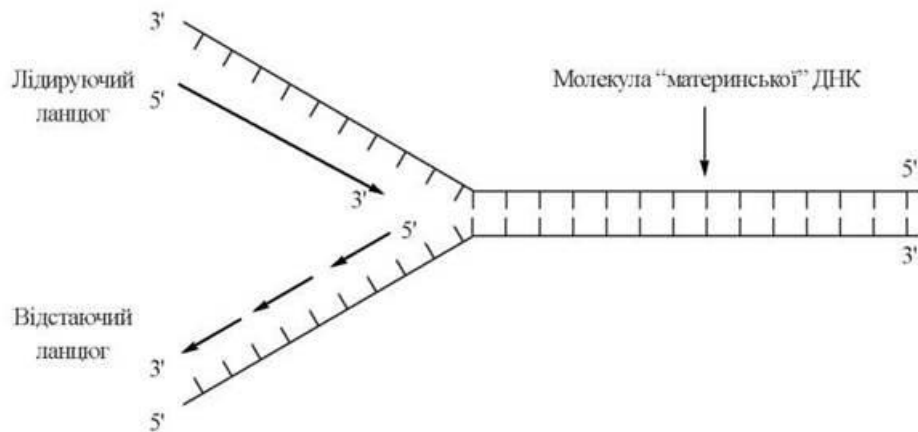


Рис. 25 –Схема подвоєння ланцюгів ДНК за Р. Оказакі.

Етапи синтезу дочірніх ланцюгів молекул ДНК

1. Ініціація синтезу полідезоксирибонуклеотидних ланцюгів ДНК, якій передують утворення “затравних” (праймерних) ланцюгів РНК (*РНК-праймерів*), до 3'-ОН-груп яких здатні приєднуватися дНМФ, що утворюють нові (дочірні) ланцюги ДНК. Довжина цих праймерних ланцюгів складає в середньому від 10 до 200 нуклеотидів. Синтез РНК-праймерів відбувається за участю ферментів РНК-полімераз — так званих *праймаз*.

2. Елонгація синтезу ДНК, яка відбувається за різними механізмами на лідуючому та відстаючому ланцюгах.

2.1. На лідуючому ланцюгу нарощування дНМФ здійснюється ДНК-полімеразою III, що функціонує безперервно, утворюючи ланцюг ДНК від РНК-праймера до реплікативної вилки.

2.2. На відстаючому ланцюгу:

а) спочатку при дії ДНК-полімерази III синтезуються окремі *фрагменти Оказакі*, кожен з яких починається з відповідного РНК-праймера і закінчується перед початком передуючого йому РНК-праймера;

б) після формування фрагментів Оказакі ДНК-полімераза I, за рахунок своєї 5'→3'-екзонуклеазної активності видаляє РНК-праймери і (за рахунок 5'→3'-полімеразної активності) заміщує їх фрагментами ДНК;

в) розриви між окремими фрагментами Оказакі зшиваються спеціальним ферментом *ДНК-лігазою*.

Зазначені етапи реплікації ДНК подані на рис. 26.

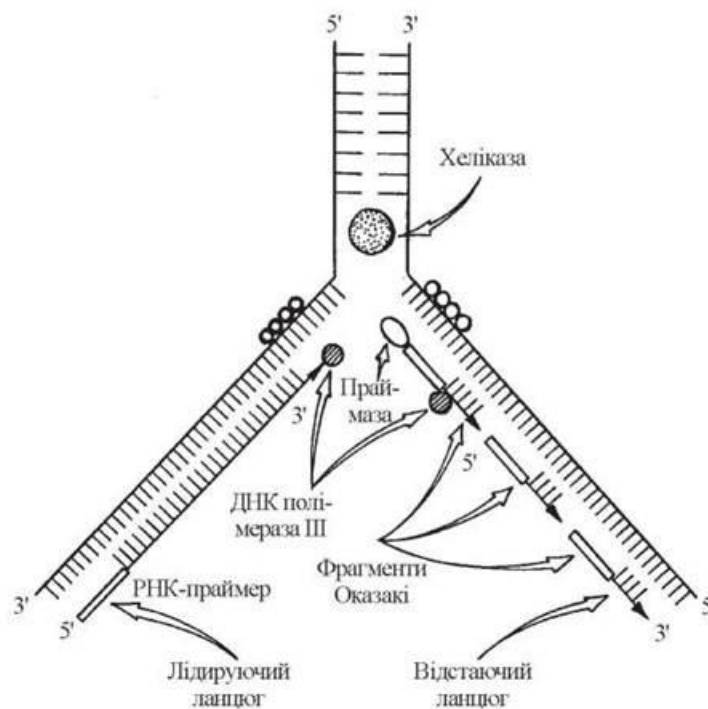


Рис. 26 – Участь ферментів в реплікації ДНК шляхом синтезу лідируючого та відстаючого ланцюгів.

Таким чином, в результаті дії комплексу реплікативних білків, зчитування інформації з двох *материнських* ланцюгів ДНК з антипаралельною спрямованістю (5'→3' та 3'→5') супроводжується утворенням двох *дочірніх* ланцюгів з відповідними антипаралельними напрямками фосфодієфірних зв'язків (3'→5' та 5'→3', відповідно). Взаємодія комплементарних одного материнського та одного дочірнього ланцюгів призводить до формування двох молекул ДНК, як це передбачено напівконсервативним механізмом реплікації.

Розглянута схема реплікації ДНК, що була первинно досліджена на прокаріотах, є справедливою також і для еукаріотичних клітин. У цьому випадку також відбувається диференційований та протилежно спрямований синтез двох дочірніх ланцюгів — лідируючого та відстаючого. Безперервний синтез полідезоксирибонуклеотиду на лідируючому ланцюгу каталізується ДНК-полімеразою δ , а перервний на відстаючому ланцюгу — полімеразою α . *Праймази* утворюють тимчасові “затравні” РНК-ланцюги, які пізніше видаляються.

Питання для самоконтролю

1. Ферменти реплікації ДНК у прокаріотів та еукаріотів
2. Біологічне значення реплікації ДНК
3. Молекулярні механізми реплікації ДНК

Лекція 15

Тема 18. Біосинтез білків у рибосомах. 18.1 Генетичний код та його властивості. 18.2

Рибосомальна білоксинтезуюча система

Для кожного живого організму властива *біохімічна індивідуальність*, що визначається генетично запрограмованим специфічним набором притаманних тільки йому білкових молекул. Разом з тим, потік інформації, який детермінує структуру індивідуальних білків організму, починається, згідно з постулатами молекулярної біології, від генетичних нуклеїнових кислот і складається з *реплікації ДНК*, *транскрипції РНК* та *трансляції*, тобто перекладу інформації з “мови нуклеотидів” на “мову амінокислот”.

Інакше кажучи, встановлення ролі ДНК як носія та зберігача генетичної інформації, ролі РНК як переносника цієї інформації до білків, що синтезуються, поставило на порядок денний проблему *генетичного (біологічного) коду*, тобто сукупності знаків, символів та системи правил, алгоритмів, згідно з якими структурна інформація, що міститься в нуклеїнових кислотах, може бути трансформованою в специфічну первинну структуру поліпептидів, яка, в свою чергу, визначає всі біологічні властивості білкових молекул.

Структура генетичного коду

Вперше гіпотезу про те, що певні сполучення з декількох різних нуклеотидів (трьох із чотирьох можливих) в молекулах ДНК відповідають одній амінокислоті в молекулах білків та пептидів, було висунуто в 1954 р. фізиком Георгієм (Джорджем) Гамовим (G.Gamow). Згідно з цією *триплетною* теорією, три послідовні нуклеотиди (*триплет*) в полінуклеотидних ланцюгах ДНК кодують включення в поліпептидний ланцюг одного специфічного амінокислотного залишку. Оскільки з 4 нуклеотидів (або азотистих основ) можна отримати 64 (4^3) різних комбінацій по 3 нуклеотиди (або азотистих основи, відповідно), був зроблений висновок про існування щонайменше 64 “кодових слів” для 20 амінокислот.

Структуру генетичного коду було розшифровано завдяки безпосереднім біохімічним та молекулярно-генетичним дослідженням, що були виконані на початку 60-х років. Оскільки переносником генетичної інформації від ДНК до білків є інформаційні (матричні) РНК, проблему розшифровки генетичного коду було зосереджено на розв’язанні кодових слів — *триплетів*, або *кодонів*, у нуклеотидних послідовностях мРНК. Найбільш визначний внесок

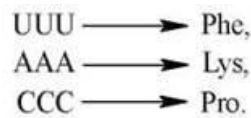
у розв'язання цієї проблеми зробив в 1961 р. американський біохімік М. Ніренберг (M. Nirenberg).

В експериментах М. Ніренберга використовувалась безклітинна система з *E. Coli*, яка містила в собі необхідні для білкового синтезу рибосоми, амінокислоти, тРНК, цитозольні ферменти та кофактори. Виявилось, що при внесенні в систему як матриці синтетичної мРНК поліуридилової кислоти відбувався синтез монотонного (такого, що складався з одного амінокислотного залишку) поліпептиду — поліфенілаланіну.



Рис. 27 – Ніренберг (Nirenberg) Маршал У. (народ. 1927 р.), американський біохімік. Зробив найзначніший внесок у розшифровку генетичного коду. Нобелівська премія (1968).

Відповідно, використання поліаденілової кислоти (полі-А) призводило до синтезу полілізину, поліцитидилової кислоти (полі-С) — поліпроліну тощо. Виходячи з уявлень про кодони як триплети нуклеотидів (або азотистих основ), зазначені експерименти означали розшифровку відповідних кодонів, а саме:



Було встановлено, що з 64 комбінацій нуклеотидів 61 кодон є змістовним, тобто таким, що визначає включення до складу білка певної амінокислоти, а 3 кодони — беззмістовними, тобто такими, що не кодують жодної з амінокислот. Ці *нонсенс-кодони* (UAA, UAG, UGA) виконують роль сигналів *термінації* трансляції (таблиця 9).

Таблиця 9. Таблиця генетичного коду

Положення азотистої основи в кодоні мРНК									
1-а	2-а								3-я
	У	Ц	А	Г					
У	УУУ	Феніл-аланін	УЦУ	Серин	УАУ	Тирозин	УГУ	Цистеїн	У
	УУЦ		УЦЦ		УАЦ		УГЦ		Ц
	УУА	Лейцин	УЦА		УАА	Стоп-кодон	УГА	Стоп-кодон	А
	УУГ		УЦГ		УАГ		УГГ	Триптофан	Г
Ц	ЦУУ	Лейцин	ЦЦУ	Пролін	ЦАУ	Гістидин	ЦГУ	Аргінін	У
	ЦУЦ		ЦЦЦ		ЦАЦ		ЦГЦ		Ц
	ЦУА		ЦЦА		ЦАА	Гліцин	ЦГА		А
	ЦУГ		ЦЦГ		ЦАГ		ЦГГ		Г
А	АУУ	Ізолей-цин	АЦУ	Треонін	ААУ	Аспара-гін	АГУ	Серин	У
	АУЦ		АЦЦ		ААЦ		АГЦ		Ц
	АУА	АЦА	ААА		Лізін	АГА	А		
	АУГ	АЦГ	ААГ			АГГ	Аргінін	Г	
Г	ГУУ	Валін	ГЦУ	Аланін	ГАУ	Аспара-гін	ГГУ	Гліцин	У
	ГУЦ		ГЦЦ		ГАЦ		ГГЦ		Ц
	ГУА		ГЦА		ГАА	Глутамін	ГГА		А
	ГУГ		ГЦГ		ГАГ		ГГГ		Г

Властивості генетичного коду:

(1) код є *універсальним* для всіх біологічних систем — вірусів, бактерій, вищих організмів;

(2) код є *однонаправленим*, тобто інформативним тільки в тому випадку, коли зчитується “зліва направо” (в напрямку 5'→3');

(3) код є *безперервним*, тобто має лінійний безперервний порядок зчитування — між кодонами немає “розділових знаків”;

(4) код є *таким, що не перекривається* — після зчитування інформації з одного триплету “рамка зчитування” переміщується вправо відразу на три нуклеотиди;

(5) код є “*виродженим*”, тобто кожна амінокислота кодується не одним, а декількома кодонами.

Рибосомальна білоксинтезуюча система

Сучасна ера у розумінні клітинних та молекулярних механізмів трансляції почалася з досліджень П. Замечніка (P. Zamesnik) та його колег, які використали C^{14} -мічені амінокислоти для з'ясування внутрішньоклітинної локалізації білкового синтезу. Було показано, що синтез радіоактивних (C^{14}) білків в печінці експериментальних щурів відбувається в *мікросомальній фракції*, а саме — в рибосомах. Включення амінокислот у поліпептидні ланцюги *in vitro* вимагало наявності матричних (інформаційних) РНК — мРНК (іРНК) та транспортних (тРНК) як переносників амінокислот у ділянки білкового синтезу (P. Zamesnik, F. Lipmann, 1960).

Компоненти білоксинтезуючої системи рибосом

Компонентами білоксинтезуючої системи, що реалізують процес трансляції в прокаріотичних та еукаріотичних клітинах, є:

рибосоми — рибонуклеопроteidні структури з константами седиментації 70s та 80s у прокаріотів та еукаріотів (відповідно), що взаємодіють у процесі трансляції з іншими компонентами системи білкового синтезу; тривимірна будова рибосом має вигляд, поданий на рис. 21.2;

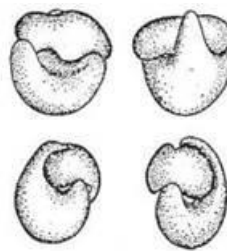


Рис. 28 – Модель будови 70S-рибосоми (вигляд з чотирьох боків).

Тривимірне зображення малої субодиниці рибосоми порівнюють з телефонною трубкою, великої — з ковшем.

мРНК (іРНК), або інший матричний полі-рибонуклеотид, що програмує послідовність включення амінокислот у поліпептидний ланцюг згідно з інформацією, яка міститься в генетичній ДНК;

α -L-амінокислоти в кількості, що відповідає амінокислотному складу повноцінних функціональних білків (звичайно, близько 20 амінокислот);

mРНК, що виконують функцію адапторів у процесі трансляції, взаємодіючи з кодонами мРНК та певними амінокислотами — близько 20 типів різних тРНК, відповідно до кількості амінокислот, що вони акцептують (рис. 29);

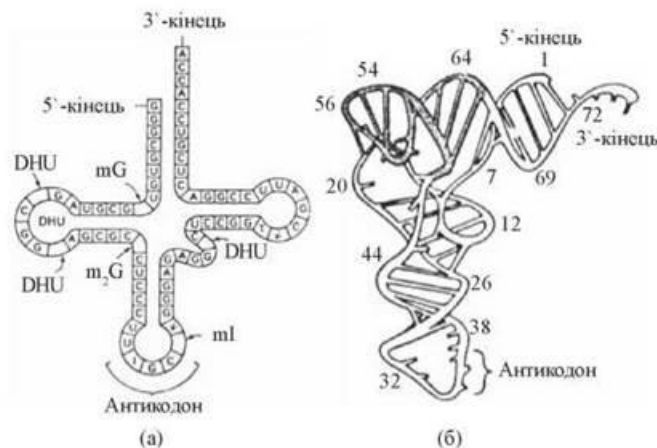


Рис. 29 – Вторинна (а) та третинна (б) структура аланінової тРНК дріжджів (DHU - дигідроуридин; mG, mI — метильовані гуанозин та інозин).

аміноацил-тРНК-синтетази (АРС-ази) — ферменти, що активують амінокислоти та сполучають амінокислотні залишки з 3'-кінцями акцепторних гілок тРНК. АРС-ази є ферментами з високою специфічністю як відносно певної амінокислоти, так і тРНК, що їй відповідає;

регуляторні білки — білкові фактори ініціації (IF), елонгації (EF) та термінації, або релізинг-фактори (RF); білкові фактори еукаріотів мають позначення eIF, eEF та eRF, відповідно;

коферменти — ГТФ, АТФ.

Рибосоми еукаріотів

У клітинах ядерних організмів рибосоми мають дещо складніші, ніж у прокаріотів, біохімічний склад та молекулярну організацію (рис. 3.10).

Рибосоми здатні до зворотної дисоціації на дві субодиниці:



В умовах *in vitro* дисоціація рибосом на субодиниці відбувається за умов зменшення концентрації іонів Mg^{2+} . У клітині існує динамічна рівновага між субодиницями та цілими рибосомами: останні утворюються переважно на період трансляції. В період трансляції певна кількість рибосом (від одиниць до декількох десятків) можуть взаємодіяти з однією молекулою мРНК, утворюючи *полірибосоми*, або *полісоми*.

В еукаріотичних клітинах рибосоми можуть функціонувати у вигляді рибосом, зв'язаних з мембранами ендоплазматичного ретикулума (“шорсткого ендоплазматичного ретикулума” — ШЕР) або вільних, не зв'язаних з мембранами ШЕР, рибосом. Співвідношення між вільними та мембранозв'язаними рибосомами змінюється при різних фізіологічних станах; в умовах патології клітин суттєво збільшується кількість рибосом, не зв'язаних з мембранами (Ю.І. Губський, 1989).

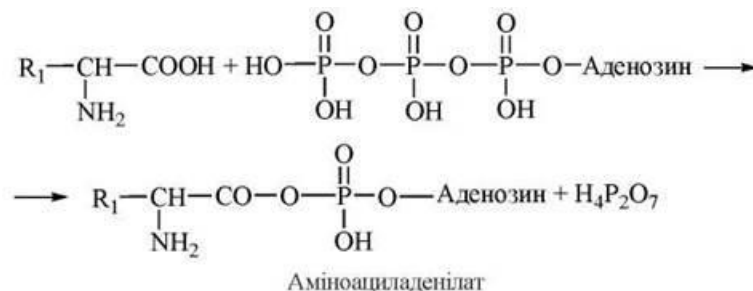
Транспортні РНК та активація амінокислот

Загальні риси будови різних тРНК були детально розглянуті вище (глава 3, п. 3.4). Для кожної з 20 α-L-амінокислот існує щонайменше один специфічний для неї тип тРНК. Разом з тим, різні молекули тРНК відзначаються схожістю у вторинній та третинній структурі, що пояснюється загальним характером біохімічної функції. Важливою структурною особливістю тРНК є наявність у складі антикодонової петлі специфічного триплету нуклеотидів — *антикодону*, який є комплементарним *кодону* мРНК і забезпечує сполучення між тРНК та мРНК (кодон-антикодонову взаємодію) під час утворення *ініціюючого комплексу*. Саме ці дві біохімічні властивості тРНК — здатність до взаємодії з певною амінокислотою, по-перше, і здатність до взаємодії із специфічним кодоном мРНК, по-друге, є молекулярною основою *адапторної функції тРНК*, тобто можливості сполучати два інформаційні потоки — “нуклеотидний” та “амінокислотний” в процесі фенотипічної експресії генетичної інформації.

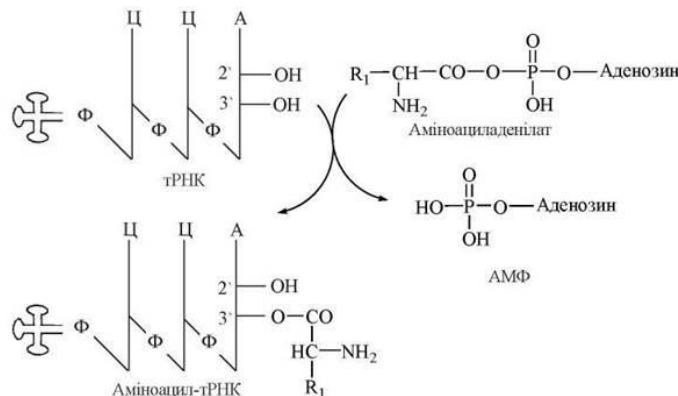
Взаємодія між тРНК та відповідною їй амінокислотою вимагає взаємного *розпізнавання (рекогніції)* цих молекул, що здійснюється лише за умов наявності спеціальних білків, які мають специфічні сайти для рекогніції як тРНК, так і α-L-амінокислоти. Цей процес розпізнавання та наступного приєднання двох біомолекул різних класів відбувається в два етапи і каталізується *аміноацил-тРНК-синтетазами*.

Схема взаємодії тРНК з амінокислотами

1. Активація амінокислоти за участю АТФ з утворенням *аміноациладенілату*:



2. Взаємодія аміноациладенілату з 3'-ОН-групою кінцевого аденозильного залишку на акцепторній гілці тРНК; утворення в результаті реакції *аміноацил-тРНК*:



Питання для самоконтролю

1. Охарактеризувати структуру генетичного коду.
2. Які властивості генетичного коду?
3. Які компоненти білоксинтезуючої системи рибосом?
4. Охарактеризуйте транспортні РНК та активація амінокислот.

5. Зобразьте схема взаємодії тРНК з амінокислотами.

Лекція 16

Тема 19.2. Регуляція експресії генів. Генетичні рекомбінації.

19.1. Регуляція експресії генів у прокариотів. 19.2. Особливості молекулярної організації та експресії геному в еукаріотів

Як свідчать дані сучасної біохімії і молекулярної біології, склад та субклітинна архітектура еукаріотичної клітини суттєво відрізняються від прокариотів: так, кількість індивідуальних білків в організмі людини перевищує 50 000, порівняно з приблизно 3 000 різних білків у *E.Coli*. Відповідно, і геном ядерних організмів є більш складною системою за своєю структурою та молекулярною організацією, порівняно з прокариотами, зокрема значна різниця існує в кількісних показниках і структурній організації ДНК.

Відповідно до особливостей структурної організації геному, контроль експресії генів у *еукаріотів* також значно складніший. Окрім механізмів, близьких до існуючих у прокариотів, в контролі генної експресії в еукаріотичних клітинах беруть участь такі специфічні молекулярні процеси, що реалізують регуляторну дію на різних рівнях генної експресії:

(1) *на рівні структурної організації геному* — регуляція здійснюється за рахунок наявності специфічних послідовностей нуклеотидів, генних перебудов (рекомбінації генів), ампліфікації генів;

(2) *на рівні транскрипції* — регуляторними механізмами є вплив сигналів посилення та послаблення транскрипції (енхансерів та атенуаторів, відповідно), постраскрипційна модифікація мРНК;

(3) *на рівні трансляції* — основним механізмом регуляції є ковалентна модифікація білкових факторів трансляції шляхом їх зворотного фосфорилування — дефосфорилування.

Молекулярна організація ДНК еукаріотів

Гаплоїдний геном кожної клітини організму *Homo sapiens* містить $3,5 \cdot 10^9$ пар азотистих основ і складається з 23 пар хромосом (рис. 22.7), що є достатнім для утворення близько 1,5 млн. пар генів. Разом з тим, реально в організмі людини синтезується не більше 100 000 різних білків, тобто більша частина ядерної ДНК, що складає геном людини, не транслюється в амінокислотну послідовність білкових молекул.



Рис. 30 – Будова 12-ї хромосоми каріотипу людини (x 27850).

Наявність (крім регуляторних і сигнальних нуклеотидних послідовностей, присутніх також у прокариотів) значної кількості ділянок, що не транскрибуються, є специфічною особливістю структури геному еукаріотичних клітин. Такі “мовчазні” фрагменти геному отримали назву *інтронів*, на відміну від *екзонів* — ділянок геному, які транскрибуються з утворенням мРНК, що несуть інформацію для синтезу специфічних клітинних білків.

Згідно з сучасними оцінками, тільки 2 % ДНК клітин ссавців містять інформацію для кодування білків організму (L. Stryer, 1995).

Послідовності ДНК, що повторюються

Вивчення нуклеотидних послідовностей ДНК вищих організмів виявило, крім унікальних за нуклеотидним складом послідовностей, розповсюдженість фрагментів, що присутні, зокрема в ДНК ссавців, у вигляді багатьох копій — від 2 до 10^7 повторів на клітину. В геномі людини повтори складають 20-30 % від його загальної довжини.

Залежно від кількості нуклеотидів і кратності їх повторення послідовності нуклеотидів, що повторюються, підрозділяються на такі класи:

(а) *високоповторні послідовності*, які є ділянками з довжиною від 5 до 500 пар нуклеотидів, розташованими один за одним (“тандемно”). Такі послідовності утворюють кластери, що містять від 1 до 10 млн. копій і складають фракцію “сагелтної ДНК”. Ці високоповторні послідовності транскрипційно неактивні, і їх функціональну роль остаточно не з’ясовано;

(б) *помірноповторні послідовності*, які мають не більше ніж 10^6 копій і не утворюють тандемних кластерів, а чергуються з унікальними нуклеотидними послідовностями (“дисперговані повтори”). Ці послідовності мають різну довжину і можуть бути як короткими, так і довгими (в 5-7 тис. пар нуклеотидів).

Короткі дисперговані повтори — це фрагменти ДНК довжиною від одиниць (декількох пар) до декількох сотень пар нуклеотидів. До цього класу належать поширені в клітинах організму людини повтори *сімейства Alu*, які мають довжину 300 пар нуклеотидів і повторюються в кількості близько 500 000 копій, складаючи в цілому 3-6 % від загального розміру геному гаплоїдної клітини. Ці повтори можуть транскрибуватися у вигляді компонентів гяРНК та індивідуальних клітинних РНК — 4,5s- і 7s-РНК.

За своєю нуклеотидною структурою повтори Alu близькі до кінцевих послідовностей ретровірусів LTR і, ймовірно, мають з ними генетичний зв'язок. Вважають, що ці послідовності є мобільними елементами геному, що здатні до *транспозиції*, тобто вирізування і вбудови в різні ділянки геному.

Ядерний хроматин еукаріотів

Як уже зазначалося, структурною особливістю просторової будови ДНК еукаріотів є її компактизація у вигляді суперспіралей, які, в комплексі з гістонами та негістоновими білками — НГБ (до їх складу входять регуляторні, структурні білки, ферменти реплікації тощо) утворюють ядерний *хроматин*, що на етапі мітозу організується у вигляді хроматинових тілець — *хромосом*.

У клітинах тварин та людини реплікація ДНК відбувається тільки в певний період клітинного циклу — S-фазу, яка відокремлена від *мітозу* (M) пресинтетичною (G_1) та постсинтетичною (G_2) фазами; фази S, G_1 та G_2 складають “інтермітотичний період” — *інтерфазу*, G_0 — період *репродуктивного спокою* (рис. 22.8). Контрольні механізми, що регулюють перехід клітини з G_1 до S-фази залишаються недостатньо з'ясованими. Разом з тим, пускові реакції, які визначають початок мітозу, і полягають в зворотному фосфорилуванні певних ядерних та цитоплазматичних білків, протягом останніх років в достатній мірі розшифровані (див. нижче).

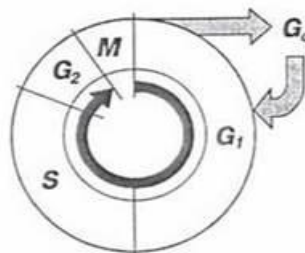


Рис. 31 – Фази клітинного циклу.

Нуклеосомна організація ядерного хроматину та біохімічні характеристики гістонів були розглянуті в главі 3. В інтерфазному ядрі хроматин диференціюється на *транскрипційно активний хроматин* (ТАХ), або “*еухроматин*” та *транскрипційно неактивний, репресований хроматин* (РХ), або “*гетерохроматин*”. Ці два типи хроматину розрізняють за біохімічними та морфологічними (електронно-мікроскопічними) характеристиками: ТАХ менш щільно компактизований, ніж РХ, його нуклеосомна структура змінена, а в транскрипційно найбільш активних регіонах взагалі відсутня.

Ковалентна модифікація гістонів та НГБ

Гістони та НГБ, що входять до складу нуклеосом хроматину, підлягають процесам посттрансляційної ковалентної модифікації, яка змінює їх хімічні властивості, зокрема здатність до взаємодії з певними ділянками ДНК, і може бути одним з біохімічних механізмів контролю ступеня експресії певних генів.

До реакцій ковалентної модифікації білків ядерного хроматину належать їх ацетилювання, фосфорилування, метилювання, глікозилювання, АДФ-рибозилювання. Негістонові білки підлягають постсинтетичним модифікаціям в значно більшому ступені, ніж гістони. Відповідні радикали (ацетильні, фосфорильні, метильні, глікозильні, АДФ-рибозильні) сполучаються з боковими ланцюгами амінокислотних залишків в поліпептидних ланцюгах гістонів та НГБ.

Слід визнати, що регуляторне значення в реалізації конкретних молекулярно-генетичних процесів точно не встановлене ні для одного із зазначених шляхів ковалентної модифікації ядерних білків. Певні функціональні кореляції з активністю геному виявлені лише для реакцій ацетилювання та фосфорилування.

Ацетилювання гістонів - процес, що починається вже в цитоплазмі (ацетилювання N-кінцевого серину гістону H4) і завершується в ядрі, де ацетилюються переважно бокові радикали лізинових залишків, що призводить до зменшення позитивного заряду гістонів і розрихлення комплексів гістон-ДНК у складі нуклеосом. Ацетилювання передуює активації геному і зростанню швидкості транскрипції.

Фосфорилування - дефосфорилування білків хроматину (гідроксильних груп залишків серину та треоніну) — клас реакцій, що відбуваються як у цитоплазмі (безпосередньо після їх трансляції), так і в ядрі. Встановлено, що протягом різних фаз клітинного циклу зворотно фосфорилуються як гістони (H1, H3), так і окремі НГБ, проте для індивідуальних білків ці закономірності можуть бути різними.

Генетичні рекомбінації

Важливе місце в організації геному різних клітин посідають генні перебудови (реаранжування — rearrangements, англ.), або *генетичні рекомбінації* (*рекомбінації генів*), під якими розуміють обмін фрагментами ДНК між різними генами або об'єднання генів з різних біологічних джерел з утворенням нових хромосомних структур, здатних до реплікації і генетичної експресії (транскрипції та трансляції).

Генетичні рекомбінації мають місце в біологічних системах різного ступеня складності — від вірусів і бактеріофагів до вищих еукаріотичних організмів. Перебудови структури генів є рушійною силою мінливості і мають велике значення як у формуванні біохімічної індивідуальності на рівні окремих особин в межах біологічного виду, так і в утворенні видів у процесі еволюції.

Молекулярні механізми генетичних рекомбінацій складні і суттєво відрізняються у різних організмів та при різних типах рекомбінацій. Вони включають у себе ферментативні процеси “розрізання” молекул реципієнтних ДНК (за участю специфічних ДНК-аз) та включення в молекулу ДНК чужорідних полінуклеотидних фрагментів з іншої хромосоми, або з іншого локусу тієї ж хромосоми — так званих транспозонів (transpose — переміщати, англ.). Здатність *транспозонів* бути вбудованими в молекули інших ДНК залежить від присутності на кінцях транспозонів особливих нуклеотидних фрагментів — так званих *інсерційних*

послідовностей (*insert* — вставляти, включати, англ.); наступне зшивання фрагментів ДНК-лігазами завершує процес перенесення гена (рис. 32).

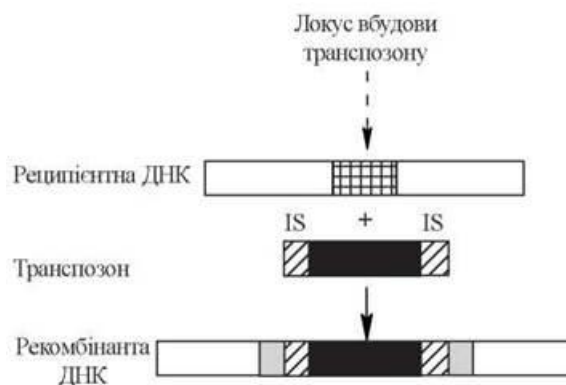


Рис. 32 – Вбудова транспозону в реципієнтну ДНК. На обох кінцях транспозону розміщені інсерційні послідовності (IS-елементи).

Рекомбінації у прокаріотів

Рекомбінації є поширеним процесом у прокаріотичних організмів, завдяки якому клітини останніх включають до складу свого геному фрагменти ДНК (генетичні елементи) з інших клітин. До генетичних рекомбінацій у прокаріотів належать:

а) *трансформація* — процес включення в геном реципієнтного мікроорганізму ДНК з донорної загиблої клітини того ж виду;

б) *трансдукція* — перенос бактеріофагом фрагмента ДНК інфікованої клітини в склад геному іншого реципієнтного мікроорганізму;

в) *кон'югація* — процес статевого розмноження, що має місце у деяких видів бактерій і полягає в перенесенні фрагмента ДНК з донорної (F^+) до реципієнтної (F^-) клітини.

Рекомбінації в еукаріотів

У вищих організмів генетичні рекомбінації є важливим елементом утворення гаплоїдних яйцеклітин та сперматозоїдів в процесі *мейозу*. Перед вступом клітин до редукційного поділу гомологічні хромосоми обмінюються ділянками ДНК (*кросингвер*), що є молекулярно-генетичним механізмом надбання нащадками властивостей обох батьківських особин.

Рекомбінації генів імуноглобулінів

У зрілих особин процеси переміщення (*транслокації, транспозиції*) окремих генів або груп генів в інше місце геному (в межах тієї ж хромосоми або в іншу хромосому) мають місце в генах В-лімфоцитів, що кодують утворення імуноглобулінів. Ці генетичні рекомбінації є механізмом, завдяки якому в організмі людини та тварин забезпечується синтез мільйонів різних антитіл у відповідь на проникнення в організм чужорідних антигенів (глава 30).

Імуноглобуліни є білками тетрамерної будови, що складаються з чотирьох поліпептидних ланцюгів: двох Н- (“важких”) ланцюгів та двох L- (“легких”) ланцюгів, які є попарно однаковими. Розрізняють п'ять типів Н-ланцюгів (α — альфа, γ — гамма, μ — мю, δ — дельта, ϵ — епсилон) та два типи L-ланцюгів (κ — каппа та λ — лямбда). Залежно від типу легкого та

важкого ланцюгів, розрізняють п'ять класів імуноглобулінів (IgG, IgA, IgM, IgD та IgE), у складі кожного з яких певний тип Н-ланцюга сполучається з одним із двох типів L-ланцюга.

У свою чергу, в кожному з Н- та L-ланцюгів молекул імуноглобулінів можна виділити окремі структурні домени: константні (С-) ділянки, що розміщуються з С-кінців Н- та L-ланцюгів і характеризуються сталістю амінокислотного складу в різних класів імуноглобулінів та варіабельні (V-) ділянки, що розміщуються з N-кінців Н- та L-ланцюгів, і характеризуються мінливістю амінокислотного складу, утворюючи конформації, комплементарні детермінантним групам антигенів, тобто забезпечуючи їх зв'язування з антитілами.

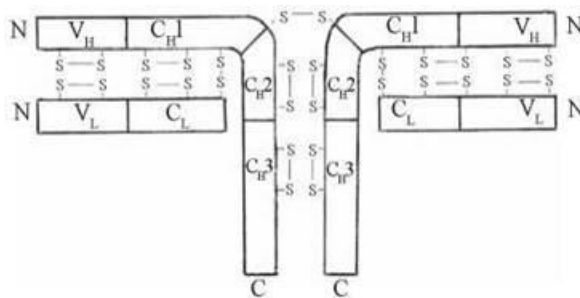


Рис. 33 – Схема будови молекули імуноглобуліну

Саме завдяки наявності на кінцях L- та Н-ланцюгів імуноглобулінів варіабельних ділянок забезпечується можливість синтезу надзвичайно великої кількості індивідуальних імуноглобулінів (антитіл) відповідно до надходження чужорідних білкових молекул. У свою чергу, синтез такої значної кількості молекул з різною первинною структурою визначається множинними рекомбінаціями генів, що кодують окремі частини молекул імуноглобулінів.

Розглянемо основні закономірності генетичних рекомбінацій, що існують при формуванні в зрілих лімфоцитах генів, які кодують синтез L- та Н-ланцюгів імуноглобулінів.

L-ланцюги — синтез легких ланцюгів відбувається за рахунок експресії трьох сімейств генів, що утворюють варіабельний (V_L), з'єднувальний (J_L) та константний (C_L) сегменти; до того ж, зазначені три сімейства, що кодують синтез легких ланцюгів типу каппа, локалізовані в 2-й хромосомі, ланцюгів типу лямбда — в 22-й хромосомі.

У гаплоїдному хромосомному наборі міститься близько 500 генів сімейства V_L , 56 генів типу J_L та 10-20 генів типу C_L . Ці генні сімейства локалізовані на відстані одне від одного в різних ділянках хромосом (2-ї та 22-ї, відповідно) і зближуються між собою в період утворення зрілого В-лімфоцита за рахунок перебудови (rearrangement) ДНК і транслокації гена типу V_L з дистальної ділянки хромосоми ближче до J_L - та C_L -сегментів. За рахунок такої перебудови утворюється єдиний генний локус, що має будову $V_{L(i)}J_{L(i)}C_{L(i)}$ і транскрибується у вигляді єдиної поліцистронної мРНК-попередника (первинного транскрипту), який після відповідного процесингу утворює зрілу мРНК для легкого ланцюга імуноглобулінів.

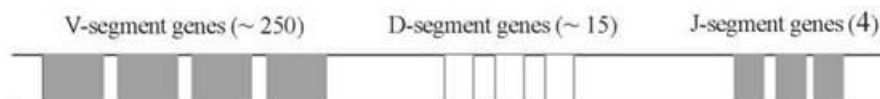
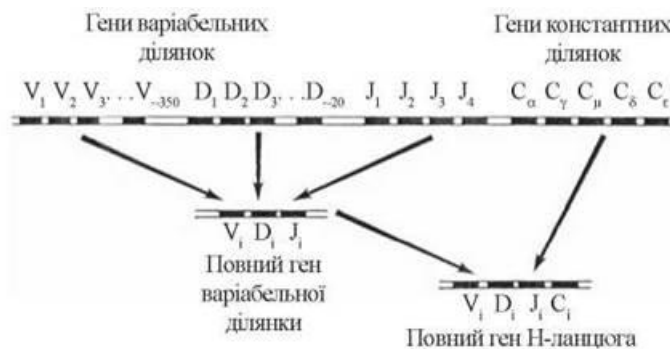


Рис. 34 – Генні сімейства, що утворюють Н-ланцюги імуноглобулінів (Stryer L., 1995).

H-ланцюги — синтез важких ланцюгів імуноглобулінів кодується генами чотирьох сімейств, що утворюють V_H -, D -, J_H - та C_H -сегменти у складі 14-ї хромосоми:



Генетичний локус, що кодує варіабельну ділянку важкого ланцюга, формується за рахунок зближення генів із сімейств V_H (250-350 генів), D (15-20 генів) та J_H (4 гени). Генна детермінація синтезу цілісного важкого ланцюга відбувається за рахунок взаємодії локусу будови $V_{H(i)}D_{(i)}J_{H(i)}$ (що кодує варіабельну ділянку) з одним з восьми генів сімейства C_H (що кодує константну ділянку).

Синтез лімфоцитами імуноглобулінів певних класів (G, A, M, D, E), що розрізняються за типом будови важкого ланцюга, забезпечується за рахунок функціонування механізму “переключення класів важких імуноглобулінів”, який здійснюється шляхом фіксації в структурі геному певного з обраних V_H -генів з певним C_H -геном. Такі генні перебудови і лежать в основі синтезу важких ланцюгів імуноглобулінів під час диференціювання ембріональних лімфоцитів (А.Я. Николаев, 1998).

Таким чином, завдяки можливостям утворення різних сполучень трьох генів сімейств V_L , J_L та C_L при синтезі легких ланцюгів та чотирьох генів сімейств V_H , D , J_H , та C_H при синтезі важких ланцюгів, в імунній системі формуються клони лімфоцитів з різноманітною бібліотекою генів, які забезпечують експресію величезної кількості імуноглобулінів (до 10^7 - 10^8) з різною антигенною специфічністю та функціональними властивостями.

Ампліфікація генів

Ампліфікація генів — процес збільшення кількості копій відповідних генів.

Молекулярною основою ампліфікації є багаторазова (“вибухоподібна”) ініціація синтезу ДНК (реплікації) в тому ж самому реплікаційному сайті (рис. 35).

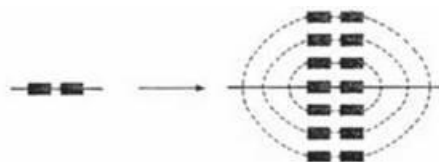


Рис. 35 – Схема процесу ампліфікації генів.

Прикладами ампліфікації генів вищих організмів є:

- ампліфікація генів *металотіонеїну* — білка, що зв’язує токсичні для організмів ссавців іони важких металів, зокрема ртуті, міді, цинку та кадмію. При надходженні в організм

значених іонів відбувається збільшення частоти транскрипції металотіонеїнового гена в десятки разів, що є фізіологічним механізмом детоксикації важких металів;

- ампліфікація гена *дигідрофолатредуктази* — ферменту, що перетворює фолієву кислоту до її коферментних форм — дигідрофолатів, які є коферментами в синтезі пуринів та тиміну.

Ампліфікація гена дигідрофолатредуктази і збільшення в сотні разів рівня синтезу ферменту спостерігаються в умовах введення в організм онкологічних хворих препарату *метотрексату*. В основі антипухлинної дії метотрексату лежить інгібування активності дигідрофолатредуктази, що призводить до порушення синтезу нуклеїнових кислот у клітинах злоякісних пухлин. Результатом такого активованого синтезу ферменту внаслідок ампліфікації гена є втрата чутливості клітин-мішеней до протипухлинного лікарського засобу.

Ланцюгова полімеразна реакція

Явище ампліфікації генів набуло важливого практичного застосування в методі *ланцюгової полімеразної реакції (ЛПР)*, що був запропонований в 1983 р. американським дослідником К. Мюллісом (К. Mullis), і дістав поширення в сучасних біомедичних дослідженнях.

Метод ЛПР дозволяє отримати в чистому вигляді і в значній кількості (достатній для проведення досліджень) певні фрагменти (послідовності) ДНК складного геному людини та ідентифікувати їх за нуклеотидним складом. Принцип методу полягає в застосуванні РНК-праймерів, специфічних до певних ділянок ДНК, що аналізується, та подальшому використанні ДНК-полімерази, яка здатна реплікувати нуклеотидні послідовності в обох комплементарних ланцюгах, утворюючи значну кількість копій саме досліджуваного полінуклеотидного фрагмента. Ампліфіковані фрагменти ДНК виділяють з реакційного середовища і досліджують за допомогою існуючих біохімічних методів.

За допомогою ЛПР здійснюється так звана “ДНК-діагностика”, тобто аналіз певних послідовностей ДНК в клітинах людини, що має першорядне значення в діагностиці спадкових хвороб, виявленні присутності в організмі людини певних вірусів (в тому числі ВІЛ), ідентифікації особистості. Так, зокрема, саме за цим методом був здійснений судово-медичний аналіз залишків царської сім’ї та ідентифіковані залишки тіла російського царя Миколи II.

Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні транскрипції

Гени вищих організмів мають розвинену систему сигналів регуляції транскрипції, які не лише вказують на місце початку синтезу РНК, а й регулюють його активність. До складу системи транскрипційних сигналів у еукаріотів входять:

- промотори, специфічні для різних РНК-полімераз, але такі, що мають спільну нуклеотидну послідовність (ТАТА...), яка гомологічна блоку Прибнова у прокариотів; з цим нуклеотидним блоком взаємодіє РНК-полімераза II;

- специфічні послідовності матричної ДНК, які підсилюють або послаблюють рівень експресії структурних генів, впливаючи на активність транскрипції, тобто на кількість молекул

мРНК, що синтезуються, та швидкість їх утворення — “енхансерні” (підсилювальні), “аттенюаторні” (послаблювальні), “сайленсерні” (заглушувальні), “адапторні” елементи геному.

Енхансери

Найбільш вивченими на даний час є активуючі елементи системи регуляції транскрипції — позитивні регулятори *енхансери* (*enhancers* — *посилювачі*, англ.). Енхансери — це ділянки ДНК, які можуть складатися з нуклеотидних послідовностей (довжиною в декілька десятків пар азотистих основ — “модулей”, або “мотивів” — *motifs*, англ.), що тандемно повторюються.

Енхансери збільшують ефективність транскрипції генів, на які вони впливають, в десятки і сотні разів. Встановлені нуклеотидні послідовності енхансерів для багатьох ферментних білків (хімотрипсину, алкогольдегідрогенази тощо), гормонів (інсуліну, плацентарного лактогену людини), імуноглобулінів.

Енхансери здатні впливати на активність відповідних генів навіть за умов віддаленості від їх промоторів на декілька тисяч азотистих основ. Активуюча дія енхансерів опосередкована регуляторними білками (див. нижче), що взаємодіють з ними і можуть впливати на траскрипцію віддалених ділянок ДНК. Разом з тим, при взаємодії з певними білковими факторами деякі енхансери можуть отримувати якості негативних регуляторів — *сайленсерів* (*заглушувачів* — англ.), що гальмують експресію відповідних генів.

- численні регуляторні білки, що є компонентами системи транскрипційних сигналів, контролюючи активність синтезу мРНК різних класів. На даний час виділені білки, що здатні до специфічної дії з певними енхансерами. Ці білки можуть взаємодіяти з регуляторними послідовностями ДНК, що розташовані на відстані в декілька тисяч азотистих основ від сайтів взаємодії з РНК-полімеразою та ініціації транскрипції. Вважають, що такий дистантний вплив регуляторних білків реалізується за рахунок змін у просторовій конформації ланцюгів ДНК і утворення внутрішніх петель, що зближають регуляторні елементи геному з ділянками, які транскрибуються.

В адаптації організму вищих тварин до умов середовища, що змінюються, важливу участь беруть стероїдні гормони кори наднирникових залоз. Встановлено, що дія цих фізіологічно активних сполук опосередкована специфічними білками — рецепторами, які в комплексі з гормонами взаємодіють з певними енхансерними ділянками геному, активуючи транскрипцію ДНК з певних генів.

Регуляція експресії генів еукаріотів на рівні трансляції

Механізмом регуляції біосинтезу білка на рівні трансляції є ковалентна модифікація білкових факторів трансляції шляхом зворотного фосфорилування — дефосфорилування за участю цАМФ-залежного регуляторного каскаду клітини.

Контроль трансляції шляхом фосфорилування (інактивації) та дефосфорилування (активації) фактора ініціації трансляції eIF-2 (на прикладі регуляції синтезу гемоглобіну) був розглянутий в главі 21.

Реплікація ДНК у еукаріотів відбувається протягом S-фази клітинного циклу, а мітоз, тобто розподіл подвоєного хромосомного матеріалу між дочірніми клітинами, починається тільки після підготовчої G₂-фази. Вступу в M-фазу передують складна перебудова клітинної архітектури, що полягає в конденсації хроматину, розщепленні ядерної мембрани, реорганізації цитоскелета з формуванням мітотичного веретена тощо.

Ключовою подією в переході клітини до M-фази є активація специфічної протеїнкінази (*cdc*-білка), яка, після взаємодії з білком цикліном утворює каталітично активний комплекс, що фосфорилує численні клітинні білки, необхідні для реалізації мітотичного процесу.

Послідовність біохімічних реакцій включення мітозу є такою:

1. Утворення комплексу кінази *cdc2* з цикліном.

Cdc2-кіназа — фермент з м.м. 34 кД; назва походить від гена, що кодує цей білок — *cell-division-cycle gene* (ген клітинного поділу — англ.).

Циклін — білок з м.м. 45 кД, концентрація якого поступово зростає протягом інтерфази і різко падає в кінці мітозу.

2. Фосфорилування *cdc2*-кінази, що знаходиться в комплексі з цикліном; фосфорилування відбувається за залишками Tyr-15 та Thr-161 ферменту. Двічі фосфорильована кіназа є неактивною, але готовою до включення своєї каталітичної активності.

3. Дефосфорилування в молекулі *cdc2*-кінази залишку Tyr-15 з утворенням молекулярної форми ферменту, що фосфорильована тільки за Thr-161 і є каталітично активною.

Це дефосфорилування спричиняється специфічною протеїнофосфатазою (білком *cdc25*) і є пусковою реакцією у всьому каскаді біохімічних реакцій, що реалізують перехід клітини до M-фази. Активація *cdc25*-фосфатази починається після завершення синтезу ДНК і відбувається протягом усього часу підготовки клітини до мітозу.

4. Каталітично активна *cdc2*-кіназа спричиняє фосфорилування клітинних білків, які беруть участь у запуску мітотичної фази: ламінінів ядерної мембрани, що призводить до її розщеплення; білків мікротрубочок, що формують мітотичне веретено; H1-гістонів, фосфорилування яких веде до конденсації ядерного хроматину.

Викликає значний інтерес, що *cdc2*-кіназа включає ферментативний механізм, який призводить до обмеження її власної каталітичної активності і, як наслідок, виключення мітозу.

Обмеження активності *cdc2*-кінази досягається за рахунок розщеплення зв'язаного з нею цикліну. монофосфорильована (за Thr-161) *cdc2*-кіназа” є субстратом для взаємодії з убіквітином (*ubiquitin* — англ.) — низькомолекулярним (8,5 кД) протеїном, що є універсальним лігандом для “мічення” білків, які підлягають подальшій деструкції під дією протеаз. Сполучення убіквітину з комплексом “циклін-*cdc2*-кіназа” призводить до обмеженого протеолізу цикліну і припинення клітинних реакцій, що реалізують процес мітозу.

Реакції біохімічного циклу, який контролює вступ еукаріотичної клітини у фазу мітозу, подані на схемі (рис. 36).

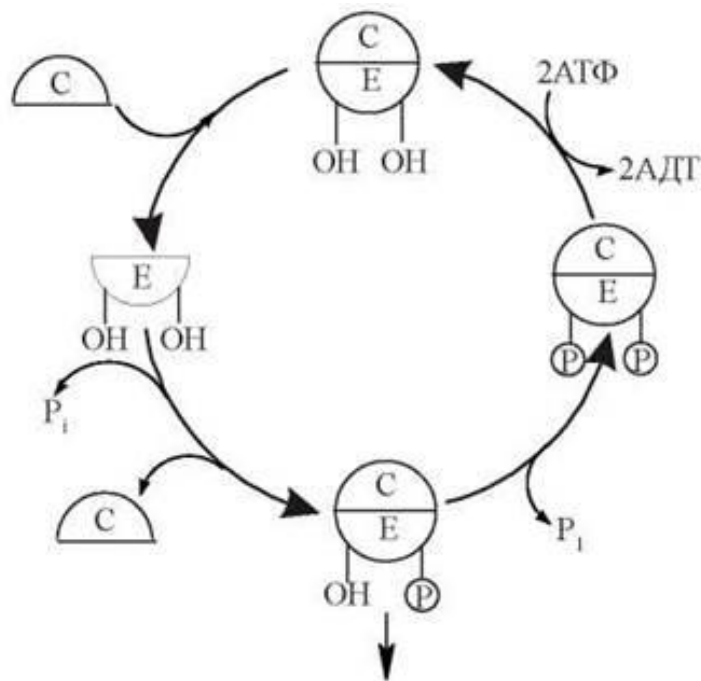


Рис. 36 – Схема активації білків ініціації мітозу комплексом cdc-2-кінази (E) з цикліном (C).

Питання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте будову 12-ї хромосоми каріотипу людини.
2. Охарактеризуйте ядерний хроматин еукаріотів.
3. Яка це ковалентна модифікація гістонів та НГБ?
4. Функції генетичної рекомбінації?
5. Як відбувається рекомбінації у прокаріотів?
6. Як відбувається рекомбінації в еукаріотів?
7. Що таке ампліфікація генів?
8. Як проходить ланцюгова полімеразна реакція?
9. Що таке регуляція експресії генів еукаріотів на рівні трансляції?

Лекція 17

Розділ V. Гормони в системі міжклітинної інтеграції функцій організму. Тема 20. Гормональна регуляція метаболізму та біологічних функцій клітини. Біохімічні системи внутрішньоклітинної трансдукції горманальних сигналів. 20.1 Гормони та біорегулятори: визначення, класифікація.

Визначальною особливістю багатоклітинних організмів є диференціація клітин з утворенням тканинних структур та органів, що виконують спеціалізовані фізіологічні функції, які забезпечують виживання цілісної особини. Координація клітинних та тканинних реакцій на зміни умов внутрішнього та зовнішнього середовища забезпечується механізмами

міжклітинних комунікацій. У процесі еволюції вищих тваринних організмів було сформовано дві фізіолого-біохімічні системи, що забезпечують зв'язок та координацію між окремими клітинними угрупованнями: *нервовасистема*, що функціонує шляхом електрохімічного проведення сигналів, та *ендокринна*, дія якої реалізується за рахунок секреції і транспортування специфічних гуморальних факторів дистантної дії — *гормонів*.

Гормони та біорегулятори: визначення, класифікація

Гормони — фізіологічно активні сполуки (ФАС), біорегулятори, що продукуються залозами внутрішньої секреції (ендокринними залозами) або іншими спеціалізованими клітинами і діють як регулятори метаболічних процесів та фізіологічних функцій в організмі. Біологічні ефекти гормонів здійснюються в надзвичайно низьких концентраціях — 10^{-11} - 10^{-6} моль/л.

Вперше термін *гормон* (*hormao* — збуджую, стимулюю, грецьк.) був запропонований у 1905 р. Е. Старлінгом для позначення секретину — гуморального фактора, що продукується дванадцятипалою кишкою і збуджує екзокринну секрецію підшлункової залози. В подальшому термін був поширений стосовно фізіологічно активних сполук, які виробляються в спеціалізованих залозах внутрішньої секреції.



Рис. 37 – Старлінг (Starling) Ернест Г. (1866-1927), англійський фізіолог, біохімік. Професор фізіології Лондонського ун-ту. Один із засновників вчення про гормони.

Класи гормонів та інших біорегуляторів

Гормони, що синтезуються в ендокринних залозах (“справжні”, істинні гормони), секретуються в кров’яне русло і після перенесення спеціалізованими транспортними білками здійснюють свої біологічні ефекти, як правило, на відстані, тобто діють на віддалений чутливий орган або органи.

До “справжніх” гормонів належать:

- гормони гіпоталамуса та гіпофіза;
- гормони щитовидної залози;
- гормони паращитовидної залози;
- гормони ендокринних клітин підшлункової залози;
- гормони коркової частини наднирникових залоз;
- гормони чоловічих та жіночих статевих залоз;
- гормони епіфіза.

Близькі за біологічними функціями до гормонів фізіологічно активні сполуки, що є гуморальними регуляторними факторами неендокринного походження. Ці біорегулятори виробляються не в ендокринних залозах, а в спеціалізованих клітинах, які містяться в інших тканинних елементах, зокрема, в лімфоїдній системі, лейкоцитах, сполучній тканині, шлунку, кишечнику, нервовій системі, нирках, міокарді тощо, і мають назву *гормоноподібних сполук (гормоноїдів)*, або *тканинних гормонів (гістогормонів)*. На відміну від “справжніх” гормонів, що характеризуються дистантністю дії, гістогормони можуть справляти свій регулювальний вплив на чутливі до них клітини-мішені на місці свого утворення (“ізокринна”, місцева дія).

Загальною рисою у *біорегуляторів* різного походження є їх інформаційна функція, спрямована на контроль, регуляцію, модуляцію метаболічних і фізіологічних функцій чутливих біоструктур (*інформони, інформофери*).

Найбільш вивченими на даний час є такі класи біорегуляторів:

- гормони (“справжні” гормони);
- нейромедіатори та опіоїдні пептиди;
- фізіологічно активні ейкозаноїди;
- гормони та медіатори імунної системи;
- пептидні фактори росту (цитомедіани, інтермедіани);
- гастроінтестинальні гормони;
- пептиди кінінової системи;
- натрійуретичні пептиди серця та мозку.

Хімічна структура гормонів

За хімічною будовою всі гормони поділяють на такі класи:

1) *білково-пептидні гормони* (прості білки; глікопротеїни; пептиди): гіпоталамо-гіпофізарні гормони; гормони парашитовидної залози; гормони острівкової частини підшлункової залози; гастроінтестинальні гормони; нейропептиди; численні тканинні біорегулятори пептидної природи;

2) *гормони* — похідні амінокислот: гормони щитовидної залози; гормоноїди мозкової частини наднирникових залоз (катехоламіни); інші нейромедіатори з властивостями гістогормонів (серотонін, дофамін, гістамін); гормон епіфіза — мелатонін;

3) *гормони стероїдної природи*: глюкокортикоїди та мінералокортикоїди кори наднирникових залоз; чоловічі та жіночі статеві гормони; похідні вітаміну D;

4) *біорегулятори* — похідні арахідонової кислоти (ейкозаноїди): простагландини, простацикліни, тромбоксани, лейкотрієни.

Синтез гормонів здійснюється в спеціалізованих клітинах (“справжніх” гормонів — у залозах внутрішньої секреції). Багато гормонів продукуються первісно у вигляді біологічних попередників — *препрогормонів* та *прогормонів*, які поступово трансформуються в біологічно активний гормон. У разі білково-пептидних гормонів така активація здійснюється шляхом

посттрансляційної модифікації (*процесингу*) за механізмом обмеженого протеолізу первинних продуктів рибосомальної трансляції.

Мішені гормональної дії

Реалізація фізіологічного ефекту гормонів та інших біорегуляторів здійснюється в клітинах-(тканинах-, органах-)-мішенях.

Мішені (клітини, тканини, органи), або гормонокомпетентні структури — чутливі до гормону біоструктури, які вибірково відповідають на взаємодію з гормоном специфічною фізіологічною та біохімічною реакцією; відповідно до ступеня впливу гормону на їх біологічні властивості, виділяють *гормонозалежні* та *гормоночутливі* клітини (рис. 38).

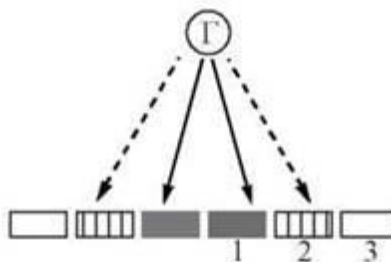


Рис. 38 – Типи реакцій клітин на дію гормонів (В.Б. Розен, 1984): 1 — гормонозалежні клітини-мішені; 2 — гормоночутливі клітини-мішені; 3 — клітини-немішені.

Прикладами гормонозалежних структур є тканини периферійних ендокринних залоз (щитовидної, кори наднирникових залоз) відносно дії тропних гормонів гіпофіза (ТТГ та АКТГ, відповідно) або клітини чоловічої та жіночої статеві сфери стосовно присутності та ефектів відповідних статевих гормонів. Гормоночутливими є клітини органів, що реагують на дію інсуліну, який контролює в них обмін глюкози, ліпідів та амінокислот (клітини м'язів, жирової тканини, лімфоїдної системи).

Здатність клітин-(тканин-)-*мішеней* специфічним чином реагувати на певний гормон визначається наявністю рецепторних молекул, що сполучаються з гормоном або хімічно близькими до нього сполуками. З іншого боку, взаємодія з рецептором відбувається за рахунок певного домену молекули гормону — “активного центру”, що за молекулярною будовою, конформацією є комплементарним відповідному сайту рецептора.

Питання для самоконтролю

1. Які класи гормонів та інших біорегуляторів вам відомі?
2. Назвіть найбільш вивчені на даний час класи біорегуляторів.
3. Охарактеризуйте мішені гормональної дії.

Лекція 18

23.2 Молекулярно-клітинні механізми дії пептидних гормонів та біогенних амінів

Гормони здійснюють свої ефекти відносно контролю метаболічних процесів у клітинах-мішенях шляхом комплексування із специфічними *рецепторами* — білковими молекулами, які взаємодіють з біорегулятором з утворенням ліганд-рецепторних комплексів і здійснюють трансформацію хімічного гормонального сигналу у відповідну, генетично запрограмовану для даного типу клітин, реакцію ефекторних систем.

Залежно від клітинної локалізації рецептора, характеру його взаємодії з гормоном та механізмами реалізації гормонального сигналу, всі гормони поділяють на дві великі групи:

1. Гормони, що не проникають всередину клітин і взаємодіють зі своїми рецепторами, локалізованими в плазматичних мембранах клітини; до цієї групи належить більшість гормонів білково-пептидної природи та похідні амінокислот.

2. Гормони, які для реалізації своєї специфічної дії проникають всередину клітин, де вони взаємодіють з внутрішньоклітинними цитозольними (в деяких випадках — ядерними) рецепторами; до цієї групи належать ліпофільні стероїди, а також тиреоїдні гормони.

Гормони першої групи здійснюють трансформацію регуляторного сигналу в специфічну функціональну активність клітини-мішені за рахунок таких молекулярних подій (рис. 23.3):

- 1) взаємодії гормону на поверхні плазматичної мембрани з білковим *рецептором*;
- 2) передачі хімічного сигналу з рецептора, модифікованого за рахунок взаємодії з лігандом (гормоном, іншим біорегулятором), через трансформуючі *білки-трансдуктори* (*G-білки*) на внутрішньоклітинні сигнальні системи;



Рис. 39 – Послідовність трансформації гормонального (біорегуляторного) сигналу в реакцію ефекторних систем клітини через внутрішньоклітинні сигнальні системи.

3) утворення (або вивільнення) внутрішньоклітинних сигнальних молекул — *вторинних посередників* (циклічних нуклеотидів цАМФ, цГМФ, фосфоінозитидів, іонів Ca^{2+});

4) взаємодії вторинних посередників з ферментними білками клітини з включенням (як правило, через активацію специфічних *протеїнкіназ*) *ефекторних систем клітини*, тобто послідовних стадій розвитку клітинної біохімічної реакції на гормональний стимул.

Рецептори білково-пептидних гормонів та нейромедіаторів

Рецептори для фізіологічно активних сполук — гормонів та інших біорегуляторів — поділяють на два класи, що розрізняються за своєю молекулярною організацією та послідовністю біохімічних реакцій, які включаються після взаємодії ФАС із специфічними рецепторними білками:

1) *рецептори I класу — іонотропні рецептори* — такі, що в результаті взаємодії з ФАС спричиняють відкриття іонних каналів на плазматичній мембрані і генерують розвиток надзвичайно швидких (мілісекундних) іонних струмів (Ca^{2+} , N^+ , K^+ , Cl^-). Фізіологічними лігандами для іонотропних рецепторів є нейротрансмітери (ацетилхолін, адреналін, медіаторні амінокислоти тощо), що локалізовані в синапсах нейронів і в нервово-м'язових пластинках.

2) *рецептори II класу — metabotropні рецептори* — такі, що після взаємодії з ФАС призводять до активації біохімічних ефекторних систем клітини через трансдукуючий G-білок. Реакція ефекторних систем клітини на дію сполук, що взаємодіють з metabotropними рецепторами, є більш повільною і розвивається протягом декількох секунд. Фізіологічними лігандами metabotropних рецепторів є гормони й інші біорегулятори білково-пептидної природи та біогенні аміни — похідні амінокислот (адреналін, дофамін, серотонін, гістамін); до metabotropних належать також *m-холінорецептори* нейромедіатора ацетилхоліну.

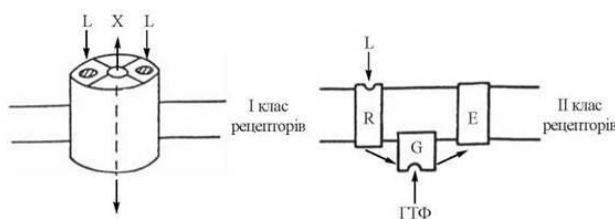


Рис. 40 – Іонотропні (I клас) та metabotropні (II) рецептори ФАС.

Позначення: L — ліганд (біорегулятор); X — іон, R — рецептор; G — білок-трансдуктор; E — ефекторна молекула (В.Б. Долго-Сабуров та ін., 1989).

Молекулярна організація metabotropних рецепторів

Metabotropні рецептори для гормонів є білковими молекулами (в деяких випадках — глікопротеїнами), поліпептидний ланцюг яких пронизує товщу мембрани з утворенням, як правило, семи трансмембранних спіральних сегментів (петель); N-кінець рецепторного поліпептиду розташований в екстрацелюлярному просторі і може бути глікозильованим, C-кінець — занурений у цитозоль.

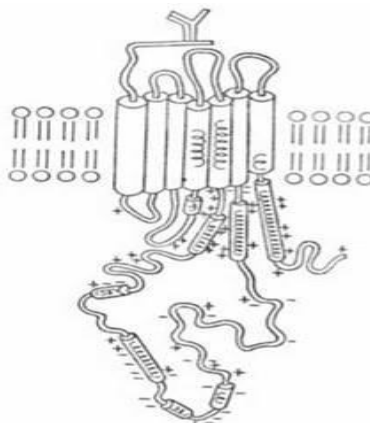


Рис. 41 – Структура метаботропного рецептора біорегуляторів (на прикладі м-холінорецептора ацетилхоліну).

Білки-трансдуктори та вторинні месенджери

Система трансдукції хімічного сигналу, що його сприймає клітина від біорегулятора, включає взаємодію модифікованого гормон-рецепторного комплексу з білками-трансдукторами, які здійснюють трансформацію та подальшу передачу регуляторного сигналу.

Білки-трансдуктори — G-білки (або N-білки) — внутрішньомембранні білки, які сприймають хімічний сигнал від рецептора, модифікованого за рахунок взаємодії з гормоном або медіатором, та спричиняють зміни функціональної активності ефекторних систем клітини. За молекулярною будовою G-білки є тримерами, що складаються з трьох субодиниць (α , β , γ); α -субодиниця має ГТФ-азну активність — активація G-білка при взаємодії з модифікованим рецептором та передача регуляторного сигналу на каталітичну субодиницю ферменту аденілатциклази супроводжується гідролізом ГТФ до ГДФ та Φ_n .

Існує декілька типів G-білків:

G_s-білки (стимулюючі) — такі, що активують аденілатциклазу — фермент, що утворює головний вторинний посередник — цАМФ;

G_i-білки (інгібіруючі) — такі, що інгібують аденілатциклазу;

G_q-білки — такі, що активують фосфоліпазу C — фермент, який спричиняє активацію фосфоінозитидного циклу — ферментної системи, яка призводить до збільшення концентрації Ca^{2+} в цитозолі за рахунок його вивільнення з внутрішньоклітинних депо.

Вторинні месенджери

Сигнал на подальше включення каскаду біохімічних реакцій передається *вторинними посередниками*, або *месенджерами* (messenger — посланець, вісник, англ.) — біомолекулами, що передають інформацію від гормону (*первинного месенджеру*) на ефекторні системи клітини.

До *вторинних месенджерів* належать: циклічні нуклеотиди — циклічний аденозинмонофосфат (3',5'-АМФ; цАМФ) і циклічний гуанозинмонофосфат (3',5'-ГМФ, цГМФ), фосфоінозитиди та іони Ca^{2+} .

Зростання внутрішньоклітинної (цитозольної) концентрації зазначених вторинних посередників здійснюється шляхом:

- 1) активації *аденілатциклази*, що утворює циклічний АМФ;
- 2) активації *гуанілатциклази*, що утворює циклічний ГМФ;
- 3) активації *фосфоліпази C*, що призводить до включення фосфоінозитидного каскаду — механізму мобілізації внутрішньоклітинного Ca^{2+} ;
- 4) надходження Ca^{2+} з екстрацелюлярного простору за рахунок відкриття кальцієвих каналів на плазматичній мембрані (механізм, більш притаманний *іонотропним рецепторам*).

Протеїнкінази та ефекторні системи клітини

Основними *тригерами*, що включають ефекторні системи клітини у відповідь на дію гормонів, є ферменти *протеїнкінази*, дія яких призводить до зміни каталітичної активності

певних регуляторних ферментів шляхом їх ковалентної модифікації (АТФ-залежного фосфорилування) — див. главу 7.

Таким чином, *ефекторними механізмами*, які реалізують трансформацію гормонального (регуляторного сигналу) через систему вторинних посередників у послідовність специфічних біохімічних реакцій клітини, є:

- 1) цАМФ-залежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється через *цАМФ-залежні протеїнкінази*);
- 2) цГМФ-залежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється через *цГМФ-залежні протеїнкінази*);
- 3) Ca^{2+} /кальмодулінзалежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється *Ca/кальмодулін-залежними протеїнкіназами*);
- 4) Ca^{2+} /фосфоліпідзалежне фосфорилування ферментних білків (здійснюється *Ca/фосфоліпідзалежними протеїнкіназами*);

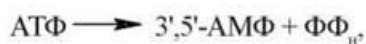
5) фосфорилування ферментних білків через *тирозинзалежні кінази*; на відміну від вищезазначених протеїнкіназ, що фосфорилують у ферментних білках залишки *серину* або *треоніну*; цей особливий клас кіназ фосфорилує залишки *тироzinу*. Даний тип активації ферментних білків (реалізується при дії на клітини *інсуліну*, *епідермального*, *тромбоцитарного* та інших *факторів росту*) не потребує наявності вторинних посередників і здійснюється безпосередньо в результаті взаємодії біорегулятора з мембранним рецептором.

Розглянемо детальніше основні з ефекторних механізмів, які реалізуються при дії на клітини *гормонів першої групи*.

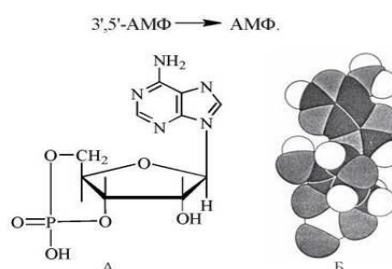
цАМФ та аденілатциклаза

Циклічний аденозинмонофосфат (3',5'-АМФ; цАМФ) був відкритий американським дослідником Е. Сазерлендом при вивченні біохімічних механізмів глікогенолізу в печінці та м'язах, що стимулюється адреналіном і глюкагоном. Подальші дослідження встановили *універсальність цАМФ як вторинного посередника в передачі сигналів фізіологічно активних сполук на клітину*.

Утворення цАМФ з АТФ відбувається при дії мембранної *аденілатциклази*:



його розщеплення з утворенням неактивного продукту — нециклічного аденозин-5'-монофосфату — при дії *фосфодіестерази циклічних нуклеотидів*:



Структурна формула (А) і молекулярна модель (Б) циклічного 3',5'-АМФ.



Рис. 42 – Сазерленд (Sutherland) Ерл У. (1915-1974), американський біохімік, фармаколог. Встановив будову та роль цАМФ у передачі гормонального сигналу. Нобелівська премія (1971).

До гормонів, що використовують цАМФ як вторинний посередник, належать: *адреналін, вазопресин, глюкагон, гонадотропін хоріонічний, дофамін* (при взаємодії з D₁-рецепторами), *кальцитонін, кортикотропін, ліпотропін, лютеїнізуючий гормон, меланоцитостимулюючий гормон, норадреналін* (при взаємодії з β-рецепторами), *тиротропний гормон, фолікулостимулюючий гормон.*

Поряд з гормонами та медіаторами, що активують аденілатциклазну каскадну систему (діють через трансдуктор G_s), існує певна група біорегуляторів, що гальмують аденілатциклазу і зменшують внутрішньоклітинний рівень цАМФ (діють через G_i-білок). До біорегуляторів, що інгібують аденілатциклазу, належать: *ангіотензин II, ацетилхолін* (при взаємодії з м-холінорецепторами), *дофамін* (при взаємодії з D₂-рецепторами), *норадреналін* (при взаємодії з α₂-адренорецепторами), *опіюідні пептиди, соматостатин.*

Загальну схему передачі гормональних сигналів на аденілатциклазну систему через трансдуктори G_s та G_i подано на рис. 43.

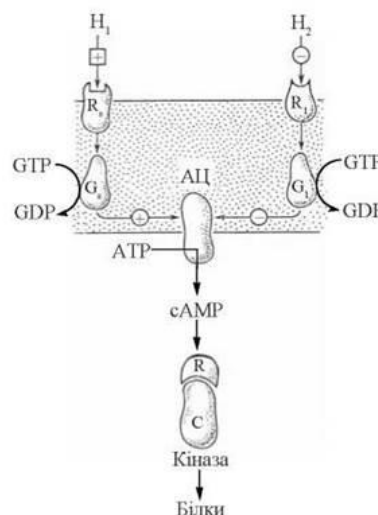


Рис. 43 – Схема гормональної регуляції клітинних функцій через аденілатциклазну систему. Позначення: Н — гормон; R — рецептор; G — трансдуктор.

Ca²⁺ як внутрішньоклітинний месенджер та система фосфоінозитидів

Іони кальцію — еволюційно прадавні внутрішньоклітинні месенджери та регулятори багатьох ферментних систем і фізіологічних функцій клітин, зокрема клітинного росту, поділу

клітин, скорочення м'язових та інших скоротливих білків, згортання крові, секреції гормонів та нейромедіаторів, передачі нервового імпульсу тощо.

Регуляторна функція Ca^{2+} (передавання сигналу від гормону, медіатора та активація ефекторних біохімічних систем) здійснюється шляхом зростання внутрішньоклітинної (цитозольної) концентрації іона (звичайно, від 10^{-8} - 10^{-9} до 10^{-6} М). Це значне зростання концентрації вільного Ca^{2+} здійснюється шляхом включення зовнішньоклітинним біорегулятором одного з таких механізмів:

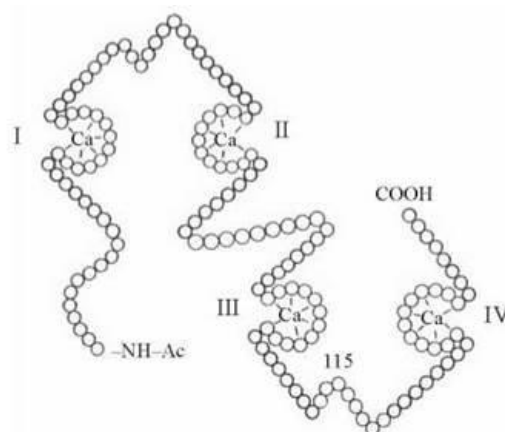
— відкриття кальцієвих каналів (*рецепторчутливих каналів*) на плазматичній мембрані і входу в клітину екстрацелюлярного Ca^{2+} (механізм, що реалізується здебільшого при взаємодії нейромедіаторів з іонотропними рецепторами);

— виходу іонів кальцію в цитозоль з його внутрішніх депо — мітохондрій та цистерн (каналців) ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулума (*мобілізація* кальцію з внутрішніх депо); включення цього механізму потребує стимуляції гормоном чи іншим біорегулятором *фосфоінозитидної системи*, інтермедіати якої і спричиняють вихід кальцію з органел.

Перехід клітини із стану активації до функціонального спокою відбувається в результаті зменшення цитозольної концентрації кальцію до вихідної, що забезпечується “викачуванням” Ca^{2+} з цитозолі в екстрацелюлярний простір та “закачуванням” іона у внутрішньоклітинні депо. Цей процес є енергозалежним транспортом проти градієнта концентрації і досягається за рахунок функціонування Ca^{2+} -АТФаз плазматичних мембран та мембран внутрішньоклітинних органел.

Кальмодулін

Універсальним акцептором хімічного регуляторного сигналу від іонів Ca^{2+} є *кальмодулін* (КМ) — білок з молекулярною масою близько 17 кД, який може зв'язувати чотири іони кальцію:



Будова кальмодуліну з головного мозку. I-IV—сайти зв'язування Ca^{2+} .

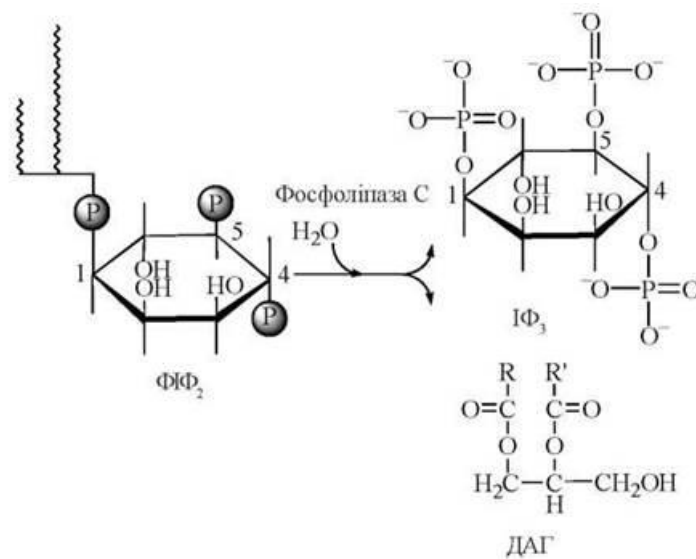
Специфічне зв'язування Ca^{2+} з молекулою КМ призводить до змін конформації білка, який набуває властивості взаємодіяти з чутливими до КМ білками, в тому числі протеїнкіназами (*Ca/КМ-залежними протеїнкіназами*), які регулюють функції багатьох важливих ферментів, збільшуючи їх каталітичну активність (табл. 23.1).

Таблиця 10. Ферменти, що регулюються комплексом Ca/КМ

Назва ферменту	
Аденілатциклаза	Кіназа фосфорилази b
Гуанілатциклаза	Піруваткарбоксилаза
Фосфодіестераза циклічних нуклеотидів	Піруватдегідрогеназа
Ca, Mg-АТФаза	Піруваткіназа
Глікогенсинтаза	Фосфоліпаза A ₂
Гліцерол-3-фосфат-дегідрогеназа	

Фосфоінозитидна система та мобілізація Ca²⁺

Головною подією у включенні фосфоінозитидного циклу (каскаду, системи) є активація ферменту фосфоліпази С, яка відбувається в результаті взаємодії деяких екзогенних біорегуляторів з мембранними рецепторами та подальшої передачі хімічного сигналу через трансдукторний G_q-білок. Субстратом фосфоліпази С є мембранний фосфоліпід фосфатидилінозитол-4,5-дифосфат (ФІФ₂), що в цій реакції розщеплюється до інозитол-1,4,5-трифосфату (ІФ₃) та 1,2-діацилгліцеролу (ДАГ).



Подальші метаболічні перетворення ІФ₃ та ДАГ призводять до ресинтезу *фосфатидилінозитол-4,5-дифосфату* (ФІФ₂), тобто замикання фосфоінозитидного циклу (рис. 44).

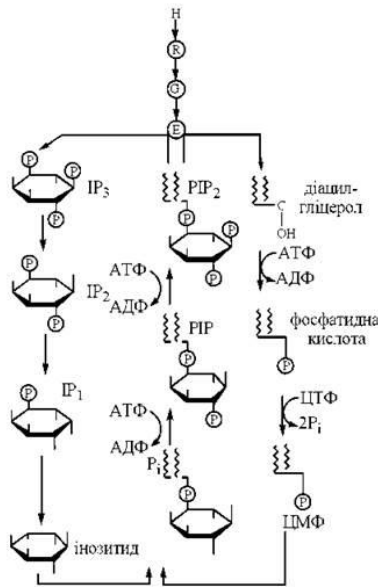


Рис. 44 – Фосфоінозитидний цикл

Встановлення біологічної ролі деяких фосфоінозитидів як агентів, що спричиняють вихід іонів Ca^{2+} з внутрішньоклітинних резервуарів, відкрило додаткову сигнальну систему, що пов'язує гормонорецепторну взаємодію на плазматичній мембрані із стимуляцією біохімічних ефекторних систем клітини.

Продукти реакції, яка каталізується гормоночутливою фосфоліпазою C — IP_3 та ДАГ, є внутрішньоклітинними месен- джерами:

- IP_3 спричиняє вихід у цитозоль іонів Ca^{2+} , депонованих в ендоплазматичному ретикулумі, і збільшення концентрації іона в цитозолі. Вивільнення Ca^{2+} з ендоплазматичного (або, в гладеньких м'язах, — саркоплазматичного ретикулума) зумовлене відкриттям при дії IP_3 мембранних каналів для кальцію, що локалізовані в зазначених ультраструктурних утвореннях, і є важливим механізмом *тонкої фізіологічної регуляції рівня іонізованого цитозольного кальцію.*

- ДАГ є активатором *Ca/фосфоліпідзалежної протеїнкінази (протеїнкінази C)* — ферменту, каталітична активність якого проявляється за умов взаємодії з іонами Ca^{2+} та фосфоліпідом *фосфатидилсерином*. *Протеїнкіназа C* є ферментом, що виявлений практично у всіх клітинах організмів вищих тварин, за виключенням зрілих без'ядерних еритроцитів; найбільша кількість ферменту знаходиться в головному мозку, селезінці, клітинах лейкозів людини. Згідно з сучасними уявленнями, *протеїнкіназа C* активує (шляхом фосфорилування за залишками серину та треоніну) клітинні білки, що визначають швидкість процесів клітинної проліферації, нормального та пухлинного тканинного росту, реакцію клітин на ростостимулюючі фізіологічно активні сполуки та онкогени.

Біохімічне значення діацилгліцеролу полягає також у наявності в його 2-му (β -) положенні залишку *арахідонової кислоти ($\text{C}_{20:4}$)*; гідроліз ДАГ із вивільненням арахідонату поставляє субстрат для біосинтезу важливого класу біорегуляторів — *ейкозаноїдів* (глава 25).

Фізіологічно активні сполуки, які спричиняють запуск циклу фосфоінозитидів через фосфоліпазу С:

вазопресин, ацетилхолін (при взаємодії з м-холінорецепторами), *норадреналін* (при взаємодії з α_1 -адренорецепторами), *серотонін* (при взаємодії з 5-НТ₁-рецепторами), *сполука Р, тироліберин*.

Прикладами клітинних функцій, залежних від функціонування фосфоінозитидного каскаду, є: глікогеноліз в гепатоцитах; скорочення м'язів; агрегація тромбоцитів та вивільнення ними серотоніну; секреція інсуліну острівковими клітинами підшлункової залози; секреція адреналіну хромафінними клітинами надниркових залоз, секреція гістаміну мастоцитами.

Схему гормональної регуляції біохімічних та фізіологічних функцій клітини за участю фосфоінозитидів та іонів Ca^{2+} подано на рис. 45.

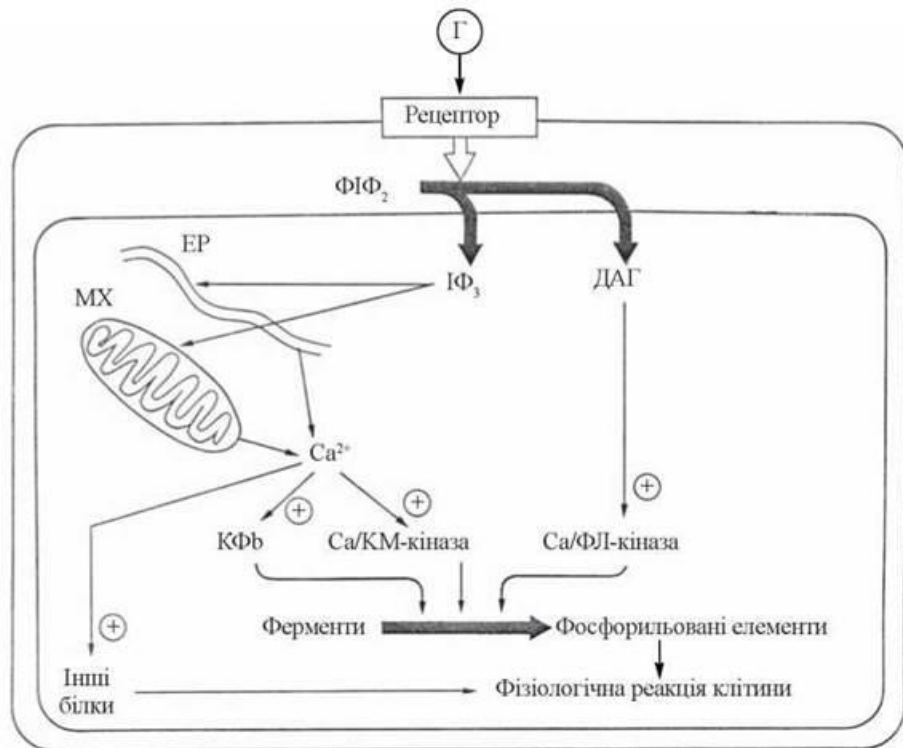


Рисунок 45 – Фосфоінозитидзалежна регуляція клітинних функцій.

Позначення: ФІФ₂ — фосфатидил-інозитол-4,5-дифосфат; ІФ₃ — інозитол-1,4,5-трифосфату; ДАГ — діацилгліцерол; КФб — кіназа фосфорилази b; Са/КМ-кіназа — Са/кальмодулін-кіназа; Са/ФЛ-кіназа — Са/фосфоліпід-кіназа; ЕР — ендоплазматичний ретикулум; МХ — мітохондрії.

Питання для самоконтролю

1. Яка молекулярна організація метаботропних рецепторів?
2. Охарактеризуйте типи G-білків.
3. Які це вторинні месенджери?
4. Які це протеїнкінази та ефекторні системи клітини?

Лекція 19

21.2 Гормони підшлункової залози та шлунково-кишкового тракту. 21.3. Тиреоїдні гормони

А. Гормони підшлункової залози

Підшлункова залоза — орган мішаної секреції, ацинарна частина якої виконує екзокринну функцію, секретуючи в дванадцятипалу кишку травні ферменти та іони, а ендокринна (*острівці Лангерганса*) — продукує декілька гормональних факторів пептидної природи. Синтез та секреція пептидних гормонів забезпечують різні типи клітин острівкового апарату:

А (α)-клітини — глюкагон;

В (β)-клітини — інсулін;

Д (δ)-клітини — соматостатин;

F-клітини — панкреатичний поліпептид.

1. *Інсулін* — поліпептидний гормон (м.м. 5,7 кД), молекула якого складається з двох ланцюгів — А та В, що мають, відповідно, 21 та 30 амінокислотних залишків. Пептидні ланцюги сполучені між собою дисульфідними зв'язками, що з'єднують залишок А₇ із залишком В₇ та залишок А₂₀ із залишком В₁₉; крім того, третій дисульфідний місток зв'язує між собою залишки 6 та 11 А-ланцюга.



Інсулін був першим білком, для якого була встановлена повна амінокислотна послідовність (Ф. Сенгер, 1955). Враховуючи важливе медико-біологічне значення гормону для лікування цукрового діабету, інсулін був також першим білком, отриманим для фармацевтичних цілей *in vitro* біотехнологічним методом з використанням рекомбінантних ДНК.



Рис. 46 – Сенгер (Sanger) Фредерік (народ. 1918 р.), видатний англійський біохімік. Професор Кембріджського ун-ту. Винайшов метод визначення первинної структури білків, розшифрував первинну структуру інсуліну. Двічі лауреат Нобелівської премії (1958, 1980).

Вивчення третинної структури інсуліну дозволило сформуванню уявлення про будову його активного центру, який визначає взаємодію білка з мембранним рецептором та реалізацію гормональної активності (рис. 47).

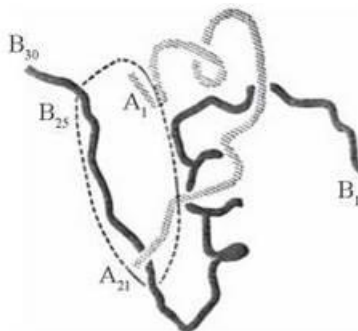


Рис. 47 – Просторове розміщення А- та В-ланцюгів у молекулі інсуліну. Пунктиром позначений домен, що взаємодіє з рецептором.

Біосинтез та секреція інсуліну

Інсулін синтезується в рибосомах В- (β -) клітин підшлункової залози у вигляді препрогормону — білка з м.м. 11,5 кД, який у результаті обмеженого протеолізу послідовно перетворюється в ендоплазматичному ретикулумі та апараті Гольджі на прогормон (м.м. 9 кД) та зрілий інсулін.

Молекули інсуліну спаковуються в секреторні гранули, де вони утворюють комплекси з іонами цинку. Секреція інсуліну з клітини відбувається шляхом *еміоцитозу*, який полягає в міграції гранул до плазматичної мембрани, злитті гранул з мембраною, розчиненні мембрани та “екструзія” — викиду вмісту мембрани в екстрацелюлярний простір. Секреція інсуліну є енергозалежним процесом, головним фізіологічним стимулом секреції є збільшення концентрації глюкози в крові понад рівень фізіологічної норми (3,3-5,5 ммоль/л).

Характеристика гормональної активності

Інсулін позначають як “гормон засвоєння та депонування вуглеводів” (В.Б. Розен, 1984). Відповідно, цукровий діабет (хвороба, що пов’язана з порушеннями в синтезі, секреції інсуліну та/або реактивності інсулінових рецепторів — глава 12) характеризується стійкою гіперглюкоземією, порушеннями вуглеводного обміну та метаболічно зв’язаних з обміном глюкози перетворень ліпідів і амінокислот. Ця гормональна дія інсуліну зумовлена такими біохімічними механізмами:

1) Вплив на *обмін вуглеводів*:

)стимуляцією транспорту глюкози з екстрацелюлярного простору через плазматичні мембрани всередину клітин — ефект спостерігається здебільшого в клітинах м’язів, адипоцитах жирової тканини, лімфоцитах і є основною причиною швидкого (протягом декількох секунд)

зниження рівня глюкоземії після ін'єкції інсуліну. Разом з тим, інсулін не впливає на мембранний транспорт глюкози в гепатоцитах, клітинах головного мозку, нирок; стимуляція поглинання глюкози цими тканинами при дії інсуліну спричиняється активацією гормоном швидкості внутрішньоклітинної утилізації глюкози (див. нижче);

2.) сприянням *утилізації* глюкози в м'язах, печінці, жировій тканині тощо шляхами *гліколізу, пентозофосфатного шляху* (ПФШ) та *синтезу глікогену*:

2.1.) стимуляція гліколізу в гепатоцитах відбувається за рахунок активації інсуліном синтезу (індукції) глюкокінази — ферменту, що перетворює глюкозу на глюкозо-6-фосфат, а також фосфофруктокінази та піруваткінази;

2.2.) стимуляція ПФШ обміну глюкози відбувається за рахунок активації глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназної реакції (цей ефект інсуліну особливо важливий для жирової тканини та печінки, оскільки створює метаболічні умови, сприятливі для ліпогенезу);

2.3.) інсулінзалежна стимуляція глікогенезу зумовлюється такими ферментативними механізмами:

а) збільшенням *глюкокіназної* активності, що призводить до додаткового утворення глюкозо-6-фосфату, який може перетворюватися на глюкозо-1-фосфат — безпосередній субстрат глікогенезу;

б) активацією *глікогенсинтази*: інсулін сприяє переходу ферменту в дефосфорильовану — активну форму (ефект зумовлений зниженням під впливом інсуліну рівня цАМФ внаслідок активації фосфодіестерази циклонуклеотидів і, відповідно, зменшенням активності протеїнкінази, що фосфорилує глікогенсинтазу);

в) зменшенням активності *глікогенфосфорилази* (що також зумовлено падінням концентрації цАМФ і активності відповідної *протеїнкінази*); сукупність цих (б, в) метаболічних ефектів інсуліну спрямована на запасання глікогену в тканинах (анаболічна дія гормону);

3.) гальмуванням процесів *глюконеогенезу* в печінці;

інсулін призводить до інгібування синтезу глюконеогенних ферментів *ФЕП-кінази, Фр-1,6-дифосфатази, Г-6-Ф-ази* — цей процес є більш повільним (порівняно з впливом інсуліну на транспорт глюкози, гліколіз та глікогенез) і вимагає для свого прояву декількох годин.

Вплив на обмін ліпідів.

Характеризується стимуляцією анаболічних шляхів ліпідного обміну і збільшеним депонуванням нейтральних жирів в клітинах, що проявляється здебільшого в жировій тканині та в печінці. Ліпогенні ефекти інсуліну зумовлені такими біохімічними механізмами:

1.) активацією синтезу вищих жирних кислот за рахунок збільшення притоку відповідних субстратів: ацетил-КоА та НАДФН, що утворюються при метаболізмі глюкози (див. вище);

2.) активацією синтезу триацилгліцеролів із жирних кислот та гліцерол-3- фосфату, який також постачається у збільшеній кількості при гліколітичному розщепленні глюкози (утворюється з діоксіацетонфосфату в гліцерол-3-фосфатдегідрогеназній реакції);

3) гальмуванням ліполізу в адипоцитах, що зумовлено зменшенням концентрації цАМФ, необхідного для активації ТГ-ліпази та протидією ліполітичному впливу катехоламінів та глюкагону.

Згідно із зазначеним, *цукровий діабет* характеризується активацією *ТГ-ліпази* жирової тканини із збільшеним надходженням НЕЖК у плазму крові, стимуляцією їх перетворення в кетонові тіла (кетогенезом) та виникненням при некомпенсованій течії захворювання *кетоацидозу*. Крім того, оскільки інсулін зменшує утворення в печінці основних транспортерів триацилгліцеролів та холестерину — ЛПДНЩ та ЛПНЩ — ”атерогенних ліпопротеїнів”, цукровий діабет II типу (глава 16) характеризується додатковим розвитком атеросклерозу та ожиріння.

Вплив на обмін амінокислот та білків.

Дія інсуліну на амінокислотний та білковий обмін найбільш виражена в м'язах, печінці, нирках, сполучній тканині, має анаболічний характер і характеризується:

1.) стимуляцією транспорту нейтральних амінокислот через плазматичні мембрани (ефект, найбільш виражений у м'язах);

2) активацією процесів рибосомальної трансляції, синтезу рРНК та деяких мРНК (у м'язах, печінці, нирках, сполучній тканині).

Вплив на процеси клітинного росту та проліферації.

Інсулін має виражені ростостимулюючі ефекти, що пов'язані як із стимуляцією надходження в клітини енергетичних та пластичних субстратів для росту (глюкози, жирних кислот, амінокислот), так і з безпосереднім активуючим впливом на біосинтез (реплікацію) ДНК, прискоренням переходу клітин у S-фазу. Інсулін здійснює позитивний вплив на проліферацію тваринних клітин у культурі, подібний до дії пептидних факторів росту — *фактора росту епідермісу (ФРЕ)*, *фактора росту фібробластів (ФРФ)*, *тромбоцитарного фактора росту (ТФР)*, біологічні ефекти яких також підсилюються інсуліном.

Молекулярні механізми дії інсуліну

Незважаючи на численні багаторічні дослідження кращих наукових центрів світу, молекулярні основи біохімічних та фізіологічних ефектів інсуліну, зокрема механізми трансформації його рецептор-лігандної взаємодії в специфічні реакції ефektorних систем клітини, залишаються не повністю розшифрованими.

Рецепторні тирозин-кінази

Рецептори для інсуліну, що локалізовані в мембранах гормоночутливих клітин, суттєво відрізняються від розглянутих вище рецепторів для білково-пептидних гормонів як за структурною організацією, так і за механізмами трансдукції гормонального сигналу. Ці інсулінові рецептори мають спільні принципи біохімічної організації та функціонування з

рецепторами пептидних факторів росту (ФРЕ, ФРФ, ТФР) і отримали назву *рецепторних тирозин-кіназ*. Клас рецепторів, що розглядається, поєднує в собі функції як власнорецептора (тобто молекулярної структури, що специфічно сполучається з біорегулятором), так і *трансдуктора*, а також *ферменту*, тобто ініціаторного компонента *ефекторної системи*, яка реалізує біологічну реакцію клітини на дію гормону.

Характеристика будови та механізмів функціонування рецепторних тирозин-кіназ:

1) рецептори — інтегральні білки, що пронизують плазматичні мембрани; вони складаються із зовнішнього (екстрацелюлярного) домену, який послуговує для взаємодії з лігандом (гормоном, фактором росту), внутрішньомембранної частини та цитозольного компонента, що виконує каталітичні функції *тирозин-кінази* (рис. 48);

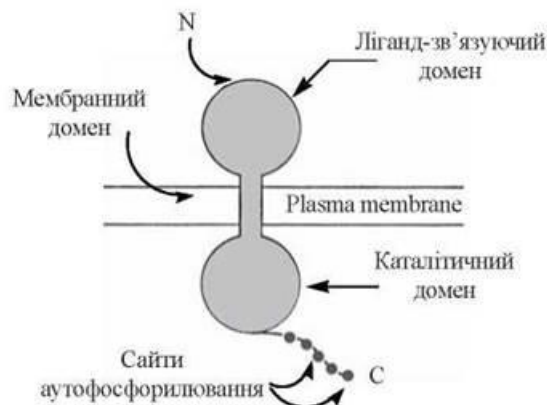


Рис. 48 – Модель трансмембранної організації рецепторної тирозин-кінази.

2) за своєю молекулярною організацією рецептори інсуліну є гетеродимерами, що складаються із субодиниць двох типів, сполучених дисульфідними містками з утворенням олігомерів $\alpha_2\beta_2$; обидві субодиниці глікозильовані. α -Субодиниця (м.м. 135 кД) розташована зовні клітини і містить інсулін-зв'язуючі ділянки; β -субодиниця (м.м. 95 кД) — трансмембранний білок, цитозольний домен якого має тирозин-кіназну активність (рис. 49);

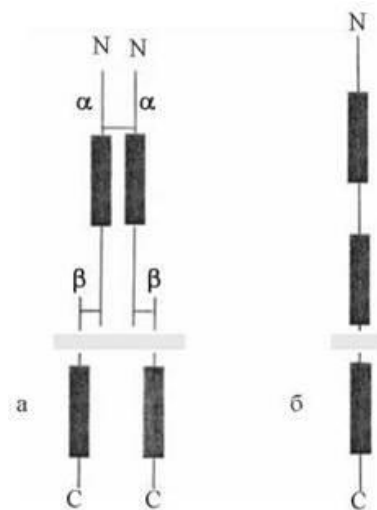


Рис. 49 – Схема молекулярної організації рецепторів (рецепторних тирозин-кіназ) для інсуліну (а) та епідермального фактора росту (б).

3) зв'язування ліганда-біорегулятора з екстрацелюлярним доменом призводить до активації *протеїнкіназної* активності цитозольного домену *рецепторної тирозин-кінази*, який починає фосфорилювати власні тирозинові залишки (R-OH), розташовані близько С-кінця молекули (процес *аутофосфорилування*):



В свою чергу, аутофосфорильовані сайти взаємодіють з певними ферментними білками-мішенями (E-OH) і здійснюють їх фосфорилування (та модифікацію каталітичної активності), тобто подальше передавання хімічного

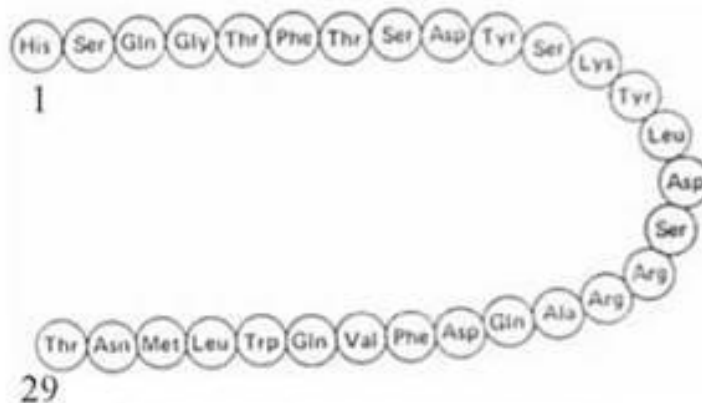


Важливим ферментом, що фосфорилується в такому процесі, є *фосфоліпаза С* — ключовий фермент стимуляції фосфоінозитидного циклу, що спричиняє активацію *протеїнкінази С* та мобілізацію іонів інтрацелюлярного Ca^{2+} . Проте, розглянута послідовність реакцій є остаточно встановленою лише для пептидних факторів росту (зокрема ФРЕ), а питання про вторинні месенджери для інсуліну і подальшу послідовність ферментативних реакцій, що реалізують множинні клітинні ефекти цього гормону, остаточно не з'ясовано.

Фактори росту та онкобілки

Значний біомедичний інтерес становить та обставина, що тирозин-кіназну активність мають деякі *онкобілки* — продукти експресії в клітинах ссавців *онкогенів*. Так, зокрема, *тирозин-кіназами* є онкобілки — продукти генів *src*, *erbB*, *abI* тощо, що спричиняють розвиток різних видів злоякісних пухлин.

Більше того, певні онкобілки близькі за будовою (мають гомологічні амінокислотні послідовності) з тирозин-кіназними рецепторами біорегуляторів: онкоген *erbB* (що спричиняє еритробластоз у птахів) кодує онкобілок, який має властивості рецептора ЕФР, онкоген *sis* (спричиняє саркому у мавп) структурно подібний до ТФР тощо. За цими даними можна припустити, що онкогени геному людини (і відповідні онкобілки) також можуть утворюватися в результаті мутацій генів, які відповідають за експресію білкових (тирозин-кіназних) рецепторів для біорегуляторів (в тому числі інсуліну), що контролюють ріст і проліферацію нормальних клітин (Ю.І. Губський, 1999).



Первинна структура глюкагону.

2. *Глюкагон* — одноланцюговий поліпептид (м.м. 3,5 кД), що складається з 29 амінокислотних залишків. Основним місцем синтезу гормону є А (α)-клітини острівкової частини підшлункової залози, проте значна кількість глюкагону може утворюватися і в інших клітинних елементах дифузної ендокринної системи шлунково-кишкового тракту. Глюкагон синтезується у вигляді

прогормону (*проглюкагону*), який перетворюється на молекули зрілого глюкагону.

Біологічні функції глюкагону полягають у регуляції вуглеводного та ліпідного обміну; за спрямованістю своєї метаболічної дії глюкагон є *контрінсулярним* гормоном, тобто його ефекти на обмін вуглеводів та жирів здебільшого протилежні ефектам інсуліну. Основною мішенню гормональної дії глюкагону є гепатоцити печінки.

1) *Вплив глюкагону на обмін вуглеводів* характеризується:

а) стимуляцією глікогенолізу (без впливу на відповідний процес у м'язах) за рахунок активації глікоген-фосфорилази; молекулярний механізм дії гормону полягає в активації мембранної аденілатциклази з подальшим включенням цАМФ-залежного фосфоролітичного каскаду (глава 13);

б) гальмуванням глікогенезу шляхом інгібування активності глікогенсинтази за рахунок її цАМФ-залежного фосфорилування;

в) стимуляцією синтезу глюкози з амінокислот; активуючи синтез ферменту ФЕП-кінази (через підвищення швидкості транскрипції гена ФЕП-кінази), глюкагон виступає як найбільш потужний активатор глюконеогенезу в печінці.

Сума зазначених ефектів (а, б, в) проявляється гіперглюкоземічною дією глюкагону.

2) *Вплив глюкагону на обмін ліпідів* характеризується ліполітичною дією глюкагону. За рахунок збільшення концентрації цАМФ в адипоцитах глюкагон активує ТГ-ліпазу жирової тканини, що супроводжується виходом НЕЖК в плазму крові; вільні жирні кислоти виступають як енергетичні субстрати в ході β -окислення та частково перетворюються на кетоніві тіла. За умов інсулінової недостатності глюкагон-залежне утворення ацетоацетату робить суттєвий внесок в розвиток кетонемії, що спостерігається при цукровому діабеті.

Б. Гормони шлунково-кишкового тракту

Клітинна організація шлунково-кишкового тракту характеризується наявністю дифузної ендокринної системи, що нараховує до 16 типів гормонопродукуючих клітин. На даний час виділено та охарактеризовано більше 20 біорегуляторних пептидів, які синтезуються цими клітинами.

За хімічною будовою гастроінтестинальні гормони (*ентерогормони*) є коротколанцюговими пептидами та поліпептидами, що складаються з декількох або декількох десятків амінокислотних залишків. Більшість сполук гормональної та медіаторної дії, які належать до гастроінтестинальних пептидів, синтезуються також у центральній нервовій системі, гіпоталамусі, інших залозах внутрішньої секреції.

Біохімічно ідентифікованими гормонами шлунково-кишкового тракту є: гастрин, холецистокінін, секретин, шлунковий інгібіторний пептид, вазоактивний інтестинальний пептид, мотилін, соматостатин, панкреатичний поліпептид, ентероглюкагон, енкефаліни, сполука Р, бомбезин (гастрин-релізинг-пептид).

Гастрин — ентерогормон, що синтезується G-клітинами антральної частини шлунка, а також клітинами слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

Властивості *гастрину* притаманні декільком сполукам, що мають однакові чотирнадцять C-кінцевих амінокислот, але розрізняються довжиною поліпептидного ланцюга (містять 14; 17 або 34 амінокислотні залишки). Кожна з молекулярних форм гастрину може існувати в сульфатованому або нессульфатованому вигляді.

Фізіологічно найбільш активним є пептид антральних G-клітин — *гастрин 17*; цей гормон стимулює функціональну активність обкладинних та головних клітин слизової оболонки шлунка, виступаючи головним стимулятором секреції шлунком соляної кислоти та пепсину.

Гормонально активні пухлини шлунка — *гастриноми* призводять до аномально збільшеної секреції соляної кислоти та супроводжуються виникненням виразок шлунка, що є резистентними до звичайної антацидної фармакотерапії.

Холецистокінін — гормон, що продукується I-клітинами слизової оболонки дванадцятипалої кишки та проксимального відділу порожньої кишки.

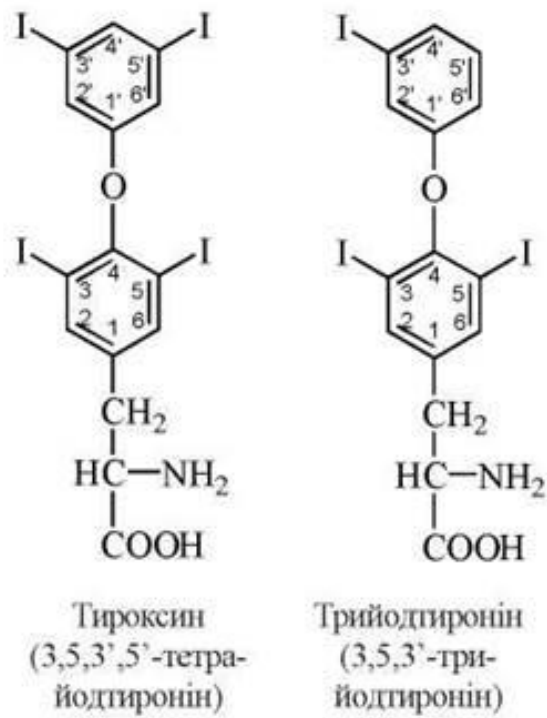
Холецистокінін є сполукою з надзвичайною молекулярною гетерогенністю: властивості холецистокініну мають, принаймні, п'ять пептидів, що складаються з 4, 8, 12, 33 та 39 амінокислотних залишків!

Фізіологічна активність цього ентерогормону полягає в стимуляції скорочень жовчного міхура та секреції панкреатичних ферментів; секреція холецистокініну стимулюється при надходженні в кишечник пептидів, амінокислот, довголанцюгових жирних кислот, кальцію, кислих еквівалентів. Найбільш активним є *холецистокінін 8*; цей пептид виявлений також у головному мозку, його унікальна центральна дія полягає в розвитку почуття ситості.

Секретин — гормон, який секретується S-клітинами дванадцятипалої кишки та проксимального відділу порожньої кишки. Є пептидом, що складається з 27 амінокислотних залишків.

Секретин стимулює секрецію бікарбонату та води підшлунковою залозою у відповідь на надходження в кишечник кислих продуктів шлунка.

Тиреоїдні гормони є істинними гормонами, що синтезуються в спеціалізованих епітеліальних клітинах фолікулів щитовидної залози — *тиреоцитах*. До цієї групи належать похідні амінокислоти L-тирозину — 3,5,3', 5'-тетрайодтиронін (тироксин) та 3,5,3'-трийодтиронін:



Біосинтез тиреоїдних гормонів потребує наявності йодидів, що вибірково накопичуються в щитовидній залозі, яка поглинає їх із крові; із загальних 20-30 мг йоду, що містяться в тілі людини, 10-15 мг акумулюється в колоїді фолікулів щитовидної залози.

Біосинтез тиреоїдних гормонів складається з таких етапів (рис. 50):

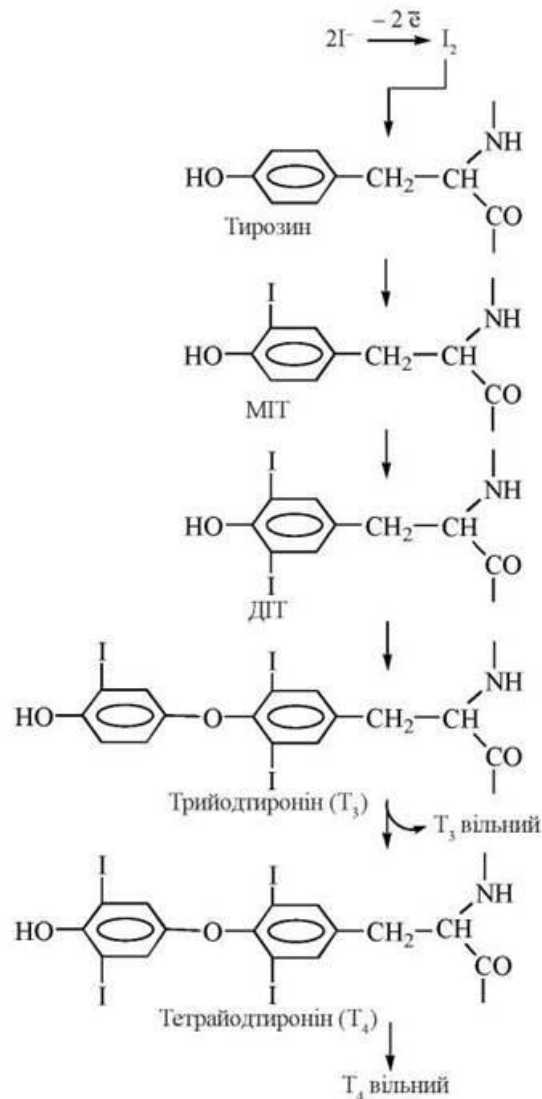
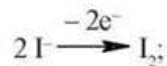


Рис. 50 – Схема біосинтезу тиреоїдних гормонів.

1) акумуляція щитовидною залозою йодидів крові (I) за допомогою “йодидного насосу” та їх окислення *йодидпероксидазою* до молекулярного йоду:



2) синтез специфічного білка колоїду щитовидної залози *тиреоглобуліну* та йодування його тирозинових залишків з утворенням *монойодтирозинів (MIT)* та *дйодтирозинів (DIT)*. Тиреоглобулін — глікопротеїн з м.м. 660 кД, що має олігомерну структуру (складається з двох субодиниць); у складі білка — 115 залишків тирозину, 15-20 % яких підлягають йодуванню;

3) перетворення йодованих тирозилових залишків на йодовані *тироніни* (у складі молекули *тиреоглобуліну*);

4) секреція йодованого *тиреоглобуліну* в порожнину фолікула, де цей високомолекулярний попередник тиреоїдних гормонів зберігається у складі колоїду;

5) поглинання (за умов фізіологічних потреб та стимуляції *тиреотропіном*) йодованого білка тиреоцитами, включення його в фаголізосоми, розщеплення молекули йодованого *тиреоглобуліну* (лізосомальними *тиреокатепсинами*) з утворенням вільних молекул *трийодтироніну (Т3)* та *тетрайодтироніну (Т4)* і вихід їх через базальні мембрани клітин у кров.

Із двох йодованих тиронінів більш активним є Т3, специфічна гормональна активність якого перевищує відповідну активність Т4 у 4-5 разів; у периферійних тканинах більша частина Т4 перетворюється на Т3, і сумарна біологічна дія тиреоїдних гормонів в організмі на 90-95 % забезпечується саме Т3.

Біологічні функції тиреоїдних гормонів — полягають у контролі процесів енергетичного обміну, біосинтезу білка та морфогенезу:

1. Стимуляція біоенергетичних процесів у тканинах при дії гормонів щитовидної залози позначається збільшенням швидкості тканинного дихання (поглинання O_2), активності мітохондріальних ферментів електронотранспортного ланцюга, підвищенням рівня катаболізму вуглеводів, ліпідів, амінокислот. Разом з тим, збільшення поглинання тканинами кисню в умовах дії тиреоїдних гормонів не супроводжується адекватним зростанням фосфорилування АДФ до АТФ, в результаті чого коефіцієнт окисного фосфорилування (P_i/O) зменшується, тобто відбувається роз'єднання дихання та окисного фосфорилування.

2. Тиреоїдні гормони є потужними стимуляторами процесів морфогенезу, неонатального закладення, формування і розвитку тканинних структур та органів; уроджений гіпотиреоз у людини супроводжується важкою затримкою психічного розвитку новонароджених дітей. В основі позитивного впливу гормонів щитовидної залози на морфогенез та розвиток тканин лежить їх специфічний активуючий вплив на процеси транскрипції генів, що контролюють зазначені процеси.

Молекулярні механізми дії

Рецептори тиреоїдних гормонів локалізовані в ядрах клітин-мішеней. У взаємодії з гормонами беруть участь специфічні рецептори α -1 та β -1, які є білками з м.м. 47 і 52 кД, відповідно. Спорідненість цих рецепторів до T_3 значно більша, ніж до T_4 .

Молекули тиреоїдних рецепторів мають три структурних домени: N-термінальний домен; центральний ДНК-зв'язуючий домен з двома *цинковими пальцями*; С-термінальний домен, що сполучається з гормоном (глава 23). Утворення комплексу *гормон-рецептор* призводить до конформаційних змін у молекулі рецептора; при цьому ДНК-зв'язуючий домен рецептора стає спроможним до взаємодії із специфічними сайтами на промоторах генів, які контролюють транскрипцію мРНК та синтез білків, що відповідають за прояви біологічних ефектів тиреоїдних гормонів.

Патологія щитовидної залози

Численні клінічні форми патологічних процесів, що стосуються щитовидної залози, призводять у кінцевому підсумку до зменшення або збільшення її функціональної активності (*гіпотиреоз* або *гіпертиреоз*, відповідно).

а) *Гіпотиреоз* — патологічний стан, який розвивається внаслідок дефіциту в організмі вільних T_3 та T_4 або неадекватної реакції тканин-мішеней на дію гормонів. Така ситуація може бути спричиненою дефектами синтезу тиреоїдних гормонів на різних його стадіях внаслідок:

- порушення акумуляції йодидів залозою (внаслідок йодного дефіциту або неспроможності залози накопичувати мікроелемент);
- порушень у ферментних системах, що використовують йодиди для утворення гормонально активних молекул T_3 та T_4 ;
- порушень у рецепторних та трансдукуючих системах, які трансформують гормональний сигнал в специфічні ефекти тиреоїдних гормонів.

Поширеною формою гіпотиреозу є *ендемичний зоб* — хвороба, яка часто зустрічається в місцевостях, де наявний екзогенний дефіцит йоду в питній воді та продуктах харчування. Захворювання характеризується збільшенням розміру залози — “зобом”, спричиненим компенсаторною активацією виділення ТТГ; специфічними проявами хвороби є мікседема (слизистий набряк), загальмованість нейро-психічних процесів, рухова млявість, апатичність, у разі прояву патології в ранньому дитячому віці — значна затримка розумового та фізичного розвитку.

б) *Гіпертиреоз* — патологічний стан, що пов'язаний із надлишковим утворенням залозою тиреоїдних гормонів. Різні за механізмами походження клінічні форми гіпертиреозу (базедова хвороба, хвороба Грейвса тощо) супроводжуються *тиреотоксикозом* (“токсичний зоб”), характерними проявами якого є збільшення основного обміну (поглинання організмом кисню в стані спокою), підвищена збудливість нервової системи, психічна дратівливість, тахікардія, схуднення хворих внаслідок переважання катаболічних процесів.

Питання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте біосинтез та секреція інсуліну.

2. Дайте характеристику гормональної активності.
3. Що впливає на обмін ліпідів?
4. Що має вплив на процеси клітинного росту та проліферації?
5. Перерахуйте молекулярні механізми дії інсуліну.
6. Які фактори росту та онкобілки?

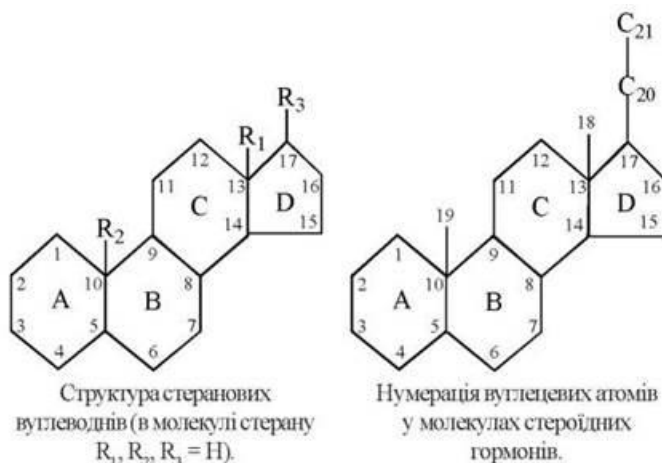
Лекція 20

Тема 22. Гормональна регуляція метаболізму та біологічних функцій клітини.

Гормони та інші біорегулятори ліпідного походження.

22.1 Загальна характеристика стероїдних гормонів

Стероїдні гормони — широка група біологічно активних похідних вуглеводню *стерану*, що за хімічною будовою є заміщеним циклопентанпергідрофенантrenom:



Залежно від хімічної природи радикалів R_1, R_2, R_3 , стероїдні гормони поділяють на декілька класів:

Вуглеводень	R_1	R_2	R_3	Кількість С-атомів
Стеран	-H	-H	-H	17
Прегнан	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	21
Естран	-CH ₃	-H	-H	18
Андростан	-CH ₃	-CH ₃	-H	19

Виходячи із зазначеної хімічної номенклатури, стероїдні гормони поділяють на такі групи:

1. Група *прегнану* (C₂₁-стероїди), до яких належать:
 - 1.1. *кортикостероїди*, що за біологічною активністю диференціюються на:
 - 1.1.1. *глюкокортикоїди*;
 - 1.1.2. *мінералокортикоїди*;
 - 1.2. *прогестагени*.
2. Група *естрану* (C₁₈-стероїди) — *estroгени*.

3. Група *андростану* (C₁₉-стероїди) — *андрогени*;

Усі ці групи стероїдних гормонів синтезуються в організмі з поліциклічного спирту — C₂₇- Δ^5 -стероїду — *холестеролу* (*холестерину*). Загальну схему хімічного генезису стероїдних гормонів подано на рис.51.

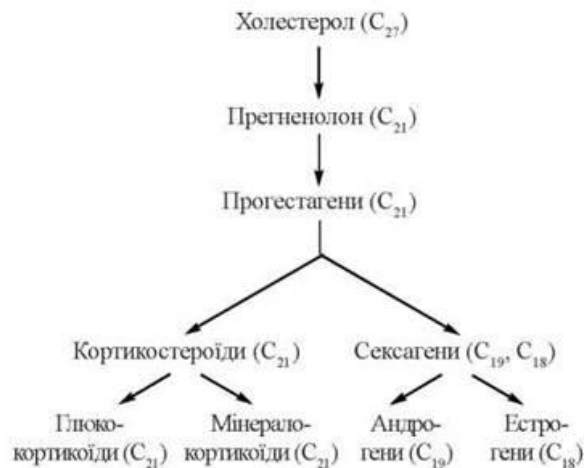


Рис. 51 – Генезис стероїдних гормонів з холестеролу

Окремий клас фізіологічно активних сполук стероїдного походження — *вітаміни групи D* (D₂, D₃ та їх похідні). Ці сполуки з властивостями як гормонів, так і вітамінів, є за хімічною будовою C₂₇-стероїдами.

Питання для самоконтролю

1. Як регулюється обмін речовин в організмі?
2. Яка роль нервової системи в регуляції обміну речовин?
3. Назвіть нейромедіатори. Яке значення кожного з них?
4. яку роль відіграє гуморальна система в обміні речовин? Що таке гормони і яка їхня роль у регуляції обмінних процесів у клітках?
5. Які ви знаєте білково-пептидні гормони? Де вони виробляються і яка їхня роль в обмінні речовин?

Лекція 21

22.3. Стероїдні гормони статевих залоз. 22.4. Гормони — регулятори гомеостазу кальцію

Статеві гормони людини — *сексагени*, *сексгормони* — синтезуються в жіночих і чоловічих статевих залозах, плаценті та частково — в корі наднирникових залоз. Статеві гормони забезпечують статеву диференціацію людини на чоловічу та жіночу особини, контролюють комплекс біологічних функцій, пов'язаних із розмноженням, тобто збереженням виду *Homo sapiens* як такого.

Жіночі статеві гормони

До жіночих статевих гормонів належать:

естрогени — похідні естрану (C₁₈-стероїди);

прогестагени — похідні прегнану (C₂₁-стероїди).

Естрогени

Естрогени — гормони, що синтезуються у фолікулах яєчників жінок. Основним найбільш активним представником естрогенів є гормон *17-β-естрадіол (естрадіол)*, який зворотно перетворюється на *естрон*:

Значно меншу біологічну естрогенну активність має *естріол*, який є продуктом незворотної біотрансформації *естрону* в печінці:

Естрон утворюється також у плаценті як плацентарний гормон під час вагітності; в цьому разі попередником естрону є стероїд *дегідроепіандростерон*, що надходить у плаценту з наднирникових залоз плода.

Біосинтез естрадіолу — процес, який відбувається, головним чином (на 95 % від його загального пулу), в клітинах внутрішньої оболонки (*theca interna*) фолікулів яєчників під час *фолікулярної фази* менструального циклу; концентрація естрадіолу в крові є показником ступеня дозрівання фолікула. В значно меншій мірі естрадіол утворюється в жовтому тілі, плаценті і частково — в корі надниркових залоз.

Вихідною сполукою для біогенезу естрогенних гормонів, як і інших стероїдів, є холестерин, який через прегненолон перетворюється, послідовно, на *17-α-гідроксипрогестерон* та *андрогени* — *головні найближчі попередники естрадіолу* (як дотепно зауважує А. Ленінджер (1982), — “Справді, не тільки з ребра Адама була створена Єва!”); частково естрогени можуть утворюватися з *17-α-гідроксипрогестерону*, минаючи стадію андрогенів (рис. 16.3).

Біологічні властивості естрогенів

Естрогени (переважно естрадіол) стимулюють розвиток тканин, що беруть участь у реалізації репродуктивної функції жіночого організму: зумовлюють проліферацію та диференціювання епітелію піхви, проліферацію та гіпертрофію ендометрію, появу власної ритмічної рухомості міометрію. Під час пубертатного періоду естрогени забезпечують становлення вторинних статевих ознак жінки: ріст і дозрівання геніталій, проток молочних залоз, кісток скелета, відкладання характерної для жіночого організму підшкірної жирової тканини.

Прогестагени

Прогестагени — гормони жовтого тіла яєчників та плаценти, основним представником яких є прогестерон.

Утворення прогестерону з холестерину є спільним етапом у біосинтезі C₂₁-стероїдів і було розглянуто вище (див. Біосинтез кортикостероїдів).

Біотрансформація прогестерону в організмі призводить до утворення прегнандіолу, що екскретується із сечею:

Біологічні властивості прогестерону

Прогестерон — гормон, що синтезується переважно в жовтому тілі яєчників у *лютеїнову фазу* менструального циклу. Фізіологічна функція прогестерону полягає у підготовці матки та інших статевих органів до імплантації заплідненої яйцеклітини та розвитку вагітності: гормон сприяє переходу ендометрію з проліферативної до секреторної фази, зменшує тонус м'язів матки, спричиняє проліферацію та розвиток молочних залоз, а в разі настання вагітності сприяє гальмуванню овуляції.

Менструальний цикл

Жіноча репродуктивна сфера у людини та приматів зазнає циклічних змін, які зумовлені складними фізіологічними і біохімічними взаємовідносинами між гіпоталамусом, гіпофізом та яєчниками. Менструальний цикл у жінок складається з таких фаз: фолікулярної фази, лютеїнової фази та власне менструації.

Циклічна секреція естрогенів та прогестерону, що забезпечує зміни в жіночих статевих органах протягом менструального циклу, контролюється гонадотропінами гіпофіза — *фолікулостимулюючим гормоном (ФСГ)* та *лютеїнізуючим гормоном (ЛГ)*. ФСГ та ЛГ стимулюють визрівання фолікула, його розрив та трансформацію в жовте тіло.

Утворення естрогенів у фолікулах стимулюється переважно ФСГ, проте при наявності певної концентрації ЛГ; функції жовтого тіла контролюються, в основному, ЛГ. Значне зростання (пік) концентрацій ФСГ та ЛГ передують овуляції.

Рис. 25.3. Циклічні зміни концентрацій жіночих статевих гормонів та гонадотропній протягом менструального циклу (за J. Terregman, H.M. Terregman, 1987).

Чоловічі статеві гормони

Чоловічі статеві гормони — *андрогени* — є похідними *андростану* (C₁₉-стероїди). Основним андрогеном є *тестостерон*, що синтезується в інтерстиціальних клітинах сім'яників (клітинах Лейдига). Добова секреція тестостерону у чоловіків складає в нормі близько 5 мг.

У клітинах-мішенях тестостерон конвертується в більш активний метаболіт — *дигідротестостерон (ДГТ)*, для якого тестостерон є, по суті, прогормоном. Наявність ДГТ виявляється в сім'яних везикулах, передміхуровій залозі, зовнішніх статевих органах та деяких ділянках шкіри.

Біотрансформація тестостерону в печінці та інших тканинах супроводжується утворенням метаболітів із значно зменшеною або відсутньою андрогенною активністю; основними представниками продуктів такого перетворення тестостерону є *17-кето-* (або *17-оксо*) *стероїди* — *андростерон* та *етіохоланолон*.

Біологічні властивості тестостерону полягають у забезпеченні репродуктивної функції чоловічого організму шляхом контролю сперматогенезу та стимуляції розвитку в пубертатний період первинних та вторинних статевих ознак. Крім того, характерною особливістю

біохімічної дії андрогенів (тестостерону, його похідних та синтетичних андрогенів) є виражений *анаболічний ефект*, що проявляється стимуляцією синтезу білка в багатьох тканинах, особливо у м'язах; ця властивість андрогенів використовується при створенні *синтетичних анаболічних препаратів*.

Фізіологічні функції чоловічих статевих залоз знаходяться під контролем гонадотропних гормонів ФСГ та ЛГ: ФСГ стимулює сперматогенний епітелій ячок, а ЛГ (гормон, що стимулює інтерстиціальні клітини — ГСІК) активує синтез та секрецію тестостерону. Концентрація тестостерону в сироватці крові, як і глюкокортикоїду кортизолу, циклічно змінюється протягом доби з максимумом о 7-й-9-й год ранку та мінімумом — о 24 год та 3 год ранку.

Молекулярні механізми дії статевих гормонів, як і кортикостероїдів, полягають у взаємодії відповідного гормону в клітинах-мішенях із специфічним цитозольним рецептором, транслокації комплексу стероїд-рецептор в ядро та стимуляції експресії генів, що контролюють синтез білків, які реалізують фізіологічну функцію даного гормону.

Гормони — регулятори гомеостазу кальцію

Іони Ca^{2+} є інтегральними компонентами багатьох біоструктур та еволюційно прадавніми внутрішньоклітинними месенджерами, що регулюють множинні метаболічні процеси і фізіологічні функції.

Шляхом зміни своєї внутрішньоклітинної концентрації кальцій контролює перебіг життєво важливих біохімічних реакцій і бере участь у реалізації ефектів більшості фізіологічно активних сполук, які спричиняють активацію фізіологічних функцій різноманітних клітин, що дозволило образно назвати цей макроелемент “королем месенджерів” (Н. Rasmussen, В. Goodman, 1977).

Розподіл кальцію в організмі

Загальна кількість кальцію в тілі дорослої людини досягає 1 кг, близько 99 % якого локалізовано в кістках, де кальцій разом із фосфатами утворює кристали *гідроксіапатиту*, що складають основу неорганічної структури скелета. Зовнішньоклітинна концентрація іонів кальцію (Ca^{2+}) є величиною порядку 10^{-3} М, внутрішньоклітинна — 10^{-6} - 10^{-8} М. Всередині клітин Ca^{2+} локалізований (“секвестрований”) переважно в мітохондріях та структурах ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулума; біологічно активні сполуки (гормони, медіатори, лікарські засоби тощо) спричиняють зростання концентрації іону в цитозолі (та активацію фізіологічних функцій клітини) за рахунок його входу ззовні через канали плазматичних мембран та (або) вихід Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо (мобілізація внутрішньоклітинного кальцію).

Концентрація кальцію в плазмі крові є однією з гомеостатичних констант організму людини, складаючи в нормі 2,25-2,85 ммоль/л (Є.М. Нейко, В.І. Боцюрко, 1998). Кальцій у плазмі крові знаходиться у вигляді трьох молекулярних форм:

- в іонізованому вигляді (1,05-1,20 ммоль/л) — біологічно найбільш активний кальцій;-

- у вигляді кальцію, зв'язаного з білками, переважно з сироватковим альбуміном (приблизно половина всього кальцію плазми);

- у вигляді слабо дисоціюючих солей з аніонами органічних та неорганічних кислот, зокрема цитратами, фосфатами тощо (близько 6 % загального вмісту кальцію в плазмі).

Гомеостаз кальцію

Як загальна кількість кальцію в організмі, так і концентрація його іонізованої форми в екстрацелюлярних просторах та всередині клітин, тобто гомеостаз кальцію, визначається функціонуванням таких анатомо-фізіологічних систем:

1. Кісток скелета — резервуара кальцію.

Клітинні елементи кісткової тканини здійснюють не тільки утворення кісток, але й виконують найважливішу функцію контролю кальцієвого гомеостазу в організмі:

а) завдяки діяльності клітин, що утворюють кісткову тканину (*остеобластів*) відбувається як біосинтез компонентів *остеоїду* — органічного матриксу кісткової тканини (містить колаген I типу — близько 90 % всіх білків кісткового матриксу, глікопротеїни та протеоглікани), так і відкладення впродовж колагенових фібрил кристалів гідроксіапатиту кальцію, тобто *мінералізація остеоїду*;

б) завдяки функціонуванню *остеокластів* (похідних моноцитів) — клітин, що здійснюють резорбцію (*resorptio* — лат.) кісткової тканини, відбувається звільнення кальцію, що зв'язаний з органічним матриксом кісток, та вихід Ca^{2+} в кров.

2. Тонкої кишки, у верхніх відділах якої здійснюється всмоктування (абсорбція та реабсорбція) кальцію і фосфатів, які споживаються у складі продуктів харчування або надходять у порожнину кишечника внаслідок звільнення цих іонів у процесі метаболізму.

3. Нирок, уздовж каналців яких відбувається реабсорбція іонів кальцію та фосфатів.

У свою чергу, ефекторна функція кісток, кишечника та нирок відносно обміну та гомеостазу кальцію є об'єктом гуморального контролю з боку трьох фізіологічно активних сполук, які є головними регуляторами кальцієвого балансу в організмі: *паратгормону*, *кальцитріолу* (вітаміну D_3) та *кальцитоніну* (рис. 52).

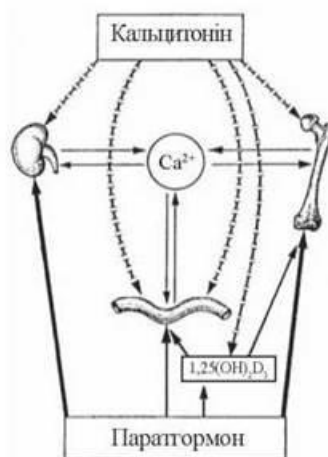


Рис. 52 — Шляхи контролю гомеостазу кальцію з боку паратгормону, кальцитріолу та кальцитоніну. (В.Б. Розен, 1984)

Паратгормон

Паратгормон (паратиреоїдний гормон) — сполука, що синтезується в головних і ацидофільних клітинах паращитовидних залоз.

За хімічною природою є простим білком (м.м. = 9,5 кД), який має один поліпептидний ланцюг, що складається з 84 амінокислотних залишків. Паратгормон синтезується на рибосомах у формі *препропаратгормону* (115 амінокислотних залишків), який підлягає процесингу в ендоплазматичному ретикуліумі та апараті Гольджі з утворенням спочатку *пропаратгормону* (90 амінокислотних залишків), а потім — *паратгормону*.

Паратгормон має *гіперкальціємічний* ефект, водночас зменшуючи концентрацію в крові фосфатів, що є результатом його впливу на обмін цих сполук в таких ефекторних системах:

- у *кістковій тканині* паратгормон стимулює функціональну активність остеокластів, що призводить до резорбції як органічного матриксу, так і неорганічних структур кістки із звільненням кальцію та фосфатів і виходом їх у екстрацелюлярний простір та в кров. Внутрішньоклітинними посередниками в дії паратгормону на остеокласти виступають іони кальцію, які надходять у клітини внаслідок взаємодії гормону з мембранними рецепторами і, після сполучення з кальмодуліном спричиняють активацію синтезу ферментів, що беруть участь у резорбції кісткової тканини.

- в *нирках* паратгормон збільшує реабсорбцію Ca^{2+} в дистальних відділах каналців та, навпаки, пригнічує реабсорбцію фосфатів, що може призводити при аномальному зростанні кількості гормону в організмі (див. нижче) до фосфатурії та гіпофосфатемії;

- в *кишечнику* дія паратгормону призводить до стимуляції всмоктування Ca^{2+} в кров через апікальні мембрани ентероцитів; цей ефект гормону є опосередкованим за рахунок його позитивного впливу на біосинтез кальцитріолу, який є справжнім активатором абсорбції кальцію в кишечнику.

Кальцитріол ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$)

Кальцитріол — сполука гормонального типу дії, що утворюється в організмі з біологічного попередника, яким в організмі людини та вищих тварин є жиророзчинним вітаміном D_3 (*холекальциферол*).

Біологічна функція кальцитріолу полягає в стимуляції всмоктування Ca^{2+} та фосфатів в кишечнику. Кальцитріол є єдиною природною фізіологічно активною сполукою, ефект якої полягає в транспортуванні Ca^{2+} проти концентраційного градієнта, що існує на мембрані ентероцитів; тим самим кальцитріол підтримує фізіологічні концентрації кальцію і фосфатів у плазмі крові, що забезпечує умови для нормальної побудови кісткової тканини.

Молекулярні механізми дії кальцитріолу принципово аналогічні таким для інших стероїдних гормонів: в цитозолі клітин кишечника гормон сполучається з білковим рецептором (м.м. близько 9-10 кД), який (у комплексі з кальцитріолом) транслокується в ядро, де, взаємодіючи з ядерним хроматином, активує експресію генів, що контролюють синтез Са-

зв'язуючих білків. Кальцитріолзалежні Са-зв'язуючі білки ентероцитів і є біохімічними ефекторами, необхідними для транспорту кальцію в кишечнику через апікальні мембрани ентероцитів. В умовах D-авітамінозу — клінічно проявляється, як *рахіт*, Са-зв'язуючі білки в клітинах кишечника відсутні, що визначає комплекс біохімічних та патофізіологічних змін, властивих цій патології.

Біосинтез кальцитріолу

Кальцитріол синтезується із *7-дегідрохолестерину* (продукту дегідрування холестерину) в результаті складної послідовності біохімічних реакцій, що включають міжорганний перенос кров'ю певних молекул-попередників (рис. 53); деяка кількість вітаміну D₃ надходить в організм з продуктами харчування (тваринні жири, печінка риб, жовток курячого яйця тощо).

Як впливає із схеми, що наведена, біосинтез фізіологічно активних похідних вітаміну D₃ включає такі етапи:

1) утворення *вітаміну D₃* (*кальціолу, холекальциферолу*) в шкірі (мальпігієвому шарі епідермісу) з *7-дегідрохолестерину* в результаті неферментативного *фотолізу*, що спричиняється променями ультрафіолетової ділянки сонячного світла;

2) транспорт вітаміну D₃ ендogenous або екзогенного походження (із шкіри або кишечника) в печінку за допомогою *D-зв'язуючого білка крові*;

3) перетворення в гепатоцитах *вітаміну D₃* (*кальціолу*) на кальцидіол (25-OH-D₃); цей процес (*25-гідроксилювання*) відбувається в мембранах ендоплазматичного ретикулула і каталізується (як і інші реакції гідроксилювання стероїдів) специфічною *монооксигеназою* (*мікросомальною оксигеназою мішаної функції*), що є однією з ізоформ цитохрому P-450;

4) 25-OH-D₃, що утворився в печінці, має певні кальційзв'язуючі властивості, але для його повної активації необхідне додаткове гідроксилювання, яке відбувається в нирках, куди *кальцидіол* надходить із гепатоцитів, транспортуючись кров'ю у комплексі з *D-зв'язуючим білком*;

5) перетворення в мітохондріях ниркових каналців *кальцидіолу* (25-OH-D₃) на кальцитріол — 1,25(OH)₂D₃. Процес каталізується *1-гідроксилазою* — ферментним комплексом, до складу якого входять електронотранспортний білок ферредоксин, нирковий флавопротеїн *ферредоксин-редуктаза* та одна з ізоформ цитохрому P-450. У результаті реакції утворюється 1,25(OH)₂D₃ — найбільш біологічно активне похідне вітаміну D₃. Синтез вітаміну D₃ в нирках здійснюється за участю паратгормону, який необхідний для нормального перебігу ферментних реакцій окислювального гідроксилювання.

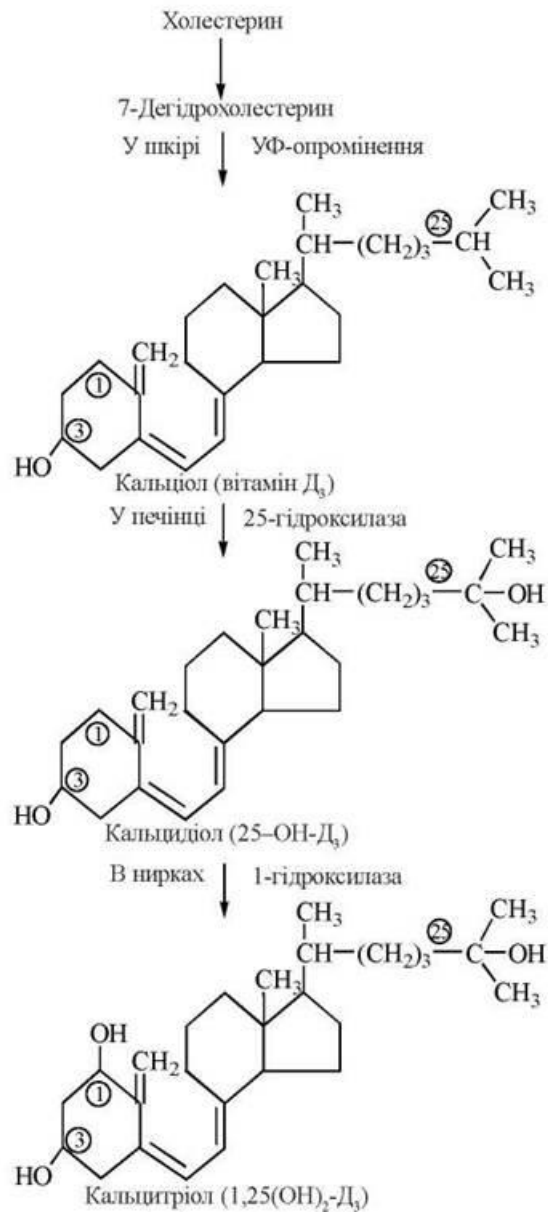


Рис. 53 – Схема біосинтезу кальцитріолу.

Кальцитонін

Кальцитонін — гормон, який синтезується в парафолікулярних (С-клітинах) щитовидної залози. Це поліпептид (м.м. 3 кД), що складається з 32 амінокислотних залишків і синтезується у вигляді *препрокальцитоніну* (м.м. — близько 13 кД), який у результаті посттрансляційного процесингу послідовно перетворюється на *прокальцитонін* і *кальцитонін*.

На відміну від паратгормону та кальцитріолу, кальцитонін є гормоном гіпокальціємічної дії, що зменшує концентрацію в плазмі крові Ca^{2+} та неорганічних фосфатів. Механізм дії кальцитоніну полягає в пригніченні функції остеокластів та зменшенні їх утворення з клітин попередників; у результаті цих клітинних ефектів резорбція як органічної, так і неорганічної складової кісткового матриксу гальмуються, що призводить до зменшення надходження в кров кальцію та фосфатів. Фізіологічним стимулятором секреції кальцитоніну є зростання концентрації Ca^{2+} в плазмі крові.

Порушення кальцієвого гомеостазу

Найбільш поширеними клінічно окресленими порушеннями гомеостазу кальцію є патологічні синдроми, пов'язані з дефіцитом вітаміну D₃ (які проявляються як рахіт у дітей і різні форми *остеопорозу* в дорослому та похилому віці) та захворювання, спричинені первинною патологією паращитовидних залоз — *гіпер-* та *гіпопаратиреоз*.

Рахіт — захворювання дитячого віку, яке спричиняється зменшенням надходженням та (або) синтезом в організмі вітамінів групи D — тваринного D₃ (холекальциферолу) та рослинного D₂(ергокальциферолу). Вірогідність захворювання значно зростає в умовах недостатнього опромінення шкіри дитини сонячним світлом, що є необхідним для утворення вітаміну D₃ з 7-дегідрохолестерину. Основними проявами рахіту є гіпокальціємія та гіпофосфатемія, які призводять до глибоких порушень кальцифікації кісткової тканини та специфічних змін скелета.

Гіперпаратиреоз — група захворювань, розвиток яких пов'язаний із надлишковою секрецією паратгормону, аномальним збільшенням внаслідок цього концентрації кальцію в сироватці крові і гіпофосфатемією. Первинний гіперпаратиреоз — патологія, що спричиняється наявністю в паращитовидних залозах гормонально активних пухлин — аденоми, карциноми або гіперплазією залози. Провідними симптомами захворювань цієї групи є ураження кісткової системи (проявляється демінералізацією кісток — *остеопорозом*) та нирок із розвитком сечокам'яної хвороби (внаслідок відкладання солей та утворення каменів, що складаються з оксалату та фосфату кальцію) і нефрокальцинозу.

Питання для самоконтролю

1. Назвіть стероїдні гормони. Де вони синтезуються і яка їхня функція в обміні речовин?
2. Назвіть гормони, що належать до похідних амінокислот. Де вони утворюються і яка їхня роль?
3. Назвіть біологічні властивості естрогенів, прогестерону.
4. Як проходить розподіл кальцію в організмі
5. Охарактеризуйте паратиреоїдний гормон.
6. Яка біологічна функція кальцитріолу .
7. Як відбувається порушення кальцієвого гомеостазу.

Лекція 22

Розділ VI. Біохімія фізіологічних функцій спеціалізованих тканин. Тема 23.

Біохімія харчування людини. Компоненти харчування. Травлення поживних речовин.

23.1. Компоненти нормального харчування людини

Харчування, тобто постійне надходження в організм з їжею певної кількості поживних сполук, є необхідною передумовою життєдіяльності людини, яка забезпечує нормальний обмін речовин, динамічний стан усіх біомолекул, клітинних та позаклітинних структур.

Компоненти нормального харчування людини

До складу раціону харчування здорової людини повинні входити, насамперед, *поживні сполуки*, що виконують енергетичну, структурну (пластичну) функції або необхідні для функціонування певних ферментних систем, входячи до їх складу.

Поживні сполуки (нутриєнти), що входять як складові компоненти до нормального харчування людини, поділяються на:

- *макрокомпоненти* — вуглеводи, жири, білки;

- *мікрокомпоненти* — вітаміни і неорганічні елементи, що потрібні для життєдіяльності в незначних кількостях (звичайно, менше 1 г/добу).

Вуглеводи, жири (нейтральні жири) та білки, що надходять в організм із їжею, в шлунково-кишковому тракті розщеплюються до глюкози (яка утворюється, в основному, з крохмалю їжі) та деяких інших моносахаридів, гліцеролу, жирних кислот, амінокислот та пептидів, які всмоктуються в травному каналі і надходять у кров. Вуглеводи та жири (і, відповідно, продукти їх травлення) мають енергетичну функцію, забезпечуючи добову потребу організму людини в макроергічних фосфатах (головним чином, АТФ) та відновних еквівалентах. Білки (та амінокислоти, що з них утворюються) також виконують певну енергетичну роль, але більшість амінокислот (переважно, незамінні амінокислоти) використовуються для побудови власних біомолекул та структурних елементів організму. Значну енергетичну цінність має також етанол, що в певних умовах може бути суттєвим компонентом раціону.

Макрокомпоненти їжі — це значною мірою взаємозамінні джерела енергії, необхідної для життєдіяльності людини; їх енергетичну цінність подано в табл. 10.

Таблиця 10 – Енергетична цінність основних поживних сполук харчування людини

Поживні сполуки	Енергетична цінність	
	ккал/г	кДж/г
Вуглеводи	4,1	17,2
Жири	9,3	38,9
Білки	4,2	17,6
Етанол	7,1	29,7

Здорова доросла людина знаходиться в умовах енергетичної рівноваги, тобто споживання енергетичних матеріалів з продуктами харчування повинно дорівнювати витратам енергії в процесах життєдіяльності. У зв'язку з цією обставиною, нормування харчового раціону людини ґрунтується на:

- а) індивідуальних витратах енергії певним організмом;
 б) зазначеній вище енергетичній цінності поживних сполук.

Індивідуальні енергетичні витрати людини визначаються такими фізіологічними факторами:

- *основним обміном*, тобто витратами енергії на підтримання основних фізіологічних функцій організму в умовах спокою;
- *фізичною активністю*, що найбільш суттєво впливає на показники енергетичного обміну; так, зокрема, коливання енерговитрат у стані спокою та максимальної фізичної активності у спортсменів досягають 10-кратних значень;
- *температурою навколишнього середовища*, яка впливає на характер енерговитрат, що спрямовані на зігрівання або охолодження організму.

Рівні енергетичних потреб при помірній фізичній активності та теплового комфорту (і відповідних енерговитрат в умовах енергетичної рівноваги) для чоловіків і жінок, що рекомендовані Науковою радою з їжі та харчування Національної академії наук США (Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, 1980), подано в табл. 11.

Таблиця 11 – Рекомендовані потреби в енергії для дорослих чоловіків і жінок

Стать	Вік, роки	Маса тіла, кг	Енергетичні потреби		
			ккал		кДж
			середні значення	межі коливань	
Чоловіки	23-50	70	2700	(2300-3100)	11300
Жінки	23-50	55	2000	(1600-2400)	8400

Питання для самоконтролю

1. Які чинники зовнішнього середовища впливають на якість харчової сировини?
2. Розкажіть про зміни білків, що відбуваються під час зберігання й переробки рослинної сировини.
3. Як змінюються жири в процесі зберігання?

Лекція 23

23.2 Потреби організму людини і поживних сполуках

Поживні сполуки, що надходять в організм людини з їжею, повинні відповідати зазначеним вище енергетичним потребам та (в разі білків) покривати добові витрати в структурних і каталітичних елементах організму.

Вуглеводи

Вуглеводи є головним джерелом енергії в харчуванні людини. Добова потреба організму здорової людини у вуглеводах дорівнює в середньому 450-500 г. Враховуючи енергетичну цінність вуглеводів (табл. 26.1), така кількість вуглеводів відповідає приблизно 70 (65-75) % потреб у добовій калорійності продуктів харчування.

Оскільки вуглеводи є основним енергетичним джерелом у харчуванні, добова потреба в них прямо пропорційна фізичній активності людини, складаючи для дорослих людей (за Ф.Ф. Боєчко, Л.О. Боєчко, 1993):

- при розумовій праці — 430 г;
- при фізичній праці:
 - легкій — 490 г,
 - середній — 560 г,
 - важкій — 630 г.

Головним джерелом вуглеводів для організму людини є крохмаль рослинних продуктів (400-450 г/добу). Зерна пшениці, жита, рису, кукурудзи містять 60-80 % крохмалю, бульба картоплі — 15-20 %. Джерелами харчового цукру, який складається переважно із сахарози, є цукровий буряк та цукрова тростина. Рекомендована добова норма харчового цукру для дорослої людини складає близько 50 г, хоча реальні величини його споживання коливаються від 20 до 100 і більше г/добу, залежно від харчових звичок та соціально-економічного стану населення.

Харчові волокна — складаються з полісахаридів — компонентів стінок та екстрацелюлярного матриксу рослинних клітин, що потрапляють до організму людини з фруктами і овочами і не розщеплюються ферментами шлунково-кишкового каналу. До складу харчових волокон входять целюлоза, геміцелюлоза, лігніни, смоли, пектини, пентозани.

У жуйних тварин целюлоза харчових волокон розщеплюється ферментами мікроорганізмів і складає головне джерело метаболічної енергії. Організм людини не містить ферментів, необхідних для перетравлювання зазначених речовин; проте, харчові волокна відіграють значну позитивну роль у фізіології травлення. Вони стимулюють моторну функцію кишечника, сприяють затримці води в товстій кишці і формуванню фекальних мас, адсорбують надлишок холестерину і жовчних кислот, ендогенні та екзогенні токсичні речовини, обмежують приріст аліментарної глюкози в крові після їжі, що має терапевтичне значення в харчуванні хворих на атеросклероз і цукровий діабет.

Важливим фактором раціонального харчування є збалансованість окремих видів вуглеводів у добовому раціоні, які повинні складати (в середньому, відносно загальної маси

харчових вуглеводів): полісахариди (крохмаль) — 75 %, цукор (буряковий, тростинний) — 20 %, пектинові речовини — 3 %, клітковина — 2 %.

В умовах нормального раціону харчування близько 75 % вуглеводів, які надходять в організм, окислюються до кінцевих продуктів — діоксиду вуглецю та води, що становить головне джерело утворення АТФ, 20-25 % перетворюються в жири і 2-5 % депонуються у вигляді глікогену. Надмірне споживання вуглеводів, що перевищує безпосередні енергетичні потреби організму, супроводжується активацією ліпогенезу, тобто перетворенням надлишку глюкози та фруктози через ацетил-КоА в жирні кислоти і тригліцериди та холестерин. Із кожних 100 г надлишкових вуглеводів, особливо тих, що надходять в організм у вигляді сахарози — головного компонента харчового цукру синтезується близько 30 г жирів.

Перевищення фізіологічних потреб у простих вуглеводах, зокрема харчовому цукрі, є одним із факторів ризику розвитку таких хвороб, як атеросклероз, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, ожиріння. Разом з тим, споживання цукру (здебільшого у вигляді бурякового та тростинного цукрів, що складаються переважно з сахарози) в економічно розвинених країнах постійно збільшується. У зв'язку з цим, все більшого значення набуває використання харчових замінників цукру, що мають високу солодкість: сахарину, *аспартаму* (метилату L-аспартил- L-фенілаланіну) та рослинного білка *монеліну*. Солодкості (в умовних одиницях) природних цукрів та цукрозамінників відносяться як: сахароза : глюкоза : фруктоза : лактоза : сахарин : аспартам : монелін = 1,0 : 0,5 : 1,7 : 0,2 : 400 : 180 : 2 000.

Ліпіди (жири)

Нейтральні жири (жири) — друге за вуглеводами джерело енергії в харчовому раціоні людини, яке отримують, в основному, з тваринними продуктами харчування. Потреба в харчових жирах складає в середньому 60-90 г/добу, що забезпечує близько 30 (від 25 до 35) % потреб у добовій калорійності для дорослої людини.

В умовах звичайного харчування змішаною (тваринною та рослинною) їжею нейтральні жири (триацилгліцероли) складають найбільшу частину (більше 90 %) із сумарної кількості ліпідів, що містяться в продуктах харчування. З їжею людина отримує також декілька грамів складних ліпідів і близько 0,5 г холестерину (в складі тваринних ліпідів).

Крім тваринних жирів, які мають, переважно, енергетичну цінність, людина повинна одержувати 20-25 г рослинних жирів, в тому числі 2-6 г незамінних поліненасичених жирних кислот — лінолевої та ліноленової (А.А. Покровский, 1974), що служать попередниками у синтезі біологічно активних ейкозаноїдів. Незамінні жирні кислоти в значній кількості містяться у жирах рослинного походження, а також у рибі та птиці; вміст цих сполук в інших м'ясних та молочних продуктах значно нижчий. Достатнє споживання жирів із високим вмістом поліненасичених жирних кислот розглядається в наш час як важлива передумова профілактики атеросклерозу, ішемічної хвороби серця та порушень мозкового кровообігу у населення промислово розвинених країн. Середній жирнокислотний склад найбільш поширених харчових жирів подано в табл. 12:

Таблиця 12 – Вміст насичених та ненасичених жирних кислот (% від загального вмісту) у поширених тваринних і рослинних жирах

Харчовий жир	Насичені жирні кислоти	Ненасичені жирні кислоти		
		мононенасичені	поліненасичені	сума
Вершкове масло	60	36	4	40
Свиний жир	59	39	2	41
Яловичий жир	52	45	3	48
Курячий жир	38	44	18	62
Соєва олія	14	34	52	86
Кукурудзяна олія	15	31	54	85

Білки

Білки — поживні речовини, які мають насамперед пластичну цінність для організму людини; амінокислоти, що входять до їх складу, є джерелом для побудови клітинних та тканинних білків власних біоструктур — рис. 26.1. Енергетичне значення білків в умовах нормального харчування невелике; при достатній забезпеченості вуглеводами та жирами безазотисті залишки амінокислот використовуються в загальному пулі метаболічного палива незначною мірою.

Для визначення потреби організму людини в білках користуються поняттям *азотистої рівноваги*, яка визначається як стан, при якому кількість азоту, що надходить в організм (в основному, у складі білкових компонентів продуктів харчування) дорівнює кількості азоту, що виділяється з організму (головним чином, у вигляді сечовини та солей амонію). В умовах фізіологічного спокою та відсутності фізичного навантаження азотиста рівновага встановлюється за умов надходження до організму близько 23 г білків. Але враховуючи різну біологічну цінність білків змішаного раціону харчування в реальних умовах існування, істинні потреби людини в білках значно вищі.

Реальна добова потреба в білках залежить від віку, статі людини та біологічної цінності білків, становлячи в середньому (за R. Berkow (Ed.): The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 1992):

- для чоловіків:

віком 19-24 роки — 58 г;

віком 25-50 років — 63 г;

- для жінок:

віком 19-24 роки — 46 г;

віком 25-50 років — 50 г.

Біологічна цінність білків залежить від таких факторів:

а) амінокислотного складу білків, що входять до складу продуктів харчування;

б) здатності організму людини, зокрема ферментних систем травного каналу, засвоювати певні білки.

Амінокислотний склад харчового білка є визначальним фактором у спроможності організму людини до його засвоєння. Серед двадцяти L-амінокислот, що входять до складу природних білків, ферментні системи людського організму здатні синтезувати *de novo* з інших інтермедіатів у достатній кількості лише вісім амінокислот, а саме: *аланін, аспарагінову кислоту, аспарагін, глутамінову кислоту, глутамін, пролін, гліцин, серин*.

Решта амінокислот ферментними системами організму людини не синтезуються — так звані *незамінні амінокислоти*, до яких належать: *валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, фенілаланін, триптофан, лізин*. Дві амінокислоти (аргінін, гістидин) синтезуються в організмі у недостатній кількості — *частково замінні амінокислоти*. Організм людини залежить від постійного надходження цих десяти амінокислот у складі харчових білків — при відсутності хоча б однієї з незамінних амінокислот синтез білка припиняється. Рекомендовані такі добові потреби в незамінних амінокислотах для молодих дорослих людей — чоловіків (А. Ленінджер, 1985):

Валін — 1,50 г

Лейцин — 2,02 г

Ізолейцин — 1,30 г

Треонін — 0,91 г

Метіонін — 2,02 г

Фенілаланін — 2,02 г

Триптофан — 0,46 г

Лізин — 1,50 г.

Крім амінокислотного складу, біологічна цінність білків залежить також від здатності до їх перетравлення ферментами шлунково-кишкового тракту з утворенням вільних амінокислот, що утилізуються клітинами. Білки тваринного походження, порівняно з рослинними, містять більше незамінних амінокислот та легше (за винятком деяких структурних білків) гідролізуються протеазами шлунка й кишечника.

Якщо прийняти біологічну цінність умовного білка, що повністю засвоюється в організмі людини, за 100, то біологічну цінність сумарних білків деяких найпоширеніших продуктів харчування можна розмістити в такий ряд:

умовний білок (100) > білки жіночого молока (95) > білки яловичини (93) > білки курячих яєць (87) > білки коров'ячого молока (81) > білки очищеного рису (63) > білки кукурудзи (36) > білки білого хлібу (30).

Раціональне харчування

Розглянуті норми потреби організму здорової людини в поживних речовинах є передумовою *раціонального харчування*. Проте, реальна структура харчування людей значною мірою залежить від соціальних умов, зокрема економічного стану населення, та

етнонаціональних і релігійних факторів. Зазначений вище високий відсоток вуглеводів у добовому раціоні (близько 70 %, а в деяких країнах — до 90 % калорійності) відповідає умовам харчування приблизно 80 % населення земної кулі, яке споживає переважно рослинну їжу. В харчуванні населення економічно високорозвинених країн частка вуглеводів значно менша (близько 45 % добової калорійності), і більшу частину раціону займають високопоживні білки м'яса та молока.

Згідно з рекомендаціями Національної академії наук США, *оптимальне співвідношення внесків окремих поживних речовин у добову калорійність харчового раціону повинно складати*: вуглеводів — 58 % (крохмаль — 48 %, цукор — 10 %), жирів — 30 % (в тому числі по 10 % — насичених, мононенасичених та поліненасичених), білків — 12 %. Біохімічний склад найбільш поширених продуктів харчування подано в табл. 13.

Таблиця 13 – Середній вміст поживних речовин у поширених продуктах харчування (% маси продукту)

Продукти харчування	Білки	Вуглводи	Ліпіди (жири)
М'ясо (яловичина)	16-25	1-2	10-20
Риба	15-25	до 1	1-5
Яйця курячі	11-14	1	12
Печінка	20	4-5	3-5
Хліб	6-8	50	1-3
Картопля	2	20	до 1

Необхідною умовою раціонального харчування є також збалансованість у надходженні в складі їжі вітамінів та життєво необхідних мінеральних елементів, з цієї точки зору надзвичайно важливим продуктом харчування, особливо для дитячого організму, є молоко, яке містить значну кількість поживних речовин, необхідних для перебігу метаболізму вітамінів та мікроелементів.

Питання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте будову харчових волокон.
2. Яка біологічна цінність білків.
3. Що таке раціональне харчування?
4. Перечисліть необхідні умови раціонального харчування.

Лекція 24

Тема 24. Біохімія харчування людини.

Вітаміни як компонент харчування.

24.1. Вітаміни як компоненти харчування людини, хвороби вітамінної недостатності

Вітаміни — біоорганічні сполуки, що є життєво необхідними компонентами обміну речовин; на відміну від інших біомолекул, вітаміни не синтезуються в організмі людини, а надходять з компонентами харчування. На відзнаку від таких поживних речовин, як вуглеводи, ліпіди та білки, вітаміни належать до *мікрокомпонентів* харчування, їх добові потреби для людини складають міліграмові або мікрограмові кількості.

Відкриття вітамінів пов'язано з розробками багатьох дослідників — лікарів, біохіміків, фізіологів, які встановили наявність у продуктах харчування певних сполук, що необхідні для нормальної життєдіяльності — “додаткових факторів харчування”. Специфічні хвороби, пов'язані з порушеннями в харчуванні — *цинга (скорбут), бері-бері, пелагра, рахіт* (“англійська хвороба”), *гемералопія* (“куряча сліпота”) були відомі людству протягом століть. Першим вітаміном, щодо якого було доведено значення як необхідного фактора харчування, був тіамін (вітамін В₁), отриманий у 1911 р. польським дослідником К. Функом з рисових висівок. Сполука, виділена К. Функом, попереджала розвиток бері-бері (поліневриту, спричиненого тривалим споживанням полірованого рису) і містила в своїй структурі аміногрупу, що стало основою запропонованого для всіх додаткових факторів харчування терміна “вітаміни” (vitaminum — амін життя; лат.).



Рис. 54 – Функ (Funk) Казимеж (1884-1967), польський біохімік, працював в різних країнах Європи, США. Один із засновників вчення про вітаміни.

Класифікація вітамінів

Враховуючи, що відкриття перших препаратів вітамінів значно передувало розшифровці їх хімічної структури, історично склалися емпіричні назви (номенклатура) вітамінів, що містять велику літеру латинського алфавіту з цифровим індексом; у сучасних назвах вітамінів вказують також їх хімічну природу та, в деяких випадках, — основний біологічний ефект із префіксом “анти-”.

Залежно від фізико-хімічних властивостей (розчинності у воді або в ліпідах) вітаміни поділяють на дві великі групи: водорозчинні та жиророзчинні.

Водорозчинні вітаміни

Вітамін В (тіамін; антиневритний вітамін).

Вітамін В₂ (рибофлавін).

Вітамін РР (вітамін В₅; ніацин; антипелагричний вітамін).

Вітамін В₆ (піридоксин; антидерматитний вітамін).

Вітамін В₁₂ (кобаламін; антианемічний вітамін).

Фолієва кислота (птероїлглутамат; антианемічний вітамін).

Вітамін Н (біотин; антисеборейний вітамін).

Пантотенова кислота (вітамін В₃; антидерматитний вітамін).

Вітамін С (аскорбінова кислота).

Вітамін Р (вітамін проникності).

Жиророзчинні вітаміни

Вітамін А (ретинол; аксерофтол; вітамін росту).

Вітамін К (філохінон; антигеморагічний вітамін).

Вітамін Е (α -токоферол; вітамін розмноження).

Вітамін F (комплекс поліненасичених жирних кислот).

Вітамін D (кальциферол; антирахітний вітамін).

Вітамінна недостатність — стан, що розвивається внаслідок зменшення (або відсутності) певного вітаміну в організмі. Вітамінна недостатність супроводжується важкими розладами біохімічних і фізіологічних процесів і виникненням специфічної патології.

Розрізняють *гіповітамінози* та *авітамінози* — патологічні стани, для яких властивими є, відповідно, відносна або повна недостатність вітаміну в тканинах. Основними причинами виникнення станів вітамінної недостатності (гіпо- та авітамінозів) є:

1. Зменшення (або відсутність) надходження певного вітаміну в організм у складі продуктів харчування (внаслідок нераціональної дієти або неправильної кулінарної обробки харчових продуктів); такі стани отримали назву *екзогенних гіпо-(а-)вітамінозів*.

2. Порушення засвоєння певних вітамінів клітинами організму (внаслідок розладів їх всмоктування в травному тракті або неспроможності біохімічних систем організму включати вітамін в обмінні процеси, зокрема внаслідок наявності їх структурних конкурентів — *антивітамінів*) — *ендогенні гіпо-(а-)вітамінози*.

3. Збільшене виведення вітамінів в організму або підвищена його утилізація в біохімічних та фізіологічних процесах (ситуації, що можуть мати місце при лактації, вагітності, виснажливій фізичній праці, знаходженні людини в екстремальних температурних умовах, при тяжких інфекційних хворобах тощо).

В умовах гіпо- та авітамінозів виникають глибокі порушення певних метаболічних процесів та клітинних функцій, в яких беруть участь вітаміни як специфічні біомолекули. За механізмом дії вітаміни є коферментами складних ферментів (або беруть участь у синтезі коферментів як їх складові компоненти), входять до складу біомембран, виконують певні регуляторні функції на рівні окремих клітинних структур та цілого організму.

Питання для самоконтролю

1. Що таке вітаміни, як їх класифікують?

2. Що означають поняття «гіповітаміноз», «авітаміноз», «гіпервітаміноз»?

3. Які речовини мають антивітамінну дію?
4. Розкажіть про біологічну роль вітаміну групи В, їх хімічну будову, добову потребу і харчові джерела.
5. У яких біохімічних реакціях бере участь аскорбінова кислота? Які її хімічна будова, добова потреба і харчові джерела?

Лекція 25

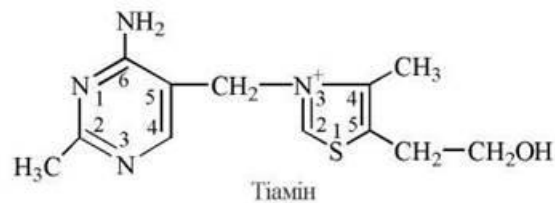
24.2 Коферментні вітаміни. Аскорбінова кислота та біофлавоноїди

Вітаміни, що належать до цього класу, є кристалічними сполуками, добре розчинними у воді та інших полярних розчинниках. Механізми біохімічної дії більшості водорозчинних вітамінів (за виключенням вітамінів С та Р) полягають у їх використанні в побудові коферментів, які каталізують у складі ферментних білків важливі метаболічні реакції — *коферментна функція* вітамінів.

Вітамін В₁

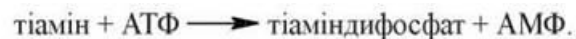
Хімічна будова

Вітамін В₁ (*тіамін*) за хімічною будовою є продуктом конденсації двох гетероциклічних сполук — похідного піримідину (2-метил-5-гідроксиметил-6-амінопіримідину) та тіазолу (4-метил-5-гідроксietилтіазолу):



Біологічні властивості та механізм дії

Біологічна активність вітаміну В₁ полягає в участі в енергетичному, зокрема вуглеводному, обміні. Біохімічний механізм дії вітаміну зумовлений його *коферментною формою* — тіаміндифосфатом (ТДФ) (“кокарбоксилазою”), який утворюється в результаті фосфорилування вільного тіаміну за участю ферменту *тіамінфосфокінази*:



Коферментні функції ТДФ пов’язані з каталізом таких біохімічних реакцій:

- окислювальне декарбоксилювання пірувату (як компонент мультиензимного піруватдегідрогеназного комплексу);
- окислювальне декарбоксилювання α -кетоглутарату в циклі Кребса (як компонент α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу);
- транскетолазні реакції пентозофосфатного шляху окислення глюкози (як кофермент транскетолази).

Згідно із вищерозглянутою роллю в перебігу ключових реакцій аеробного обміну вуглеводів, характерним біохімічним проявом недостатності вітаміну В₁ є накопичення в крові

та внутрішніх тканинах надлишкового (неокисленого) пірувату. Клінічно недостатність тіаміну проявляється розвитком уражень периферичної нервової системи (поліневропатії, поліневриту аж до розвитку атрофічного паралічу кінцівок), виражених порушень з боку міокарда, секреторної та моторної функцій шлунка. Класична форма авітамінозу В₁ — захворювання *бери-бери* — спостерігалася у населення Південно-Східної Азії в умовах тривалого харчування полірованим рисом, позбавленим тіаміну, що міститься в зовнішній оболонці зернини.

Джерела та добова потреба

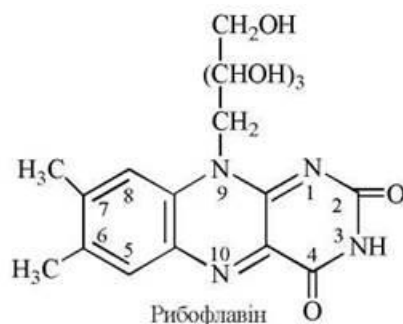
Основними джерелами вітаміну В₁ у харчуванні людини є продукти рослинного походження, зокрема хліб (переважно житній, з борошна грубого помолу), крупи (гречана, вівсяна); багаті на тіамін (та інші вітаміни групи В) пивні дріжджі.

Добова потреба в тіаміні складає 1,5-2,0 мг* [1,5 мг]**.

Вітамін В₂

Хімічна будова

За хімічною будовою вітамін В₂ (*рибофлавін*) є похідним трициклічної сполуки ізоалоксазину та спирту рибітолу — 6,7-диметил-9-рибітилізоалоксазин:



Біологічні властивості та механізм дії

Біологічні функції вітаміну В₂ полягають у його участі в окислювально-відновлювальних реакціях. *Коферментними формами* рибофлавіну є ФАД (флавінаденіндинуклеотид) та ФМН (флавінмононуклеотид) — простетичні групи багатьох анаеробних та аеробних дегідрогеназ та оксидаз, що беруть участь в окисленні численних інтермедіатів вуглеводного, ліпідного та амінокислотного обміну.

Джерела та добова потреба

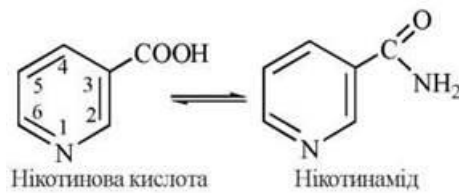
Рибофлавін міститься в багатьох продуктах рослинного та тваринного походження, тому в умовах звичайного мішаного харчування людина отримує необхідну для нормальної життєдіяльності кількість вітаміну.

Добова потреба в рибофлавіні складає 2,0-2,5 мг* [1,7 мг]**.

Вітамін РР (вітамін В₅)

Хімічна будова

Властивості вітаміну РР (*ніацину*) мають нікотинова кислота (піридин-3-карбонова кислота) та її амід, які є в організмі взаємно перетворюваними молекулярними формами:



Біологічні властивості та механізм дії

Вітамін РР є необхідним фактором для перебігу багатьох біохімічних реакцій, пов'язаних із окисненням субстратів вуглеводного, ліпідного, амінокислотного та інших видів метаболізму.

Коферментними формами вітаміну РР є коферменти анаеробних дегідрогеназ НАД (нікотинамідаденіндинуклеотид) та НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат), до складу яких входить амід нікотинової кислоти.

Недостатність вітаміну РР проявляється характерними патологічними змінами шкіри, особливо вираженими в умовах її сонячного опромінення. *Дерматит*, специфічний для цього гіпо- (а-) вітамінозу, отримав назву “пелагри” (pelle agra — шершава шкіра; італ.); для пелагри властиві також патологічні зміни слизової оболонки ротової порожнини та кишечника з наявністю важкої *діареї*; при тривалому перебігу захворювання (починаючи з раннього дитячого віку) можливий розвиток розумового відставання (*деменції*). Введення препаратів нікотинової кислоти або нікотинаміду протидіє симптомам авітамінозу (звідси назва — Pellagra Preventing vitamin; англ.). Вперше хвороба була виявлена у жителів країн Середньоземноморського узбережжя в умовах харчування продуктами з кукурудзи, які містять недостатню кількість як вільного ніацину, так і триптофану, з якого може синтезуватися певна кількість нікотинаміду. Випадки пелагри спостерігалися внаслідок недостатнього харчування в'язнів в умовах концентраційних таборів.

Джерела та добова потреба

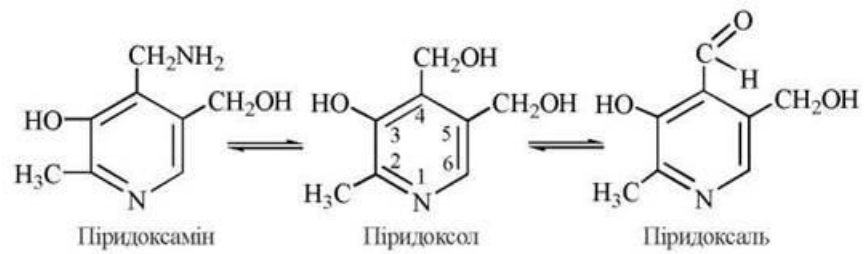
Нікотинова кислота та нікотинамід містяться в достатній кількості у складі поширених продуктів харчування рослинного та тваринного походження (хлібові, круп'яних виробах, овочах, м'ясних продуктах).

Добова потреба у вітаміні РР складає 15-25 мг* [19 мг]**; еквівалентними 1 мг ніацину є 60 мг триптофану.

Вітамін В₆

Хімічна будова

Терміном *піридоксин* об'єднують три близькі за дією та взаємно перетворювані в біологічних тканинах сполуки: піридоксол (2-метил-3-окси-4,5-діоксиметилпіридин), піридоксаль та піридоксамін:



Біологічні властивості та механізм дії

Біологічна дія вітаміну В₆ пов'язана з участю в реакціях амінокислотного обміну. Його *коферментними формами* є піридоксальфосфат (ПАЛФ) та піридоксамінфосфат (ПАМФ), що беруть участь у каталітичних циклах таких ферментних реакцій:

- реакцій трансамінування у складі ферментів *аміотрансфераз* (коферментну функцію виконують ПАЛФ та ПАМФ, що взаємно перетворюються в ході акту каталізу);
- реакцій декарбоксілювання у складі ферментів *декарбоксилаз* амінокислот (коферментну функцію виконує ПАЛФ);
- перетворення триптофану кінуреніновим шляхом з утворенням нікотинаміду НАД (в метаболічному шляху бере участь ПАЛФ-залежний фермент *кінуреніназа*);
- біосинтезі гему (ПАЛФ є коферментом *δ-амінолевулінатсинтази* — ферменту, що каталізує утворення δ-амінолевуліату, першого метаболіту цього синтетичного шляху).

Прояви недостатності піридоксину найчастіше спостерігаються в дитячому віці за умов харчування синтетичними сумішами, не збалансованими за вмістом цього вітаміну, і проявлятися пелагроподібним дерматитом, судомами, анемією. Вважають, що розвиток судом може бути пов'язаним з дефіцитом утворення в нервовій системі гальмівного медіатора ГАМК внаслідок недостатньої активності ПАЛФ-залежної *глутаматдекарбоксилази*.

Стан недостатності вітаміну В₆ може бути також спричиненим тривалим застосуванням протитуберкульозних засобів — похідних ізонікотинової кислоти (*Ізоніазид* тощо), що є структурними аналогами піридоксину і можуть виступати як його *антивітамін*.

Джерела та добова потреба

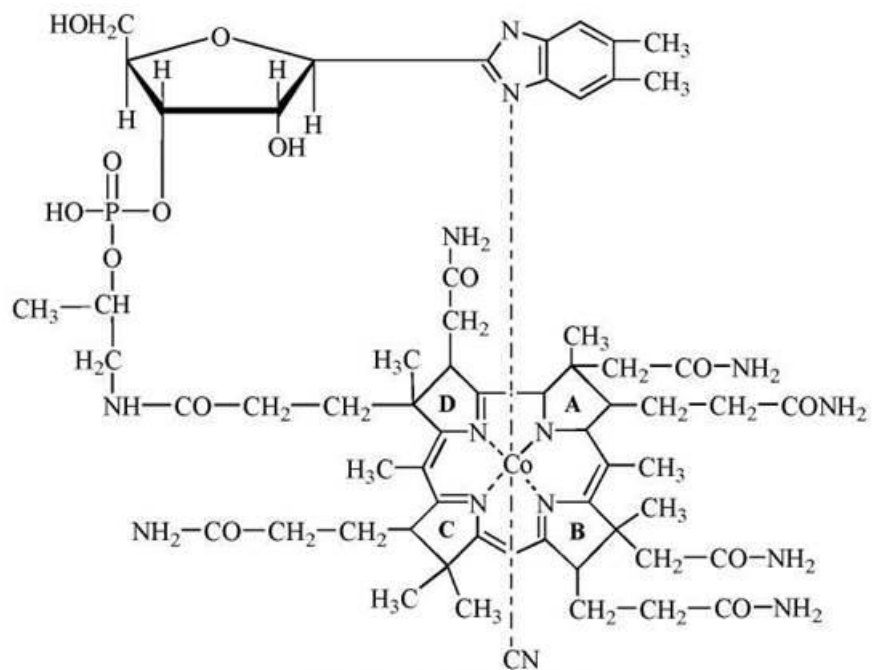
Потреби у вітаміні В₆ людина покриває за рахунок його споживання з такими поширеними продуктами харчування, як хліб, картопля, круп'яні вироби, м'ясо, печінка тощо; частково потреби в цьому вітаміні задовольняються за рахунок синтезу його мікрофлорою кишечника.

Добова потреба в піридоксині складає 2-3 мг* [2 мг]**.

Вітамін В₁₂

Хімічна будова

Вітамін В₁₂ (*кобаламін*) за хімічною будовою належить до класу *кориноїдів*; його молекула складається з двох частин — кобальтвмісної порфіриноподібної (хромофорної) та нуклеотидної структур:



Вітамін B₁₂ (ціанкобаламін)

Атом Co⁺, що міститься в центрі ядра хромофорної структури, в комерційних препаратах вітаміну B₁₂ сполучений із ціанідною групою (*ціанкобаламін*). У разі заміщення ціаногрупи на інші радикали утворюються такі похідні вітаміну B₁₂, як *гідроксикобаламін* (вітамін B_{12B}), *нітрокобаламін* (вітамін B_{12C}); в організмі людини синтезуються *коферментні форми* вітаміну — *метилкобаламін* (міститься в цитоплазмі) і *5-дезоксиаденозилкобаламін* (мітохондріальна форма коферменту).

Біологічні властивості та механізм дії

Коферментні форми вітаміну B₁₂ беруть участь в каталізі біохімічних реакцій такими ферментами:

- *метилмалоніл-КоА-мутаза* (ферментом, що каталізує реакцію перетворення метилмалоніл-КоА на сукциніл-КоА); коферментом є 5-дезоксиаденозилкобаламін (механізм реакції розглянутий у главі 18). Реакція має значення для метаболізму метилмалоніл-КоА, що утворюється при розщепленні амінокислот із розгалуженими ланцюгами — L-валіну, L-лейцину, L-ізолейцину та β-окисленні жирних кислот з непарною кількістю вуглецевих атомів;
- *гомоцистеїн-метилтрансфераза* (в реакції синтезу метіоніну з гомоцистеїну); коферментом є метилкобаламін, що переносить метильну групу на гомоцистеїн з N⁵-метилтетрагідрофолату. Біохімічне значення реакції полягає в продукуванні метіоніну, який є головним донором метильних груп у реакціях синтезу фізіологічно активних сполук, метилюванні нуклеотидів нуклеїнових кислоти тощо.

Недостатність у вітаміні B₁₂ (*хвороба Адисона-Бірмера*; *злякисна*, або *перніціозна анемія*) може розвиватися за механізмом *ендогенного гіпо-(а-) вітамінозу* внаслідок порушення всмоктування кобаламіну в шлунково-кишковому тракті. Патологія спричиняється відсутністю синтезу в шлунку глікопротеїну *транскорину* (так званого “внутрішнього фактора Касла”), що є транспортером “зовнішнього фактора Касла” (тобто вітаміну B₁₂) через слизову оболонку тонкої кишки; тканинне депо вітаміну створюється в печінці.

Біохімічною основою розвитку злоякісної вітаміну В₁₂-залежної анемії є порушення біосинтезу нуклеїнових кислот і білків, що проявляється насамперед у тканинах з інтенсивною клітинною проліферацією, до яких належить кровотворна тканина. Ця форма анемії характеризується значним зменшенням кількості еритроцитів (до 1,5-2·10¹²/л при нормі 5·10¹²/л) при збільшенні їх об'єму і зміні форми клітин (макроцитарна, мегалобластична анемія); характерними симптомами хвороби є також порушення з боку периферичної нервової системи внаслідок демієлінізації нервових стовбурів (фунікулярний мієлоз), хейліт та глосит ("полірований" кінчик язика). Захворювання розвивається як наслідок атрофічного гастриту, раку шлунка, гастректомії, інвазії гельмінтом лентецем широким (*Diphyllobothrium latum*).

Джерела та добова потреба

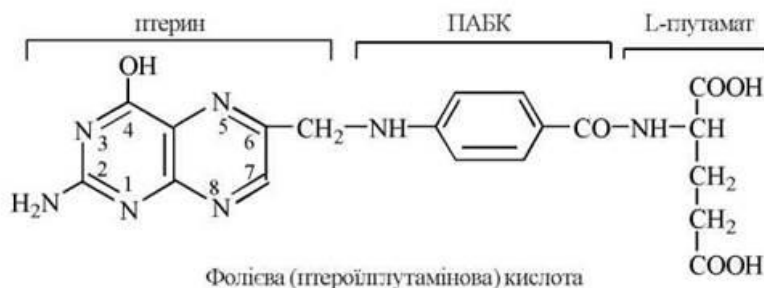
Потреби організму людини у вітаміні В₁₂ значною мірою забезпечуються за рахунок синтезу його мікрофлорою товстої кишки; крім того, кобаламін міститься в достатній кількості в тваринній їжі — найбільш багатим джерелом вітаміну В₁₂ є печінка, яка містить до 100 мг вітаміну/100 г продукту.

Добова потреба у вітаміні В₁₂ складає 2-5 мкг* [2 мкг]**.

Фолієва кислота

Хімічна будова

Фолієва кислота (ФК; фолацин; інші назви: Вітаміну В_с, В_м, В₉, В₁₁) є за хімічною природою похідним *птеринів* — птероїлглутаміновою кислотою, що містить у складі молекули сполучені з похідним птеридину (птерином) фрагменти п-амінобензойної кислоти (ПАБК) та L-глутамату:



Біологічні властивості та механізм дії

Коферментною формою фолієвої кислоти є її гідроване похідне 5,6,7,8-тетрагідрофолієва кислота (ТГФК). Коферментні функції ТГФК полягають у міжмолекулярному переносі одновуглецевих фрагментів (метильного, метиленового, метенільного, оксиметильного, формільного, форміміно), що використовуються в багатьох реакціях обміну амінокислот, синтезі нуклеотидів (тимідилату ДНК, пуринових ядер ДНК та РНК), фізіологічно активних сполук.

Фолієва кислота біохімічно пов'язана з обміном та функціями вітаміну В₁₂, а саме:

- ТГФК (у вигляді N⁵-метилтетрагідрофолату) разом із вітаміном В₁₂ (метилкобаламіном) беруть участь у реакції синтезу метіоніну (гомоцистеїнметил- трансферазна реакція — див. вище); фізіологічне значення процесу полягає в утворенні метіоніну — донора метильних груп

у метилюванні нуклеотидів нуклеїнових кислот (ДНК та певних класів РНК), синтезі холіну, креатину тощо;

- хвороби недостатності обох вітамінів часто перебігають сумісно і мають близьку клінічну картину. Класичним проявом авітамінозу ФК є захворювання “спру”, що характеризується макроцитарною анемією та пінистими проносами (spruw — піна; голандськ.); захворювання розвивається внаслідок споживання раціону, збідненого білками, що призводить до порушення як синтезу мікроорганізмами фолієвої кислоти, так і (в подальшому) засвоєння вітаміну В₁₂.

Джерела та добова потреба

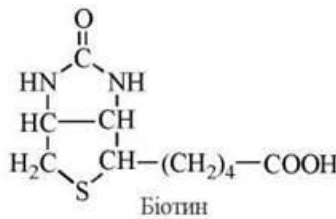
Найбільш багатими природними джерелами фолієвої кислоти є листя зелених рослин, в яких вона синтезується (звідси назва вітаміну: folium — листя; лат.). Потреби людини у вітаміні забезпечуються за рахунок синтезу його мікрофлорою кишечника, а також споживання рослинної та тваринної їжі; значна кількість ФК міститься в печінці та дріжджах. До розвитку недостатності вітаміну може призводити дисбактеріоз, спричинений тривалим прийомом сульфаніламідних препаратів, які, виступаючи структурними аналогами ПАБК (компонента молекули птероїлглутамінової кислоти), блокують утворення в бактеріальних клітинах ФК, необхідної для синтезу власних нуклеїнових кислот мікроорганізмів.

Добова потреба у фолієвій кислоті становить 200-400 мкг* [200 мкг]**.

Вітамін Н

Хімічна будова

За будовою молекули вітамін Н (*біотин*) є продуктом конденсації сечовини та тіофенвалер'янової кислоти; його хімічна назва: 2-кето-3,4-імідазолідо-2-тетрагідротіофенвалер'янова кислота:



Біологічні властивості та механізм дії

Емпірична назва вітаміну — *біотин* — склалася історично і свідчить про його необхідність для процесів життєдіяльності (bios — життя; грецьк.). Коферментну функцію виконує біотин, що сполучений за типом протетичної групи (через ε-аміногрупу лізинового залишку білка) з ферментами карбоксилювання.

Акцептуючи діоксид вуглецю (CO₂) з утворенням *карбоксибіотину*, вітамін Н бере участь у таких біохімічних реакціях:

- біосинтезі жирних кислот (карбоксилювання у складі ферменту *ацетил-КоА-карбоксилази* ацетил-КоА до малоніл-КоА);

- перетворенні пірувату в оксалоацетат у ході реакцій гліюконеогенезу (у складі *піруваткарбоксилази*);

- реакціях карбоксилювання при біосинтезі ядра пуринових нуклеотидів.

Недостатність вітаміну Н у людини проявляється рідко у зв'язку з біосинтезом

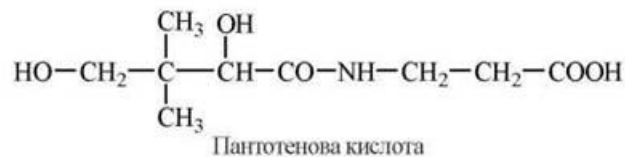
біотину кишковими мікроорганізмами та його наявністю у більшості продуктів харчування рослинного та тваринного походження. Прояви вітамінної недостатності можуть розвиватися за умов порушення функціонування нормальної мікрофлори кишечника (нераціональне використання сульфаніламідів та антибіотиків) і проявляються патологічними змінами шкіри за типом *себореї*, що отримало відображення в назві вітаміну (haut — шкіра; нім.). В експерименті на щурах прояви авітамінозу Н спостерігаються за умов тривалого витримування тварин на раціоні з надлишком сирого ячного білка, який містить білок *авідин*, що протидіє нормальному всмоктуванню вітаміну.

Добова потреба в біотині складає 150-300 мкг*.

Пантотенова кислота (вітамін В₃)

Хімічна будова

Молекула *пантотенової кислоти* — це сполучення β-аланіну з похідним масляної кислоти — α,γ-дигідрокси-β,β'-диметилбутирил-β-аланіном:



Біологічні властивості та механізм дії

В організмі пантотенова кислота використовується для синтезу коензиму А (КоА-SH) — *коферменту ацилювання*, що є одним із ключових коферментів у реакціях метаболізму вуглеводів (окислення піровиноградної та α-кетоглутарової кислот), окислення та синтезу жирних кислот, обміну амінокислот, використання ацильних радикалів у біосинтезі стероїдів, процесах детоксикації тощо. Ізольований авітаміноз у людини виникає рідко і може проявлятися численними малоспецифічними порушеннями з боку різних органів та систем (шкіри, слизових оболонок, волосся, нервової системи, внутрішніх органів). Як лікувально-профілактичний засіб пантотенат входить до складу різних косметичних виробів, шампуней.

Джерела та добова потреба

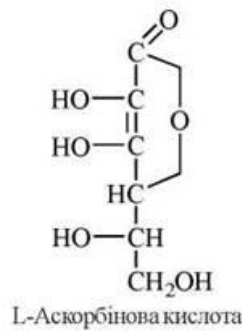
Пантотенова кислота міститься в достатній кількості в більшості продуктів рослинного та тваринного походження (борошні злакових, крупах, яйцях, молоці, дріжджах тощо); значне поширення вітаміну в біооб'єктах надійшло відображення в його назві (pantothenos — всюдисущий, розповсюджений; грецьк.). Синтез пантотенової кислоти кишечною мікрофлорою недостатній для покриття добової потреби організму людини.

Добова потреба в пантотеновій кислоті складає 5-10 мг*.

Вітамін С

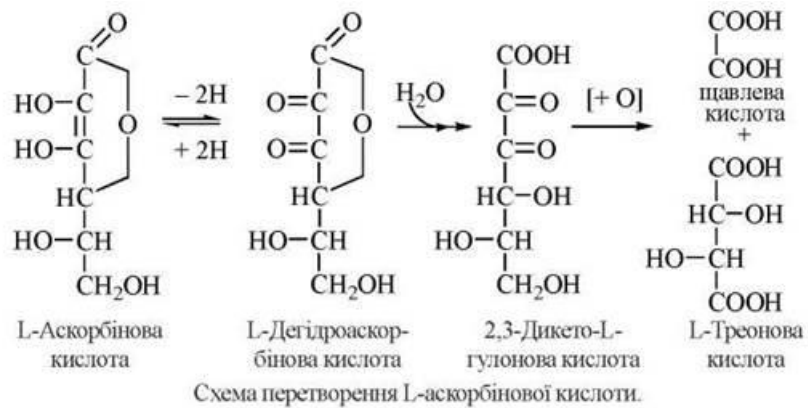
Хімічна будова

За хімічною будовою вітамін С є γ-лактоном 2,3-дигідро-L-гулонової кислоти:



Емпірична назва вітаміну — *аскорбінова кислота* вказує на його профілактичну дію щодо *цинги*, або *скорбути* (scorbut; scurvy; англ.) — специфічного патологічного процесу, спричиненого екзогенною недостатністю вітаміну.

У водних розчинах L-аскорбінова кислота (L-АК) зворотно перетворюється на дегідроформу — L-дегідроаскорбінову кислоту (L-ДАК), яка повністю зберігає біологічні властивості вітаміну С; подальші окислювальні перетворення L-ДАК є незворотними і призводять до утворення похідних, що не мають вітамінних властивостей:



Подібних перетворень L-АК зазнає і в організмі (in vivo).

Біологічні властивості та механізм дії

Вперше L-аскорбінова була виділена у чистому вигляді видатним біохіміком угорського походження А. Сент-Дьєрдьї з надниркових залоз бика (1928 р.), а потім — з червоного перцю та лимонного соку. В природі існує тільки L-ізомер аскорбінової кислоти; D-форма може бути отриманою синтетичним шляхом, але вона біологічно неактивна.



Рис. 55 – Сент-Дьєрдьї (Szent-Gyorgyi) Альберт (1893-1986). Видатний біохімік, закінчив Будапештський ун-т, працював в різних країнах Європи, США. Значний внесок у розвиток теорії біологічного окислення, біохімії м'язів; встановив будову вітаміну С, відкрив вітамін Р Нобелівська премія (1937).

L-Аскорбінова кислота синтезується в більшості рослинних та тваринних організмів і не синтезується (тобто є вітаміном) у людини, морських свинок, деяких приматів та летючих мишей, що пов'язують із мутаціями певних генів на етапах прадавньої еволюції. Найбільш яскраві клінічні прояви *цинги* стосуються системи сполучної тканини і проявляються ураженням судинних стінок і опорних тканин, що містять білок колаген: у хворих спостерігаються збільшення проникності стінок кровоносних судин із розвитком підвищеної кровоточивості (особливо ясен), виникненням “петехій” (дрібнокраплинних крововиливів) на шкірі і слизових оболонках), випадіння зубів, порушення структури і функції суглобів. Для загальних порушень в організмі при недостатності вітаміну С характерними є зниження працездатності, адаптивних можливостей організму, особливо в умовах напруженої фізичної, розумової діяльності, стресорних ситуацій, змін температури навколишнього середовища, підвищення сприйнятливості до дії інфекційних факторів.

Незважаючи на багаторічні дослідження, молекулярні механізми біологічних ефектів вітаміну С розшифровані ще в недостатній мірі. Реакціями, де участь L-АК є остаточно з'ясованою, є *гідроксилування* біомолекул в ході таких біохімічних перетворень:

- біосинтезу *колагену*, а саме в посттрансляційній модифікації білка з утворенням зрілого колагену шляхом гідроксилування залишків проліну та лізину до відповідних гідроксіамінокислот; в процесі гідроксилування проліну до 4-гідроксипроліну бере участь Fe^{2+} — аскорбатзалежний фермент *пролілгідроксилаза* — роль L-АК полягає в регенерації відновленої форми іона заліза, необхідного для каталітичного циклу;

- біосинтезу дофаміну, норадреналіну та адреналіну (етапи гідроксилування в циклі та бічному кільці катехоламінів);

- біосинтезу стероїдів (численні реакції гідроксилування на етапах утворення холестерину та біологічно активних стероїдних гормонів);

- біосинтезу серотоніну (реакція гідроксилування триптофану);

- катаболізму тирозину (через стадію утворення гомогентизинової кислоти).

У більшості біокаталітичних процесів, що перебігають за участю L-АК, беруть участь також іони заліза ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$), що виступають у ролі зворотних донорів електронів і утворюють у процесі реакцій токсичну для біоструктур молекулярну форму ($Fe^{3+}-O^-$), яка може стимулювати реакції перекисного окислення біомолекул. Як вже зазначено для реакції гідроксилування проліну, L-АК в цих реакціях виконує специфічну *антиоксидантну* функцію, забезпечуючи регенерацію відновленої форми заліза, тобто знешкоджуючи високоактивну молекулярну структуру ($Fe^{3+}-O^-$).

Джерела та добова потреба

Вітамін С міститься в більшості продуктів харчування, особливо рослинного походження (таблиця 27.1.), і недостатність у вітаміні розвивається, як правило, за умов нераціональної дієти (відсутність свіжих рослинних продуктів) або неправильної кулінарної

підготовки харчових блюд. Особливо шкідливими для вмісту L-АК є термічна обробка продуктів в умовах високої температури, наявності кисню та металів (підігрівання продуктів у металевому посуді!).

Добова потреба в L-аскорбіновій кислоті становить 50-70 мг* [60 мг]**.

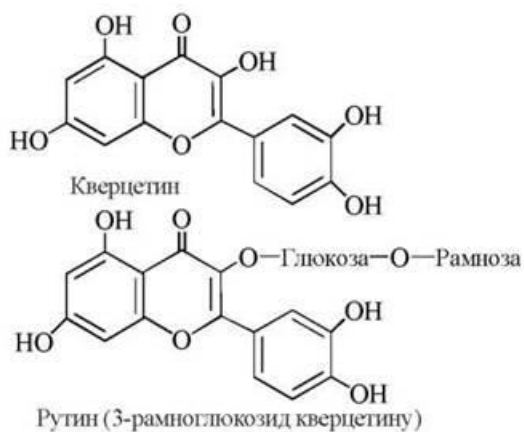
Таблиця 14 – Вміст вітаміну С у продуктах харчування

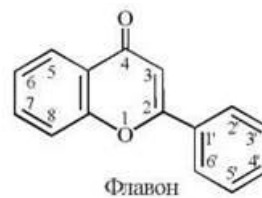
Продукт	L-АК (мг/100 г)
Шипшина (ягоди)	1000-4500
Горіх грецький	1000-1800
Перець червоний	100-400
Смородина чорна	100-400
Смородина червона	8-16
Хрін (корінь)	100-200
Картопля	6-20
Капуста білокачанна	25-66
Морква	5
Цибуля ріпчаста	20
Яблука ("Антонівка")	20-40
Лимони	40-55
Кавун	5-10
Кумис (мг/100 мл)	20
Молоко коров'яче (мг/100 мл)	1

Вітамін Р

Хімічна будова

Властивості вітаміну Р мають рослинні сполуки фенольної природи, більшість із яких належать до похідних *флавону* (2-фенілхромону) — *флавоноїди*:





Природні флавоони є барвними пігментами рослин жовтого кольору. Представниками флавоноїдів, що мають найбільшу Р-вітамінну активність, є гідроксильований флавоон *кверцетин*, глікозид кверцетину *рутин* та флавоноглікозид *гесперидин*:

Р-Вітамінні властивості мають також похідні *флавану* — сполуки, що відрізняються від *флавону* відсутністю кетогрупи та подвійного зв'язку між 2-м та 3-м атомами вуглецю. Представниками флаванів є 3-оксифлавані — *катехіни*, що містяться в значній кількості в чайному листі.



Біологічні властивості та механізм дії

Основною біологічною ознакою вітаміну Р є здатність до зміцнення судинної стінки та зменшення її проникності (“Вітамін проникності” — Permeability vitamin; англ.). Недостатність вітаміну Р може розвиватися за умов відсутності в харчуванні рослинних продуктів і звичайно супроводжує недостатність L-аскорбінової кислоти, тому цингу (скорбут) можна вважати певною мірою проявом недостатності цих двох вітамінів. Механізм дії вітаміну Р пов’язують з участю у відновленні аскорбінової кислоти і збереженні її тканинних резервів.

Добова потреба

Потреба у вітаміні Р для людини не встановлена; з лікувальною метою (зміцнення кровоносних судин) вводять 100-200 мг вітаміну Р на добу (звичайно у вигляді рутину).

Питання для самоконтролю

1. Які жиророзчинні вітаміни є дефіцитними і чому?
2. Охарактеризуйте біологічну роль жиророзчинних вітамінів, хімічну будову, добову потребу і харчові джерела.
3. Які сполуки відносять до вітаміноподібних? Назвіть продукти, що жи їх джерелами.
4. Які вітаміни входять до складу коферментів?
5. Як підвищити вітамінні цінність їжі?
6. Які втрати вітамінів у процесі технологічної обробки сировини?
7. Від яких факторів залежить ступінь руйнування окремих вітамінів?

Лекція 26

Тема 26. Біохімія згортальної і фібринолітичної систем крові

26.1. Функціональні та біохімічні властивості системи гемостазу

26.2. Згортальна система крові: компоненти, механізми активації

Згортання крові (коагуляція) — фізіолого-біохімічний процес, завдяки якому кров втрачає свою текучість і утворює *тромби* (кров'яні згустки). Здатність крові згортатися (коагулювати) з утворенням тромбів забезпечується функціонуванням *згортальної (гемокоагуляційної)* системи, або системи гемостазу.

Система гемостазу складається з ферментів та додаткових біохімічних факторів плазми крові, тромбоцитів та іншими кровоносних судин. В умовах нормальної життєдіяльності утворення тромбів відбувається за умов пошкодження судинної стінки і має захисне значення, протидіючи витіканню рідкої крові з гемоциркуляторного русла. Внутрішньосудинне утворення тромбів (*тромбоз*) є патологічним процесом і має місце при тяжких порушеннях у регуляції системи гемостазу.

За своєю структурою тромб — це утворення, що складається із сітки ниток нерозчинного білка *фібрину* та іммобілізованих у фібриновій сітці формених елементів крові. Розрізняють: *білі тромби*, утворені, переважно, скупченнями тромбоцитів; *червоні тромби*, до складу яких входить значна кількість еритроцитів.

Підтримання рідкого стану крові всередині кровоносних судин та протидія внутрішньосудинному згортанню крові забезпечуються *антизгортальною системою* крові, що складається з численних *антикоагулянтів*. Фібринові згустки, що можуть утворюватися в судинах, руйнуються ферментами *фібринолітичної системи*.

Із фізіологічної точки зору розрізняють:

1. *Судинно-тромбоцитарний гемостаз*, який є первинною реакцією на пошкодження судин мікроциркуляторного русла, що забезпечується судинною стінкою та тромбоцитами. Судинно-тромбоцитарному гемостазу належить провідна роль на початкових етапах зупинки кровотечі в зоні мікроциркуляторних судин. Цей тип гемостазу включає в себе:

- рефлексорний спазм судин, що стимулюється судинозвужувальними сполуками, які виділяються з тромбоцитів (серотонін, адреналін, норадреналін);

- адгезію тромбоцитів у зоні ушкодження судини. Поверхнею, до якої прикріплюються тромбоцити, є колагенова сітка ендотелію та субендотеліальної базальної мембрани. Відбувається взаємодія негативних ділянок на поверхні тромбоцитів з $\epsilon\text{-NH}_3^+$ -групами лізильових залишків колагенових фібрил;

- агрегацію тромбоцитів, що призводить до утворення тромбоцитарного тромбу. Розрізняють фазу зворотної агрегації, яка стимулюється АДФ, та фазу незворотної агрегації, індукторами якої є тромбін, колаген та Ca^{2+} . Протидіють агрегації тромбоцитів та, відповідно,

утворенню тромбу цАМФ та інгібітори циклооксигенази (ацетилсаліцилова кислота й інші нестероїдні протизапальні засоби).

2. *Коагуляційний гемостаз*, кінцевим результатом активації якого є утворення фібринового згустку, який іммобілізує формені елементи та утворює міцний тромб на поверхні ендотелію. Цей процес є основним типом гемостазу при кровотечах і реалізується складним ферментативним механізмом згортальної системи крові.

Згортальна система крові: компоненти, механізми активації

До складу згортальної системи крові входять ферментативні та неферментативні білки плазми, тканин, надмолекулярні комплекси, іони кальцію.

Процес згортання крові та утворення кров'яного згустку становлять каскад послідовних ферментативних реакцій, що каталізуються спеціалізованими білками — факторами згортання. У каскадній системі згортання крові кожний білковий фактор спричиняє активації наступного компонента каскаду за принципом *профермент (неактивний)* — ► *фермент (активний)*, що забезпечує послідовне лавиноподібне посилення процесу та реалізує швидку захисну реакцію на травму судини.

Номенклатура (нумерація та тривіальні позначення) факторів згортання крові (згідно з рекомендаціями Міжнародного номенклатурного комітету):

Фактор I (фібриноген).

Фактор II (протромбін).

Фактор III (тканинний тромбoplastин).

Фактор IV (іони кальцію).

Фактор V (проакцелерин).

Фактор VII (проконвертин).

Фактор VIII (антигемофільний глобулін А, фактор Віллебранда).

Фактор IX (антигемофільний глобулін В, фактор Кристмаса).

Фактор X (фактор Стюарта-Провера).

Фактор XI (фактор Розенталя, або плазмовий попередник тромбoplastину).

Фактор XII (фактор Хагемана).

Фактор XIII (фібринстабілізуючий фактор).

Поряд із зазначеними основними факторами коагуляції, що містяться переважно в плазмі крові, існують *тромбоцитарні фактори коагуляції*, які беруть участь на різних етапах судинно-тромбоцитарного, коагуляційного гемостазу та фібринолізу. Тромбоцитарні фактори коагуляції звичайно позначають латинською літерою P (від англ. platelets — пластинки (кров'яні)) із цифровими індексами: P₁-P₁₁.

Механізми активації та функціонування каскадної системи згортання крові

Каскадний ланцюг згортання крові може включатися за рахунок активації двох альтернативних механізмів: *внутрішнього та зовнішнього шляхів (механізмів)* коагуляції, що

розрізняються початковими реакціями та конвергують в єдиний загальний шлях коагуляції, який починається з активації фактора X.

Центральною молекулярною подією в реалізації процесу коагуляції крові є утворення активного фактора X (фактора Стюарта-Провера).

Фактор X — це Ca^{2+} -залежний глікопротеїн, що синтезується в печінці при участі вітаміну K. Він складається з легких та важких поліпептидних ланцюгів, що з'єднані дисульфідними місточками, й активується шляхом обмеженого протеолізу. Активований фактор X (ф.Х_а) є сериною протеїназою, що перетворює протромбін (ф.ІІ) в активний тромбін (ф.ІІ_а), необхідний для трансформації фібриногену (ф.І) в фібрин — основу фібринового згустку або тромбу.

Взаємозв'язок між внутрішнім, зовнішнім та загальним кінцевим шляхами в процесі згортання крові подано на рис. 56

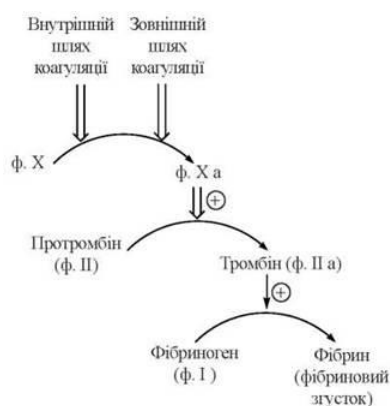


Рис. 56 – Схема взаємовідносин між внутрішнім, зовнішнім та загальним кінцевим шляхами коагуляції

Внутрішній шлях коагуляції активується при взаємодії крові з “чужою” поверхнею (поверхнею, що змочується), якою в організмі є поверхня ендотелію (за умов зменшення швидкості кровотоку в зоні аномальної судинної стінки) або адгезованих тромбоцитів. В умовах *in vitro* такою змочуваною поверхнею є стінки скляного посуду, з якими контактує кров.

Коагуляція крові за внутрішнім шляхом складається з таких послідовних етапів:

1. *Активация фактора XII (ф. Хагемана)* — відбувається при взаємодії крові з поверхнею за умов протеолітичної дії калікреїну, який відщеплює від ф. XII пептидний фрагмент із молекулярною масою 28 кД, утворюючи активний фактор XII_а.

2. *Активация фактора XI* — відбувається під впливом фактора XII_а, який утворює з фактора XI фактор XI (активний тромбопластин плазми).

3. *Активация фактора IX (ф. Кристмаса)* — відбувається під впливом фактора XI_а, який відщеплює від фактора IX пептидний фрагмент із м.м. 9 кД, утворюючи активну серинову протеїназу — фактор IX_а. Процес потребує присутності іонів Ca^{2+} .

4. *Активация фактора X* — при функціонуванні “внутрішнього шляху” коагуляції активація фактора X відбувається за рахунок протеолітичної дії фактора IX_а, який відщеплює від фактора X пептидні фрагменти з утворенням активних форм сериної протеїнази —

фактора X_a , — яка складається з двох молекулярних форм ($X_{a-\alpha}$ та $X_{a-\beta}$). Процес перебігає при участі білка-модифікатора — фактора VIII (антигемофільного глобуліну А) — та іонів Ca^{2+} .

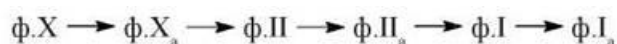
5. *Активація фактора II (протромбіну)* — перетворення протромбіну в тромбін (фактор II_a) відбувається під впливом протеїнази X_a за умов присутності іонів Ca^{2+} та активної форми проакцелерину (фактора V₃). Активація протромбіну відбувається на поверхні тромбоцитів за участю фосфоліпідів тромбоцитарних мембран; присутність акцелерину (фактора V₃) тромбоцитів необхідна для зв'язування фактора X_a , вона збільшує швидкість реакції в десятки тисяч разів. Результатом процесу є утворення тромбіну — основного ферменту згортальної системи крові, який є сериною протеїназою з м.м. 34 кД, що має трипсиноподібну активність. Протромбін людини складається з двох ланцюгів — легкого та важкого (36 та 264 амінокислотних залишків, відповідно); пептидні ланцюги в молекулі тромбіну зв'язані з глюкозаміном та сіаловою кислотою.

6. *Перетворення фібриногену в фібрин* — заключний етап коагуляційного каскаду. Фібриноген — це глікопротеїн із м.м. 340 кД, що складається з шести поліпептидних ланцюгів (два A α -ланцюги, два B β -ланцюги та два γ -ланцюги; структура молекули фібриногену — (A α)₂(B β)₂ γ ₂). Тромбін розщеплює чотири пептидні зв'язки типу -Arg-Gly- в молекулі фібриногену, що призводить до утворення вільних пептидів *фібрину-мономера*.

Молекули фібрину-мономера спонтанно агрегують, утворюючи довгі нерозчинні нитки фібрилярного фібрину, тобто фібринові згустки. У подальшому під дією ферменту трансглутамінази (фактора XIII) відбувається зшивання окремих молекул фібрину-мономера з утворенням *фібрину-полімеру*. Така стабілізація фібринової сітки отримала назву *ретракції згустка крові*.

Зовнішній шлях коагуляції активується за умов пошкодження кровоносних судин та оточуючих тканин і надходження в кров ліпопротеїнового тканинного фактора, який у сучасній літературі позначається як *фактор III (тканинний тромбопластин)*.

Фактор III, що діє як білок-модифікатор, спричиняє активацію фактора VII (проконвертину), перетворюючи останній в активну протеїназу — фактор VII₃ (конвертин). Конвертин разом з іонами Ca^{2+} активує фактор X, тобто запускає загальний шлях коагуляції за розглянутою вище схемою:



Після утворення тканинного тромбопластину, що є швидкість-лімітуючим фактором згортання крові за механізмом зовнішнього шляху, подальша коагуляція відбувається надзвичайно швидко і кров'яний згусток утворюється протягом декількох секунд.

Загальну схему каскаду коагуляції крові за внутрішнім та зовнішнім шляхами подано на рисунку 57

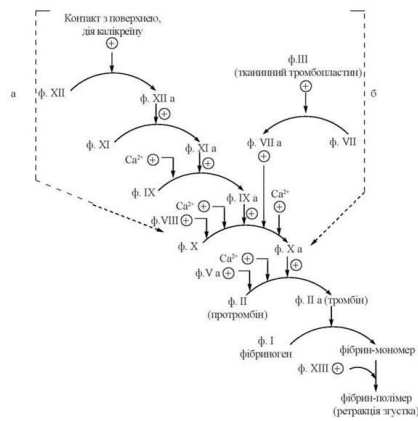
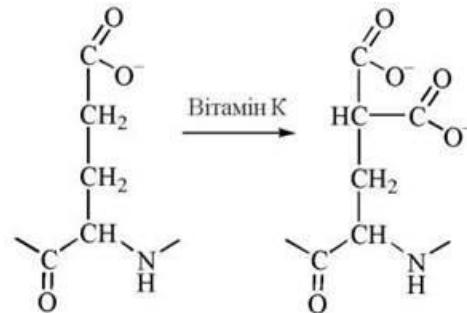


Рис. 57 – Каскад реакцій згортання (коагуляції) крові за внутрішнім — а (активація фактора XII) та зовнішнім — б (утворення тканинного тромбопластину — фактора III) шляхами.

Роль вітаміну К у реакціях каскаду коагуляції

Вітамін К — жиророзчинний вітамін, що існує у вигляді двох вітамерів (К₁ та К₂), є необхідним кофактором реакцій коагуляції. При його відсутності порушується формування функціонально активних факторів згортальної системи — фф. II, VII, IX та X. Біохімічний механізм дії вітаміну К полягає в його участі у функціонуванні ферментної системи, яка перетворює *глутамінову кислотупептидних ланцюгів* зазначених факторів коагуляцію в *γ-карбоксиглутамінову кислоту*. Зокрема, в молекулі протромбіну відбувається *γ-карбоксилювання глутамату* в положеннях 7, 8, 15, 17, 20, 21, 26, 27, 30 та 33.



γ-Карбоксилювання білкових факторів коагуляції збільшує спорідненість їх молекул з іонами Ca²⁺, які необхідні для зв'язування білків із мембранними фосфоліпідами та запуску каскаду коагуляції. Авітаміноз К супроводжується підвищеною кровоточивістю; декальцинована кров не згортається.

Спадкові порушення процесу згортання крові

Порушення у функціонуванні системи згортання крові — *коагулопатії* можуть розвиватися внаслідок генетичного дефекту в синтезі плазмових чи тромбоцитарних факторів коагуляції і клінічно характеризуються зниженням згортальної активності крові, схильністю до кровотеч. Найбільш поширеними спадковими коагулопатіями є:

1. *Гемофілії* — коагулопатії, що виникають внаслідок спадкової відсутності одного або декількох факторів згортальної системи плазми. Гемофілії проявляються значними кровотечами, які з'являються навіть при незначних пошкодженнях кровоносних судин і є небезпечними для життя. Виділяють:

- *гемофілію А* (хворобу Віллебранда) — розвивається за умов нестачі фактора VIII, синтез якого пов'язаний із X-хромосоною; наслідується за рецесивним типом, проявляючись в осіб чоловічої статі;

- *гемофілію В* (хворобу Кристмаса) — розвивається за умов порушення синтезу фактора IX;

- *гемофілію С* — розвивається при порушенні синтезу фактора XI, клінічно характеризується менш вираженими кровотечами, ніж гемофілії А та В.

2. *А-(гіпо-)фібриногенемії* — характеризуються повною або частковою відсутністю в плазмі фібриногену. Патологія наслідується як автосомна рецесивна хвороба, при якій спостерігаються тяжкі кровотечі внаслідок повної відсутності здатності крові до коагуляції.

3. *Дисфібриногенемії* — коагулопатії, які виникають при амінокислотних замінах у первинній структурі молекул фібриногену. Аномальні молекули фібриногену мають змінену конформацію, що утруднює нормальний процес перетворення фібриногену у фібрин.

Питання для самоконтролю

1. У чому полягають відмінності між тканинним диханням і окисним фосфорилуванням? 2. Які речовини є кінцевими продуктами біологічного окиснення?
3. Чим відрізняються окиснені форми НАД і ФАД від відновлених?
4. Які вітаміни беруть участь у побудові дегідрогеназ?
5. Які шляхи використання енергії в організмі вам відомі?

Лекція 27

27.3. Медіатори і гормони імунної систем.

Біохімічні компоненти системи компліменту

Існує значна кількість фізіологічно активних сполук, що синтезуються в імунній системі та відіграють роль міжклітинних хімічних сигналів, регулюючи її активність та реалізуючи процеси міжклітинних комунікацій. Ці речовини отримали загальну назву *цитокинів*, або *лімфокінів*.

Цитокини продукуються активованими лімфоцитами та іншими імунокомпетентними клітинами і контролюють процеси дозрівання, функціонування та взаємодії між лімфоцитами та іншими клітинними ефекторами імунітету. Специфічними мішенями для лімфокінів є лімфоцити та макрофаги, що мають на своїй поверхні чутливі рецептори. Лімфокіни виділяються макрофагами, лейкоцитами, іншими клітинами крові та сполучної тканини, що беруть участь у реакціях імунітету та неспецифічної резистентності організму в процесі запалення.

Гормональну внутрішньосистемну функцію виконує також вилочкова залоза (тимус), яка секретує біологічно активні субстанції (тимозини, тимопоетини, тимостимуліни тощо), що забезпечують дозрівання Т-лімфоцитів.

За хімічною природою медіатори та гормони імунної системи є білками, глікопротеїнами, низько- та високомолекулярними пептидами, що присутні в плазмі крові людини і здійснюють свої регуляторні функції в пікомолярних (10^{12}) концентраціях. Значна кількість речовин, що виконують функції лімфокінів, до цього часу недостатньо охарактеризовані як індивідуальні хімічні сполуки.

Основні класи цитокінів

Інтерлейкіни (IL) — ростові фактори імунної системи: білки, що продукуються Т-лімфоцитами та макрофагами і стимулюють проліферацію лімфоцитів і деяких інших клітин організму. На даний час виділено більше десяти окремих типів інтерлейкінів (IL-1 — IL-16), що розрізняються за структурою, фізико-хімічними властивостями та спектром біологічної активності.

Інтерлейкін-1, або фактор, що активує лімфоцити — медіатор, який продукується стимульованими макрофагами, а також поліморфноядерними лейкоцитами, епітеліальними клітинами шкіри, трансформованими клітинами хворих моноцитарною формою лейкемії. Головним ефектом дії IL-1 є стимуляція проліферації Т-хелперів та індукція секреції Т-хелперами інтерлейкіну-2. IL-1 є також активатором запалення як захисної реакції організму. Ця функція IL-1 пов'язана з його здатністю бути індуктором експресії генів фосфоліпази A_2 та циклооксигенази, що є біохімічною передумовою стимульованого синтезу у вогнищах запалення простагландинів та лейкотрієнів; крім того, інтерлейкін стимулює проліферацію фібробластів, синтез “білків гострої фази запалення” в гепатоцитах, колагенази в синовіальних оболонках суглобів.

В організмі людини охарактеризовано два типи інтерлейкінів-1, що є білками, які складаються з 159 (IL-1 α) та 153 (IL-1 β) амінокислотних залишків. Молекулярна маса інтерлейкінів-1 дорівнює 12 кД.

Інтерлейкін-2 — фактор, що продукується зрілими Т-хелперами в результаті їх стимуляції антигеном. IL-2 посідає центральне місце в системі інтерлейкінової регуляції імунітету, посилюючи процеси як клітинного, так і гуморального імунітету. Під впливом IL-2 відбувається диференціація Т-лімфоцитів в Т-кілери, що вбивають пухлинні та заражені мікробами клітини, а також активується продукція γ -інтерферону Т- та НК-клітинами. Інтерлейкін-2 є глікопротеїном, що містить залишки сілової кислоти; молекулярна маса IL-2 організму людини близько 13,5 кД.

Інтерлейкін-3, або колонієстимулюючий фактор (CSF), синтезується активованими Т-хелперами. Основна мішень біологічної дії IL-3 — стовбурові гемопоетичні клітини —

попередники лімфоцитів, ріст яких стимулює цей інтерлейкін. За хімічною природою інтерлейкін-3 є глікопротеїном, що складається з 134 амінокислотних залишків.

Інтерферони — білкові фактори, що синтезуються лімфоцитами та іншими клітинами тваринного організму при взаємодії з вірусами. Інтерферони є універсальними противірусними агентами, які активні відносно будь-яких вірусів, але мають видову специфічність, тобто кожному виду тварин притаманний свій клас інтерферонів.

Розрізняють три типи інтерферонів, що продукуються різними клітинами і позначаються, як IFN- α , IFN- β та IFN- γ . IFN- α синтезуються переважно лейкоцитами крові (“лейкоцитарні інтерферони”), IFN- β — фібробластами (“фібробластні інтерферони”), IFN- γ — Т- та В-лімфоцитами (“імунні інтерферони”).

Молекулярна маса різних інтерферонів коливається від 16 до 20-25 кД. IFN- α та IFN- β є односторонніми пептидами, що складаються з 166 амінокислотних залишків; IFN- γ містить 143 амінокислотні залишки. Інтерферони типу α мають неглікозильовані пептидні ланцюги, інтерферони типів β та γ є глікопротеїнами. Гени, що кодують IFN- α та IFN- β локалізовані на 10-й хромосомі каріотипу людини, ген IFN- γ — на 12-й хромосомі.

Взаємодіючи з клітинами, що інфіковані вірусними частинками, інтерферони інгібують синтез вірусних білків, що призводить до блокування розмноження вірусу в зараженій клітині.

Молекулярні механізми противірусної дії інтерферонів

1. *Зв'язування інтерферонів із рецепторами клітин-мішеней.* Інтерферони, які секретуються в зовнішньоклітинне середовище клітинами-продуцентами, взаємодіють із специфічними рецепторами на мембранах чутливих клітин, що є передумовою генерування хімічного сигналу та його трансмембранної передачі.

2. *Активація внутрішньоклітинної 2',5'-олігоаденілатсинтетази.* Хімічний сигнал за допомогою внутрішньоклітинних месенджерів досягає геному зараженої вірусом клітини й індукує синтез ферменту, який утворює з молекул АТФ 2',5'-олігоаденілову кислоту (2',5'-оліго-А-синтетази). 2',5'-олігоаденілат є активатором РНКазы I, яка розщеплює односпіральні вірусні РНК (мРНК) та рибосомальні РНК, які необхідні для трансляції вірусних білків.

3. *Активація внутрішньоклітинних протеїназ.* Трансмембранний хімічний сигнал, генерований інтерфероном, спричиняє також активацію протеїнази, що фосфорилує білковий фактор ініціації трансляції IF-2. Фосфорилування фактора ініціації IF-2 призводить до його інактивації та блоку рибосомального синтезу вірусних білків.

Фактори некрозу пухлин (TNF). Розрізняють TNF- α та TNF- β .

TNF- α (*кахектин*) — білок із м.м. 17 кД, продукується моноцитами та макрофагами. Його головними біологічними ефектами є індукція синтезу IL-1 та IFN- γ , цитотоксична та цитостатична дія.

TNF- β (*лімфотоксин*) — білок із м.м. 25 кД, продукується Т-лімфоцитами, спричиняє цитотоксичний ефект.

При введенні в організм TNF спричиняють лізис деяких типів пухлинних клітин організму людини, їх розглядають як перспективні протиракові засоби.

Колонієстимулюючі фактори (КСФ) — цитокіни, що стимулюють ріст кровотворних клітин (гранулоцитів, моноцитів, попередників еритроїдних клітин). Вони продукуються Т-лімфоцитами, макрофагами, моноцитами, ендотеліальними клітинами (див. ІІ-3).

Трансформуючі фактори росту (ТФР) — білки, що продукуються різними класами лімфоцитів, тромбоцитами, плацентою, деякими пухлинами. Вони стимулюють процеси проліферації фібробластів, синтезу колагену та фібронектину, беруть участь в ангиогенезі, загоюванні ран. Разом із тим, ТФР пригнічують проліферацію Т та В-лімфоцитів, активність цитотоксичних та кілерних клітин.

Слід зазначити, що активовані лімфоцити та інші імунокомпетентні клітини синтезують пептидні фактори росту, зокрема епідермальний (ЕФР), нервовий (ФРН), а також соматомедини (інсуліноподібні фактори росту ІФР-1 та ІФР-2), і різні білково-поліпептидні гормони, що свідчить про надзвичайно важливу роль імунної системи в регуляції процесів росту, проліферації та клітинного диференціювання.

Біохімічні компоненти системи комплементу

Комплемент — ферментна система, необхідна для здійснення лізису чужорідних клітин (бактеріальних, тваринних) після їх взаємодії із специфічними антитілами. За біохімічною природою білки комплементу є каскадною системою протеаз, що послідовно активуються після утворення комплексу антиген-антитіло і спричиняють розщеплення мембранних структур клітин, які підлягають руйнації в процесі імунної реакції.

Існує дев'ять основних компонентів (білкових субодиниць) системи комплементу, які позначають С1, С2, С3, С4, С5, С6, С7, С8, С9. Субодиниця С1 є комплексом, що складається з трьох білків: С1q, С1r, С1s. У фізіологічних умовах білкові компоненти системи комплементу знаходяться в плазмі крові в неактивному стані. Активовані форми білків комплементу позначаються ризикою над відповідною латинською цифрою: С₁, С₂ тощо. Біохімічні характеристики білків системи комплементу людини подано в таблиці 15.

Таблиця 15 – Білки системи комплементу людини

Блок комплементу	Молекулярна маса, кД	Фракція глобулінів крові	Концентрація в плазмі крові*, г/л х 10⁻³
С1	900	α_2, β, γ	
С1q	400	γ	60
С1r	168	β	50
С1s	19	α_2	40
С4	230	β_1	600
С2	117	β_2	25

C3	185	β_1	1300
C5	110	β_1	80
C6	125	β_2	60
C7	130	β_2	60
C8	150	γ	60
C9	19	α_2	60

Активация системы комплемента реализуется за одним із механізмів — класичним або альтернативним (рис. 30.2). За умов дії будь-якого з означених механізмів ключовою подією в активзації системи комплемента є активация компонента C3, який має аутокаталітичні властивості, запускаючи каскад ферментативних реакцій за участю термінальних компонентів C7, C8 та C9.

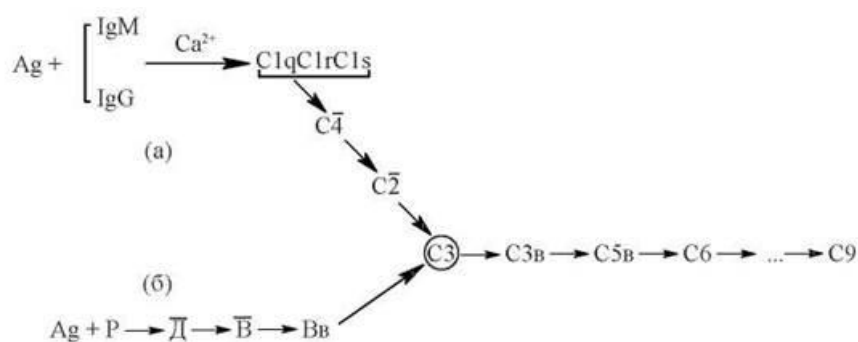


Рис. 58 – Активация комплемента за класичним (а) та альтернативним — пропердиновим (б) механізмами (Ag — антиген).

Класичний шлях активзації комплемента — послідовність ферментативних реакцій, що запускається при взаємодії першого компонента комплемента C1 з комплементзв'язуючими ділянками антитіл (IgG, IgM), які утворили комплекс антиген-антитіло на поверхні клітини.

Зв'язування компонента C1 з імуноглобулінами, що фіксуються на поверхні клітини, відбувається з участю білка C1q, який отримав назву фактора розпізнавання. Взаємодія C1q з антитілом призводить до активзації субодиниці C1r, яка розщеплює молекулу C1s, перетворюючи останню в активну серинову протеїназу. Таким чином реалізується пусковий механізм активзації системи комплемента.

Субстратами активного протеолітичного ферменту C3 є компоненти C4 та C2, які послідовно розщеплюються на відповідні молекулярні фрагменти: активний C4b і неактивний C4a та активний C2a і неактивний C2b. Активний комплекс C4bC2a позначають так: C3-конвертаза. Вона відщеплює від компонента C3 активну протеазу C3b (C5-конвертазу), яка активує систему термінальних компонентів комплемента (C5—C9).

Активовані термінальні компоненти утворюють на поверхні клітинної мембрани надмолекулярний білковий комплекс (C5b, C6, C7, C8, C9), що спричиняє лізис мембрани, тобто розщеплення її білково-ліпідного бішару. Під впливом літичного комплексу в мембрані

виникають каналці діаметром до 10 нм, через які відбувається вільне надходження всередину клітини Ca^{2+} та Na^+ і втрата K^+ , що і зумовлює остаточне руйнування клітини.

Альтернативний (пропердиновий) шлях активації комплементу не потребує участі імуноглобулінів і має біологічне значення, ймовірно, на ранніх етапах боротьби макроорганізму з інфекційним агентом, тобто до продукування необхідної кількості антитіл.

Як і в класичному шляху, в умовах альтернативного шляху також відбувається активація С3-компонента комплементу з утворенням С5-конвертази, але без участі компонентів С1, С2 та С4. Первинним етапом тут є взаємодія бактеріальних антигенів (полісахаридів, ліпополісахаридів клітинної стінки грамнегативних бактерій тощо) з білками системи пропердину.

Система пропердину складається з трьох білків: білка Р — власне пропердину; білка В та білка D (серинової протеази). Під впливом антигенів бактеріальної стінки відбувається послідовна активація факторів Р, D та В. Активований фактор В (Вb) розщеплює основний компонент системи комплементу — С3, — утворюючи С5-конвертазу С3bВb, яка активує компонент С5, що відповідає за формування літичного мембранного комплексу.

Питання для самоконтролю

1. Як регулюється обмін речовин в організмі?
2. Яка роль нервової системи в регуляції обміну речовин?
3. Назвіть нейромедіатори. Яке значення кожного з них?
4. яку роль відіграє гуморальна система в обміні речовин? Що таке гормони і яка їхня роль у регуляції обмінних процесів у клітках?
5. Які ви знаєте білково-пептидні гормони? Де вони виробляються і яка їхня роль в обмінні речовин?

Лекція 28

Тема 30. Біохімія нервової системи. Молекулярна психобіологія. 30.1 Особливості хімічного складу та метаболізму нервової системи фізіологічного активних сполук

Мозок людини є найбільш складною інформаційною системою, що існує в живій і неживій природі.

Нейрохімія як галузь науки, що вивчає хімічний склад і біохімічні процеси, які відбуваються в нервових структурах різного ступеня складності, нараховує близько ста років, починаючи з класичних розробок Тудихума (J. Thudichum) (Німеччина) та О.Я. Данілевського (Росія). Значний внесок у вивчення хімічного складу головного мозку й особливостей обміну речовин у нервовій тканині зроблено видатним українським ученим О. В. Паладіним (1885-1972) і його науковою школою.

Разом з тим, перші реальні успіхи в розумінні молекулярних механізмів функціонування нервової системи, і головного мозку зокрема, були досягнуті лише в останні 10-20 років завдяки дослідженням кращих біохімічних і нейрофізіологічних лабораторій світу. Ці досягнення стосуються, головним чином, біохімії та молекулярної біології нейромедіаторів, структури і біофізичних властивостей іонних каналів та іонних насосів, тобто процесів, які складають основу генерації електричних потенціалів та передачі інформації в нейронних сітках. Разом з тим, цілий ряд фундаментальних проблем молекулярної психобіології, а саме нейрохімічних механізмів мислення, пам'яті, емоцій, залишаються значною мірою *terra incognita*.

До принципових труднощів у вивченні біохімічних засад функціонування нервової тканини взагалі і головного мозку вищих організмів, зокрема, належить значна різноманітність клітинного складу морфофункціональних структур нервової системи.

За оцінками, що існують у науковій літературі, мозок людини містить близько 10^{10} - 10^{11} нейронів, що приблизно відповідає кількості зірок у нашій Галактиці, до того ж окремі нейрони та їх групи значною мірою відрізняються як за морфологічними ознаками, так і за складом медіаторів, які вони продукують. Враховуючи кількість контактів кожного нейрона за допомогою аксонів і дендритів, загальна кількість міжнейрональних синапсів у головному мозку людини досягає 10^{13} - 10^{14} . Крім нейронів, нервова тканина містить клітинні елементи сполучнотканинного походження, що, за існуючими уявленнями, виконують трофічну й опорну функції — нейроглию та мікроглию. Нейрони згуртовані переважно в сірій речовині головного мозку (60-65 % її клітинного складу), тоді як біла речовина складається з елементів нейроглії та мієліну — специфічної мембранної структури, що є похідним швановських клітин, які обгортають аксони нейронів.

Особливості хімічного складу та метаболізму нервової системи фізіологічного активних сполук

Хімічний склад головного мозку

Загальний хімічний склад головного мозку позначається наявністю білків (близько 8 % загальної маси тканин), значною кількістю ліпідів (10-12 %), вуглеводів (близько 1 %), інших низькомолекулярних біомолекул, неорганічних солей і води (77-78 %).

Ліпіди нервової тканини

Своєрідність хімічного складу нервової тканини і головного мозку полягає у надзвичайно високому вмісті ліпідів різноманітної хімічної структури. Сума ліпідів різних класів складає в середньому близько половини сухої маси тканини головного мозку.

Особливостями хімічного складу ліпідів головного мозку є переважання складних полярних ліпідів (фосфогліцеридів, сфінголіпідів, гліколіпідів) і холестерину при незначній кількості нейтральних жирів (триацилгліцеролів). До того ж вміст ліпідів у білій речовині головного мозку значно вищий, ніж у сірій речовині, що пояснюється наявністю в останній структурі значної кількості мієлінових оболонок нервів — таблиця 16.

Таблиця 16 – Вміст ліпідів різних класів у головному мозку (середні значення, % від сухої маси тканини)

Фракція ліпідів	Сіра речовина	Біла речовина
Загальна кількість	35,1	61,2
Фосфоліпіди:	24,6	42,5
Всього		
в тому числі:		
фосфогліцерици	18,6	22,8
сфінголіпіди(сфінгомієліни)	1,8	3,7
гліколіпіди(цереброзиди)	4,2	16,0
Холестерин	5,1	13,8

Переважає в складі різних відділів головного мозку полярних ліпідів пояснюється значною кількістю мембранних структур, що виконують спеціальні функції, пов'язані з генерацією нейронного потенціалу, проведенням нервового імпульсу та його синаптичною передачею — тобто плазматичних мембран тіл нейронів і аксонів, спеціалізованих мембран нервових закінчень і синаптичних везикул.

Білки головного мозку

Білковий склад головного мозку відзначається різноманітністю спектра, який включає білки з різними біохімічними й функціональними властивостями, зокрема білки-ферменти, регуляторні та структурні білки.

Серед білків головного мозку виділяють *нейроальбуміни, нейроглобуліни та нейросклеропротеїни*, що розрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями і є фракціями, до складу яких входять десятки індивідуальних білків і поліпептидів. Пептиди нервової тканини, що виконують медіаторні функції (*нейропептиди*), будуть розглянуті нижче.

Особливістю біохімічного складу головного мозку є також наявність високої концентрації вільних амінокислот, переважну більшість яких (до 75 % загальної кількості) складають дикарбонові амінокислоти та їх похідні: аспартат, глутамат, глутамін, 4-амінобутират, N-ацетиласпартат.

Метаболізм головного мозку

Енергетичний обмін у головному мозку

Біоенергетика мозку характеризується значною залежністю від постачання киснем, який використовується переважно на аеробне окислення глюкози. Хоча маса головного мозку становить близько 2 % маси тіла, поглинання O₂ тканиною головного мозку становить у дорослої людини в умовах спокою 20-25 % від загальних потреб організму, а в дітей до чотирьох років — до 50 %. Таким чином, газообмін у головному мозку значно вищий, ніж в інших тканинах, і перевищує газообмін, наприклад, у м'язовій тканині в 20 разів.

Основним споживачем метаболічної енергії в головному мозку, що використовується у формі АТФ, є процес генерації нервового потенціалу на мембрані нейронів, який вимагає постійного функціонування натрієвого насоса — мембранної Na^+ , K^+ -АТФази.

Головною особливістю енергетичного обміну головного мозку є значне переважання рівня використання глюкози над іншими субстратами енергетичного обміну. На відміну від клітин інших тканин, що здатні використовувати різні джерела метаболічного палива, нейрони в нормальних фізіологічних умовах споживають як енергетичний субстрат переважно глюкозу, що надходить із крові. Перехід клітин головного мозку на окислення ацетоацетату спостерігається лише в умовах голодування та виснажливої фізичної роботи.

Резерви глікогену в організмі є обмеженими (глава 13), і порушення споживання глюкози та O_2 головним мозком в умовах гіпоглюкоземії вже через декілька хвилин призводить до глибоких порушень обміну речовин і розвитку коматозного стану.

У тканині головного мозку в реакції гідролітичного дезамінування АМФ постійно утворюється вільний аміак, який знешкоджується шляхом взаємодії з глутаматом, утворюючи глутамін, що виходить у кров.

Питання для самоконтролю

1. Що вивчає нейрохімія?
2. Який хімічний склад головного мозку?
3. Охарактеризуйте метаболізм головного мозку.

Лекція 29

30.2. Нейромедіатори. Рецептори для нейромедіаторів

Нейромедіатори (нейротрансмітери) — біомолекули, які забезпечують передавання імпульсів (хімічних сигналів) у нервовій системі з одного нейрона на інший, а також з нейрона на ефекторний орган.

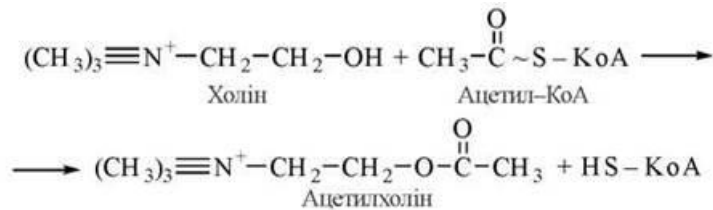
За хімічною природою нейромедіатори поділяють на такі сполуки (F. Nuxho, 1986): ацетилхолін, біогенні аміни (катехоламіни — норадреналін, дофамін, серотонін), амінокислоти та їх похідні (γ -аміномасляна кислота — ГАМК, гліцин, глутамат, аспартат), пептиди — нейропептиди (ендорфіни, енкефаліни, сполука Р тощо). Медіаторні функції в нервовій системі можуть також виконувати пролін, таурин, β -аланін, аденозин, простагландини.

Рецептори нейромедіаторів — мембранні білки (здебільшого — глікопротеїни), що локалізовані в постсинаптичних мембранах нейронів або плазматичних мембранах клітин ефекторних органів і здатні до зв'язування фізіологічних ефекторів (нейромедіаторів, різних ФАС, психотропних сполук) і передавання зовнішньоклітинного хімічного сигналу всередину нейрона.

За принципами молекулярної організації та функціонування, рецептори нейромедіаторів — це, здебільшого, *іонотропні рецептори* (рецептори I класу), тобто такі, що контролюють відкриття іонних каналів на мембрані для Ca^{2+} , Na^+ і K^+ ; в ролі первинних ефекторів, що передають хімічний сигнал на нервову клітину, в цьому разі виступають компоненти іонних каналів (глава 23). Крім того, в фізіологічних ефектах деяких нейромедіаторів та нейромодуляторів (зокрема, нейропептидів головного мозку, ацетилхоліну та деяких біогенних амінів) беруть участь і *метаботропні рецептори* (рецептори II класу), які активують внутрішньоклітинні біохімічні системи шляхом утворення цАМФ або цГМФ, включенням фосфоінозитидної системи та/або збільшенням цитозольної концентрації іонів Ca^{2+} . Крім нейромедіаторів, із зазначеними типами рецепторів можуть взаємодіяти численні лікарські засоби, нейротоксини, що активують (*агоністи*) або гальмують, блокують (*антагоністи*) або модулюють біохімічні, нейрофізіологічні та психологічні (поведінкові) ефекти, опосередковані збудженням специфічних рецепторів певних зон головного мозку.

Характеристика окремих нейромедіаторів

Ацетилхолін — похідне холіну й оцтової кислоти, є найбільш поширеним нейромедіатором. Його синтез і розщеплення відбуваються в *холінергічних центрах (структурах)* центральної та периферичної нервової системи. В синтезі ацетилхоліну бере участь фермент *холінацетилтрансфераза*:



Подібно до інших нейромедіаторів (зокрема, катехоламінів), синтез ацетилхоліну відбувається в нервових закінченнях, а збереження — в спеціальних *синаптичних везикулах*. Вивільнення медіатора в синаптичну щілину відбувається внаслідок збудження нейрона дискретними порціями (“квантами”) за механізмом екзоцитозу синаптичних везикул. Безпосереднім біохімічним сигналом, що активує процеси виходу ацетилхоліну через пресинаптичну мембрану, є підвищення всередині нервового закінчення іонів Ca^{2+} . Ацетилхолін, що вивільнився, реагує з рецепторними структурами постсинаптичної мембрани — *холінорецепторами (ХР)* (рис. 59).

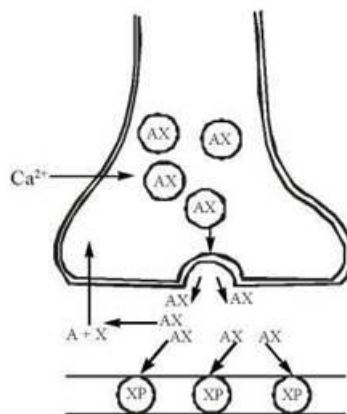
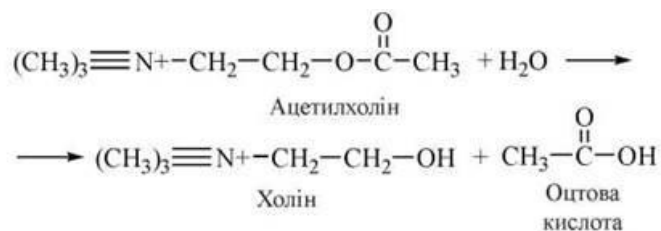


Рис. 59 – Схема будови холінергічного синапсу.

Розщеплення медіатора в синаптичній щілині здійснюється ферментом *ацетилхолінестеразою (АХ-естеразою)*.



Залежно від молекулярної будови, фізіологічних і фармакологічних властивостей, зокрема вибіркової (селективної) чутливості до специфічних агоністів і антагоністів, виділяють два основні типи (та декілька субтипів) холінергічних рецепторів:

- *м-холінорецептори (м-ХР)* — такі, що вибірково збуджуються токсином грибів мускарином;
- *н-холінорецептори (н-ХР)* — такі, що вибірково збуджуються алкалоїдом тютюну — нікотинном.

м-ХР локалізовані в постсинаптичних мембранах клітин ефektorних органів та в ділянках закінчень парасимпатичних нервових волокон. Ці рецептори належать до *метаботропного* типу. Внутрішньоклітинні ефекти їх збудження реалізуються за рахунок підвищення цитозольної концентрації Ca^{2+} , який активує Ca^{2+} -залежну гуанілатциклазу, що призводить до генерації цГМФ, яка опосередковує дію агоністів м-ХР на цГМФ-залежні біохімічні системи відповідних мішеней.

н-ХР локалізовані в постсинаптичних мембранах гангліонарних клітин, що контактують із закінченнями парасимпатичних і симпатичних прегангліонарних волокон. Це рецептори *іонотропного* типу, стимуляція яких ацетилхоліном, нікотинном та іншими агоністами супроводжується зростанням проникності клітинних мембран (н-холінергічних синапсів нервової системи, нервово-м'язової платівки) до іонів Ca^{2+} , Na^+ та K^+ . Такий ефект активації н-ХР зумовлений їх внутрішньомембранною організацією, яка є надмолекулярним комплексом з п'яти білкових субодиниць (α_2 , β , γ , δ), що оточують іонний канал, який пронизує ліпідний бішар мембрани (рис. 60).

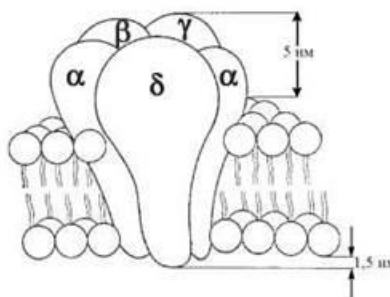


Рис. 60 Модель внутрішньомембранної організації н-холінорецептора.

Важливе фармакологічне й токсикологічне значення мають фізіологічно активні сполуки, що є інгібіторами АХ-естерази, спричиняючи значне підвищення концентрації нейромедіатора як в структурах центральної нервової системи, так і в організмі в цілому.

Зворотні інгібітори АХ-естерази — сполуки, які застосовуються в медичній практиці з метою збільшення активності холінергічної імпульсації, порушеної при певних неврологічних захворюваннях (міастенії тощо), атонії кишечника, сечового міхура. Із зазначеною метою застосовуються такі препарати: *Прозерин, Фізостигмін, Галантамін*.

Незворотні інгібітори АХ-естерази — сполуки, що є потужними нервовими отрутами, які спричиняють різке збудження нервової системи із судомами, порушенням функцій серцево-судинної, гастро-інтестинальної та інших фізіологічних систем організму. Найбільш поширеними незворотними інгібіторами АХ-естерази є *фосфорорганічні сполуки* (ФОС), які сполучаються ковалентним зв'язком із гідроксильною групою серину в активному центрі ферменту, протидіючи таким чином його взаємодії з субстратом (глава 7).

ФОС знайшли надзвичайно широке застосування в сільському господарстві та побуті як пестициди для боротьби зі шкідливими комахами — *хлорофос, дихлофос, метафос, карбофос* тощо. Спрямований синтез ФОС, які є високотоксичними для теплокровних тварин, призвів до створення нервово-паралітичних отрут, що були прийняті на озброєння військовими силами багатьох країн як бойові отруйні речовини (БОР). Найбільш відомими БОР із класу фосфорорганічних сполук є такі речовини, як табун, зарин, зоман.

Норадреналін — біогенний амін, що разом із адреналіном і дофаміном належить до *катехоламінів*. На відміну від адреналіну, який проявляє, в основному, гормональну активність, норадреналін є медіатором, що відіграє трансмітерну роль в *адренергічних* синапсах центральної та периферичної нервової системи.

У головному мозку людини норадренергічні нейрони знаходяться, переважно, в зонах блакитної плями (*Locus coeruleus*), гіпокампу та значній частині кори мозку. Функціональну роль норадреналіну як одного з основних медіаторів центральної нервової системи пов'язують із підтриманням рівня активності нервово-психічних реакцій, формуванням когнітивних та адаптивних процесів.

Адренорецептори широко розповсюджені як у нервовій системі, так і в інших органах і тканинах. Існують декілька підтипів адренорецепторів: α_1 , α_2 , β_1 та β_2 , що розрізняються за своїми біохімічними, фізіологічними та фармакологічними властивостями.

Взаємодія лігандів (норадреналіну, адреналіну тощо) із β -адренорецепторами (β_1 та β_2 -) супроводжується активацією аденілатциклази, збільшенням внутрішньоклітинної концентрації цАМФ і через систему цАМФ-залежних протеїнкіназ — стимуляцією відповідних метаболічних процесів та фізіологічних функцій клітини; прикладом таких реакцій є стимуляція адреналіном глікогенолізу в печінці та м'язах і ліполізу в жировій тканині.

На відміну від β -адренорецепторів, стимуляція різних підтипів α -адренорецепторів включає принципово інші молекулярні механізми:

- стимуляція α_1 -адренорецептрів підвищує цитозольну концентрацію іонів Ca^{2+} за рахунок його транспорту всередину клітин і вивільнення з внутрішніх депо, що призводить до активації Ca-залежних реакцій клітини;

- стимуляція α_2 -адренорецепторів шляхом взаємодії ліганд-рецепторного комплексу з трансдукуючим інгібіторним білком мембрани (N_i) супроводжується гальмуванням активності аденілатциклази і відповідною перебудовою цДМФ-залежних біохімічних процесів.

У центральній нервовій системі адренорецептори локалізовані як на *постсинаптичних мембранах* (α_1 -адренорецептори), забезпечуючи передачу нервового сигналу на нейрон або ефекторний орган, так і на *пресинаптичних мембранах* (переважно α_2 -адренорецептори), гальмуючи за негативним зворотним зв'язком вивільнення норадреналіну в синаптичну щілину.

Норадреналін має складні біохімічні та функціональні зв'язки на пре- та постсинаптичному рівнях з іншими нейромедіаторами та модуляторами функцій центральної нервової системи — ацетилхоліном, серотоніном, дофаміном, нейропептидами тощо.

Дофамін — катехоламін із медіаторними властивостями, що виконує ряд важливих фізіологічних функцій у центральній і периферичній нервовій системі. Дофамін має слабку симпатоміметичну активність і бере участь у регуляції поведінки, рухової сфери, діяльності серцево-судинної системи, кишечника, нирок.

Дофамінові рецептори

Розрізняють декілька типів (D_1 , D_2 , D_3 , D_4) та субтипів дофамінових рецепторів, що розрізняються чутливістю до лігандів та характером біохімічних і фізіологічних реакцій клітин, які настають після їх активації.

Активация D_1 -рецепторів супроводжується збільшенням активності дофамінчутливої аденілатциклази з наступним включенням цАМФ-залежного каскаду біохімічних реакцій.

Активация D_2 -рецепторів призводить до зменшення активності аденілатциклази, внутрішньоклітинної концентрації кальцію та пригнічення відповідних цАМФ- і Ca-залежних метаболічних і фізіологічних процесів.

Із порушенням обміну дофаміну та функцій дофамінових рецепторів пов'язані розвиток шизофренії, алкоголізму, депресивних станів, хвороби Паркінсона та інших екстрапірамідних порушень. На функціонування дофамінергічних структур головного мозку людини впливають численні психотропні та нейротропні лікарські засоби, що отримали широке застосування в клінічній практиці.

Серотонін — біогенний амін, що є похідним триптофану (5-окситриптамін, 5-hydroxytryptamine — 5-НТ). Серотонін має надзвичайно широкий спектр біологічної активності відносно до центральної, периферичної нервової системи, інших органів і тканин.

У центральній нервовій системі людини серотонін виконує функції медіатора для спеціальних *серотонінергічних* нейронів і модулятора дії інших нейротрансмітерів. Рецептори серотоніну розподіляються на окремі типи: 5-НТ₁, 5-НТ₂, 5-НТ₃, 5-НТ₄ та підтипи (зокрема, 5-НТ_{1А}, 5-НТ_{1В}, 5-НТ_{1С}), які диференціюються за чутливістю до агоністів і антагоністів.

Серотонінові рецептори належать до II класу (*метаботропних*), але розрізняються за характером біохімічних реакцій, що супроводжують їх стимуляцію:

- збудження 5-HT₁-рецепторів призводить (через GTP-зв'язуючий N-білок трансдуктор) до активації серотонін-чутливої аденілатциклази і зростання рівня цАМФ;

- збудження 5-HT₂-рецепторів супроводжується зростанням у цитозолі концентрації іонів кальцію (за рахунок їх вивільнення з внутрішньоклітинних депо) та активацією Са-залежних біохімічних процесів.

Фізіологічна роль серотоніну в головному мозку людини розглядається в зв'язку з регуляцією таких психоемоційних реакцій, як тривога, неспокій, агресивність, імпульсивні потяги, сексуальна поведінка, контролем циклів фізіологічного сну тощо, що дозволило визначити серотонін як “нейромедіатор гарного самопочуття”.

Порушення обміну серотоніну та функцій серотонінових рецепторів впливають на патогенез депресивних і неспокійних станів, шизофренії, алкоголізму, наркоманій. Так, зокрема, дефіцит серотоніну в головному мозку та спинномозковій рідині виявлений у хворих із важкими станами депресії, що здійснювали суїцидальні акти (самогубства) (Н.І. Kaplan, В.І. Sadock, 1994). Потяг до етилового алкоголю в експериментальних щурів залежить від функції серотонінових рецепторів, локалізованих у лімбічній системі. ФАС, що впливають на серотонінергічну передачу імпульсів, зокрема інгібітори зворотного синаптичного захоплення (*реантейку* — *reuptake*, англ.) 5-НТ зменшують споживання експериментальними тваринами алкоголю (W. Kostowski, 1995). Відповідно до зазначеного, модуляція фізіологічних і біохімічних ефектів серотоніну є основою фармакологічних ефектів багатьох психотропних і нейротропних препаратів.

Нейромедіатори — амінокислоти та їх похідні

Амінокислотні нейромедіатори поділяють на два класи:

- 1) збуджувальні кислі амінокислоти;
- 2) гальмівні нейтральні амінокислоти.

Збуджувальні амінокислоти

До амінокислот із властивостями нейромедіаторів належать “збуджувальні амінокислоти” — L-глутамат і L-аспартат, обміну яких надається серйозна увага в патології нервової системи, патопсихології та психофармакології. Встановлена наявність у клітинах головного мозку як іонотропних, так і метаботропних рецепторів збуджувальних амінокислот.

Іонотропні рецептори збуджувальних амінокислот поділяють на такі підкласи:

- рецептори, що активуються, крім глутамату й аспартату, також NMDA (N-метил-Б-аспартатом) — *NMDA-рецептори*;

- рецептори, що активуються глутаматом, а також AMPA (DL- α -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксалонопропіоною кислотою) та каїнатом — *AMPA/каїнатні рецептори*.

Активация *NMDA-рецепторів* призводить до надходження в клітину екстрацелюлярного кальцію шляхом відкриття кальцієвих каналів.

Активация *AMPA/каїнатних рецепторів* супроводжується деполяризацією мембран нейронів за рахунок відкриття Na^+ -каналів; ця деполяризація, в свою чергу, призводить до відкриття потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів і збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} .

Метаботропні рецептори збуджувальних амінокислот активуються глутаматом. Активация рецепторів цього типу призводить через G-білок-трансдуктор до стимуляції обміну фосфоінозитидів та утворення інозитолтрифосфату (Ca^{2+}) і діацилгліцеролу — внутрішньоклітинних месенджерів, що призводять до росту концентрації Ca^{2+} і за рахунок його мобілізації з внутрішньоклітинних депо.

Надходження в постсинаптичний нейрон Ca^{2+} внаслідок збудження іонотропних (NMDA- або *AMPA/каїнатних*) рецепторів спричиняє довготривалу потенціацію міжнейронної передачі, що створює нейрофізіологічні передумови для процесів навчання, пам'яті, становлення індивідуальних форм поведінки.

Модуляції системи рецепторів збуджувальних амінокислот надається значна роль у розумінні біохімічних механізмів дії антипаркінсонічних, антиепілептичних, міорелаксантних лікарських засобів.

Гальмівні амінокислоти

До цього класу нейромедіаторів належать γ -аміномасляна кислота — ГАМК (γ -амінобутират; 4-амінобутират), гліцин, таурин, β -аланін.

Найбільш вивченим гальмівним нейромедіатором є ГАМК. Ця амінокислота, взаємодіючи з відповідними селективними рецепторами (ГАМК-рецепторами), пригнічує міжнейронну передачу нервових імпульсів. Біохімічний механізм гальмівної дії ГАМК полягає в активації входу через мембрану нейронів іонів Cl^- , що відбувається внаслідок взаємодії ГАМК із *хлорними каналами* мембрани.

Відповідно до зазначених нейрофізіологічних властивостей ГАМК, агоністи ГАМК-рецепторів та сполуки, що потенціюють гальмівні ефекти ГАМК, виявляють протисудомні, заспокоювальні (транквілізуючі) та седативні ефекти. Навпаки, антагоністи ГАМК, які зменшують гальмівну активність ГАМК-ергічних нейронів (*пикротоксин, бікукулін*), є потужними конвульсантами. Судомна активність препарату стрихніну зумовлена його антагоністичною дією відносно гліцинових рецепторів спинного мозку, які також сполучені з хлорними каналами мембран.

Нейропептиди — широкий клас сполук пептидної природи, що синтезуються переважно в клітинах центральної нервової системи, складаючи її пептидергічну систему, і здатні суттєво впливати на біохімічні та нейрофізіологічні процеси в головному мозку.

Опіодні пептиди

Найбільшу увагу в молекулярній психобіології та фармакології привертають нейропептиди, що є ендogenousними лігандами морфінових (опіатних) рецепторів мозку — *опіоїдні пептиди*. Опіоїдні пептиди, подібно до наркотичного анальгетика *морфіну* і близьких до нього сполук, мають найбільш сильно виражену знеболювальну (анальгетичну) активність і специфічну дію на головний мозок людини, що проявляється розвитком складного психоемоційного стану ейфорії з покращанням настрою, відчуттям душевного комфорту, позитивним сприйняттям довкілля (Д.А. Харкевич, 1993).

Основними представниками опіоїдних нейропептидів є: метіонін (мет-)-енкефалін, лейцин (лей-)-енкефалін, α -, β -, γ - та δ -ендорфіни (“ендогенні морфіни”), α - та β -неоендорфіни, динорфіни А та В.

Як очевидно з наведених первинних структур, опіоїдні нейропептиди мають гомологічні послідовності амінокислотних залишків (1-4(5) в енкефалінах і ендорфінах та 1-16 у всіх ендорфінах). Це свідчить про єдність у структурі генів (послідовностей нуклеотидів ДНК), що кодують ці пептиди. Безпосереднім попередником енкефалінів та ендорфінів є білок *проопіомеланокортин*, шляхом часткового гідролізу якого утворюються не тільки нейропептиди, а й такі гормональні сполуки, як кортикотропін та в-ліпотропін.

Мет-енкефалін

1 5
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met

Лей-енкефалін

1 5
Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu

α -Ендорфін

1 16
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr

β -Ендорфін

1 16
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-

31
-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-His-Lys-Lys-Gly-Gln

γ -Ендорфін

1 16 17
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu

δ -Ендорфін

1 16 19
Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys

Рецептори опіоїдних пептидів

Подібно до інших мембранних рецепторів для нейромедіаторів, опіатні рецептори поділяють на декілька субтипів: μ - (мю-)рецептори, δ - (дельта-)рецептори, χ - (каппа-) рецептори, σ - (сигма-)рецептори, ϵ - (епсилон-)рецептори. Найбільш високу щільність опіатних рецепторів виявлено в лімбічній зоні головного мозку — еволюційно прадавній структурі, що відповідає за процеси емоційного збудження, прояви ейфоричних та емоційно-позитивних компонентів дії як нейропептидів, так і опіатних наркотиків із класу морфіну.

Біохімічні механізми функціонування опіатних рецепторів включають у себе вплив утвореної ліганд-рецепторної системи на обмін внутрішньоклітинних месенджерів — цАМФ та іонів Ca^{2+} , що визначає безпосередні фізіологічні ефекти дії того чи іншого нейропептиду.

Питання для самоконтролю

1. Що таке нейромедіатори (нейротрансмітери)?
2. Охарактеризуйте дофамінові рецептори
3. На які підкласи поділяються іонотропні рецептори збуджувальних амінокислот?
4. Охарактеризуйте рецептори опіоїдних пептидів.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Пирог Т. П. Харчова біотехнологія : підручник / Т. П. Пирог, М. М. Антонюк, О. І. Скроцька, Н. Ф. Кігель. – К. : Видавництво Ліра-К, 2016. – 408с.
2. Грачева И. М. Технология ферментных препаратов / И. М. Грачева, А. Ю. Кривова. – М. : Элевар, 2000. – 512 с.
3. Безбородов А. М. Ферментативные процессы в биотехнологии / А. М. Безбородов, Н. А. Загустина, В. О. Попов. – М. : Наука, 2008. – 335 с.