

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Кафедра биологической химии

ОСНОВЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ

**Рекомендовано учебно-методическим объединением
по высшему медицинскому, фармацевтическому
образованию в качестве учебно-методического пособия
для студентов учреждений высшего образования,
обучающихся по специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело»**

**Гомель
ГомГМУ
2021**

УДК 577.1(075)
ББК 28.072+52.57я7
О-28

Авторы:

*О. С. Логвинович, А. Н. Коваль, И. А. Никитина, М. В. Громыко,
А. П. Скрыпникова, М. Е. Мазаник, А. И. Грищук, В. Т. Свергун*

Рецензенты:

**кафедра биологической химии
Гродненского государственного медицинского университета;**

доктор биологических наук, профессор,
декан биологического факультета
Гомельского государственного университета им. Ф. Скорины
В. С. Аверин

Основы медицинской биохимии: учеб.-метод. пособие /
О-28 О. С. Логвинович [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2021. — 140 с.
ISBN 978-985-588-239-9

Учебно-методическое пособие предназначено для проведения аудиторных занятий по дисциплине «Основы медицинской биохимии» (компонент УВО) со студентами 2 курса учреждений высшего образования, обучающихся по специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело».

**УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072+52.57я73**

ISBN 978-985-588-239-9

© Учреждение образования
«Гомельский государственный
медицинский университет», 2021

СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АК	— аминокислота;
АОЗ	— антиоксидантная защита
АпоА	— апобелок А
АпоВ	— апобелок В
АТФ	— аденозинтрифосфат
БО	— биологическое окисление
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека
ВОО	— величина основного обмена
ГЛП	— гиперлипопротеинемия
глюкозо-6-ф-ДГ	— глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГНГ	— глюконеогенез
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт
ИЛ-6	— интерлейкин-6
ИМТ	— индекс массы тела
ИФР	— инсулиноподобный фактор роста
КДЦ	— комплексы дыхательной цепи
КОС	— кислотно-основное состояние
ЛПВП	— липопротеид высокой плотности
ЛПОНП	— липопротеид очень низкой плотности
ЛХАТ	— лецитинхолестеролацилтрансфераза
мтДНК	— митохондриальная ДНК
мтДЦ	— митохондриальная дыхательная цепь
Оф	— окислительное фосфорилирование
ПАУ	— полициклические ароматические углеводы
ПФП	— пентозофосфатный путь
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РТК	— рецепторы с тирозинкиназной активностью
СД	— сахарный диабет
СЖК	— свободные жирные кислоты
СИР	— субстрат инсулинового рецептора
СОД	— супероксиддисмутаза
ТГ	— триглицериды
УДФ	— уридиндифосфат
УРЭ	— углеводный респонсивный элемент
УФО	— ультрафиолетовое облучение
ФКУ	— фенилкетонурия
ФНО	— фактор некроза опухолей
ФРТ	— фактор роста тромбоцитов
ФРФ	— фактор роста фибробластов
ХС	— холестерол
цАМФ	— циклический аденозин-3',5'-монофосфат
ЦТК	— цикл трикарбоновых кислот
ЭФР	— эпидермальный фактор роста
ядДНК	— ядерная ДНК

^{137}Cs — радиоактивный изотоп цезия с массой 137
Araf1 — фактор активации апоптоза 1
APP (amyloid precursor protein) — белок-предшественник амилоида;
bax (BCL2 associated X, apoptosis regulator) — проапоптотический белок bax
bcl2 (B-cell leukemia/lymphoma gene number 2) — ген, кодирующий антиапоптотический белок BCL2
bcr/abl (breakpoint cluster region/Abelson leukemia) — онкоген, кодирующий рекомбинантный белок BCR/ABL, в котором ABL активирован
cdk (cyclin-dependent kinase) — циклин-зависимая киназа
cdk4 (cyclin-dependent kinase) — циклин-зависимая киназа, изоформа 4
CKI (cyclin kinase inhibitor) — ингибитор циклиновых киназ
CRD (cysteine rich domain) — домен, богатые цистеином
DIDMOAD (англ. Diabetes Insipidus, Diabetes Mellitus, Optic Atrophy, Deafness) — несахарный, сахарный диабет, атрофия диска зрительного нерва, нейросенсорная тугоухость
E2F (eukaryote 2 factor) — транскрипционный фактор
ERK (extracellular signal-regulated kinase) — киназа, регулируемая внеклеточными сигналами
FAP (fibroblast activation protein alpha) — ген, кодирующий белок FAP
Fas, FasR — Fas-рецептор, член семейства рецепторов фактора некроза опухолей (FS-7 ассоциированный поверхностный антиген)
FGF 3 (fibroblast growth factor 3) — фактор роста фибробластов, изоформа 3
FGF4 (fibroblast growth factor 4) — фактор роста фибробластов, изоформа 4
HbA — гемоглобин A
HbS — гемоглобин S
hif-1 — фактор транскрипции, индуцируемый гипоксией
HTLV — Т-клеточный вирус лейкоза человека
IAP — ингибитор белков апоптоза
IL — интерлейкины
KSS (англ. Kearns-Sayre syndrome) — пигментный ренит, атаксия, офтальмоплегия, мышечная слабость, нарушение сердечной проводимости
LHON (англ. Leber hereditary optic neuropathy) — наследственная оптическая нейропатия Лебера или атрофия зрительного нерва Лебера
LTR (long terminal repeats) — длинные концевые повторы

MAP — митоген-активирующий протеин
Mdm2 (human homolog of double minute 2) — белок Mdm2, E3 убиквитин-протеиназа для p53
MELAS (англ. Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes) — митохондриальная энцефаломиопатия, лактатацидоз, инсультоподобные эпизоды
MERRF (англ. Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers) — миоклоническая эпилепсия с «рваными красными мышечными волокнами»
NARP (англ. Neuropathy, ataxia and retinitis pigmentosa) — нейропатия, атаксия, пигментный ренит
PCNA (proliferating cell nuclear antigen) — ядерный антиген пролиферирующей клетки
PCNA — ядерный антиген пролиферирующей клетки
PDGFB (the beta polypeptide of the platelet-derived growth factor) — β -полипептид фактор роста тромбоцитов
PS (англ. Pirson sendrome) — синдром Пирсона, характеризуется нефропатическим синдромом, серобластической анемией, дисфункцией поджелудочной железы, в основе мультиорганного патологического процесса лежат делеции мтДНК и гетероплазмия
RAR — рецептор ретиноевой кислоты
ras — онкоген из саркомы крыс (rat sarcoma)
Rb (retinoblastoma) — белок ретинобластомы
Rb1 (retinoblastoma) — белок ретинобластомы, изоформа 1
Rho — фактор терминации транскрипции у прокариот
RRF (англ. Ragged-Red Fibers) — один из важных маркёров митохондриальных болезней, наличие «рваных красных волокон» при исследовании мышечного биоптата
USF (upstream stimulatory factor) — фактор транскрипции
VEGF — сосудистый эндотелиальный фактор роста

ВВЕДЕНИЕ

План проведения практического занятия и расчет учебного времени:

- | | |
|---------------------------------|-----------|
| 1. Введение | — 5 мин. |
| 2. Теоретическая часть занятия | — 60 мин. |
| 3. Контроль усвоения темы | — 10 мин. |
| 4. Заключительная часть занятия | — 5 мин. |

Место проведения занятий

Занятие проводится в учебной аудитории.

Методические рекомендации по проведению практических занятий

1. Введение. В начале занятия преподаватель озвучивает тему занятия, определяет цели и формулирует задачи. В кратком вступительном слове преподаватель раскрывает актуальность темы, формирует представления о взаимосвязи изучаемого материала с ранее изученными дисциплинами. Заканчивать данный этап рекомендуется пояснением вопросов, возникших у студентов в процессе самоподготовки.

2. Теоретическая часть занятия. Теоретическая часть занятия предполагает контроль уровня знаний — устный опрос студентов. При этом следует обратить внимание на степень усвоения лекционного материала. Кроме того, рассматриваемые теоретические вопросы необходимо подкреплять знаниями курса гистологии, нормальной физиологии, биологической химии и др. Теоретическая часть может включать представление студентами презентаций с последующим их обсуждением. Рекомендуется обращать внимание студентов на то, что изучаемый материал может быть использован в дальнейшем при изучении клинических дисциплин. Теоретическая часть занятия заканчивается разбором тестовых вопросов для самоконтроля знаний, имеющихся в методических разработках для преподавателей и студентов.

3. Контроль усвоения темы. Контроль усвоения темы производится путем фронтального устного или письменного опроса студентов, а также студент отвечает на вопросы для самоконтроля, имеющиеся в методической разработке.

4. Заключительная часть занятия. Подводятся итоги занятия. Преподаватель оценивает уровень знаний каждого студента, выставляет оценки в журнал, обобщает материал всего занятия, обращает внимание студентов на допущенные ошибки, объявляет тему следующего занятия.

ЗАНЯТИЕ № 1
ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ
МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ. БЕЛКИ.
НАРУШЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ
СТРУКТУРЫ БЕЛКА КАК ОСНОВА
КОНФОРМАЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Цель занятия: изучить предмет и задачи медицинской биохимии. Обобщить знания о структуре и физико-химических свойствах белка. Сформировать представление о нарушении пространственной структуры белка как основе конформационных заболеваний.

Требования к исходному уровню знаний

1. Понятие о мутациях и механизмах мутагенеза. Основные этапы биосинтеза белка.
2. Пути метаболизма аминокислот, пуриновых оснований, гема в норме.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Предмет и задачи медицинской биохимии.
2. Общая характеристика биосинтеза белка, процессинг и фолдинг белков.
3. Нарушение пространственной структуры белка как основа конформационных заболеваний.
4. Точечная мутация, как причина нарушения пространственной структуры белка. Серповидно-клеточная анемия.
5. Амилоидозы и серпинопатии — заболевания, вызванные изменением пространственной структуры белка и его агрегацией.
6. Нейродегенеративные заболевания, обусловленные изменением пространственной структуры белка: хорей Гентингтона и болезнь Паркинсона.
7. Белки прионы. Прионные заболевания.

1. Предмет и задачи медицинской биохимии

Медицинская биохимия — область медицины, которая изучает метаболические процессы и их регуляцию в организме человека в норме и при развитии патологии.

Предметом медицинской биохимии является изучение состояния метаболизма человека в норме и при различных формах патологии.

В настоящее время все отчетливее становится взаимосвязь между состоянием метаболизма и болезнями, обусловленными неправильным питанием, образом жизни, действием неблагоприятных факторов окружающей среды [1]. Возможно, именно недостаточное понимание молекулярных механизмов этой взаимосвязи привело к тому, что сердечно-сосудистые заболевания, ожирение, диабет и атеросклероз являются глобальными проблемами человечества.

Для разработки способов профилактики, методов своевременной диагностики и патогенетически обоснованной терапии кроме знания основных метаболических путей, изучение которых составляет основу биохимии, важно понимать механизмы регуляции различных этапов метаболизма, посредством взаимодействия целого ряда сигнальных молекул. Взаимодействия происходят на трех уровнях [2]: на уровне генома, протеома и метаболома (рисунок 1.1). Все три уровня связаны между собой и оказывают взаимное влияние друг на друга.



Рисунок 1.1 – Уровни регуляции метаболизма в организме человека

Знание и понимание предмета медицинской биохимии поможет практикующему врачу в скрининге, диагностике, мониторинге и лечении большинства болезней человека. Медицинская биохимия создает основу для разработки новых методов диагностики (определения уровня онкологических маркеров, следовых элементов, лекарств, специфических белков, гормонов), оценки эффективности лечения, и формирования прогнозов развития заболеваний [2].

Медицинская биохимия связана с клеточной биологией, молекулярной биологией, анатомией, физиологией и другими науками. Без знания всех этих дисциплин практикующему врачу невозможно эффективно решать клинические проблемы.

2. Общая характеристика биосинтеза белка, процессинг и фолдинг белков

Протеомика — наука, изучающая структуру и функции всех белков живого организма (протеом), а также взаимосвязи между ними. Изучением протеома человека, построением молекулярных белковых атласов и поиском белковых маркеров патологических процессов занимается созданная в 2001 г. организация HUPO (Human Proteome Organization).

Белки выполняют множество функций и обеспечивают существование жизни. Линейные цепи белка состоят из соединенных пептидными (ковалентными) связями 20 протеиногенных аминокислот, последовательность которых закодирована в геноме. Одну аминокислоту кодирует последовательность из трёх нуклеотидов в ДНК-кодирующий триплет. Большинство аминокислот могут кодироваться разными триплетами, в связи с чем генетический код является вырожденным (избыточным).

Для функционирования белковых молекул важна не только линейная, но и пространственная структура. Для формирования последней, линейные цепи белковых молекул должны сложиться в уникальные для каждого типа белков пространственные структуры. Нужно соблюсти два закона — физика и эволюция. Правильно свернутый белок должен не только подчиняться закону требования минимума энергии, но и остаться при этом нативным.

Фолдинг, или формирование пространственной структуры, является важнейшим этапом в формировании функционально активной белковой молекулы и направлен на достижение термодинамически наиболее устойчивой конформации, обладающей минимумом свободной энергии. Фолдинг белка можно представить как процесс перемещения вглубь «энергетической воронки». На рисунке 1.2 показано, что в верхней части «воронки» возможно большое число конформаций, следовательно, внутренняя конформационная энтропия велика. По мере свертывания белка и продвижения его вниз по «воронке» число возможных конформационных состояний уменьшается, что приводит к уменьшению свободной энергии и формированию энергетически стабильной молекулы. Информация о пространственной структуре белка заложена в особенностях первичной структуры молекулы. Зная последовательность аминокислот в белке (первичную структуру) можно предсказать его пространственную структуру. Такими исследованиями занимается биоинформатика.

Необходимо отметить, что для цепи из 100 аминокислот теоретически возможно существование около 10^{50} различных конформаций. Как может белок найти самые термодинамически устойчивые из них за 1 с (типичный период фолдинга молекулы),

не выяснено. Рассматриваются несколько возможных механизмов протекания этого процесса. По одной из гипотез, процесс фолдинга включает несколько обязательных этапов. В первую очередь, образуются локальные вторичные структуры. Затем происходят взаимодействия между более удаленными частями цепи. Например, на первом этапе образуются две α -спирали, а на последующих — идет формирование супер-вторичной структуры, доменов и всего белка. В соответствии с другой моделью, фолдинг начинается со спонтанного перехода полипептида в компактное состояние за счет гидрофобных взаимодействий между неполярными остатками. В результате подобного «гидрофобного коллапса» формируется «расплавленная глобула». Механизм фолдинга большинства белков, возможно, включает элементы обеих описанных моделей (рисунок 1.3) [4–5].

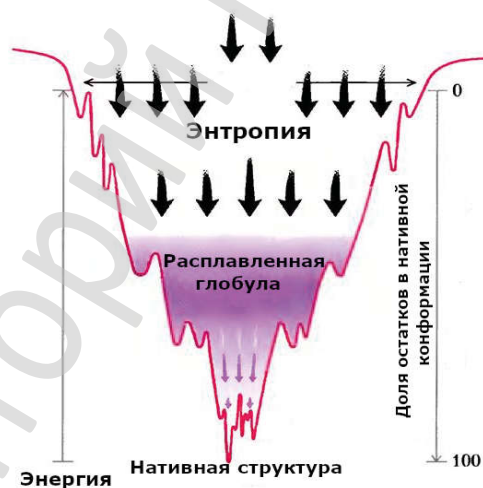


Рисунок 1.2 — Термодинамика процесса фолдинга белка [3, представлено с изменениями]

Молекулы белка, находящиеся в переходном состоянии, склонны к образованию нерастворимых агрегатов (рисунок 1.3). Существует ряд механизмов, предотвращающих агрегацию фолдирующих белков [5]. Наиболее хорошо изучена роль шаперонов — белков, которые взаимодействуют с частично свернутыми или неправильно свернутыми белками и обеспечивают нормальный фолдинг.



Рисунок 1.3 — Схема последовательного формирования нативной третичной структуры белка [6]

Среди шаперонов различают:

- конститутивные белки, высокий базальный синтез которых не зависит от стрессовых воздействий на клетки;
- индуцибельные, синтез которых в нормальных условиях идет слабо, но при стрессовых воздействиях на клетку резко увеличивается.

Индукцибельные шапероны относят к «белкам теплового шока» (БТШ или HSP от англ. — heat-shockproteins), быстрый синтез которых отмечают в клетках, подвергшихся любым стрессовым воздействиям. Название «белки теплового шока» возникло в результате того, что их открытие было сделано в процессе исследования поведения клеток при нагревании. Так, изменение температуры от 37 до 42 °С вызывает нарушение фолдинга многих белков и запускает процесс синтеза БТШ. Последние, в свою очередь, осуществляют процесс восстановления нативной структуры белка.

Шапероны отличаются по молекулярной массе, которая колеблется в пределах от 15–30 кДа до 100–110 кДа. В соответствии с молекулярной массой выделяют 6 основных групп шаперонов: Ш-90, Ш-70, Ш-60, Ш-40 и др.

Принцип действия шаперонов можно рассмотреть на примере двух хорошо изученных типов: Hsp60 и Hsp70 (рисунок 1.4). Так, Hsp70 взаимодействуют с развернутыми участками полипептидных цепей длиной в 7–9 аминокислот, обогащенных гидрофобными радикалами, и предотвращает их агрегацию (рисунок 1.4 А). Механизм действия Hsp60 заключается в формировании так называемой «бочки», в полость которой помещается белок (рисунок 1.4 Б). Все конформационные изменения фолдирующего белка проходят внутри изолированной полости и сопряжены с гидролизом АТФ. В паре с шаперонами работают шаперонины, которые формируют «крышку» для «бочки» и изолируют полость от окружающей среды, обеспечивают правильное сворачивание полипептидной цепи [6].

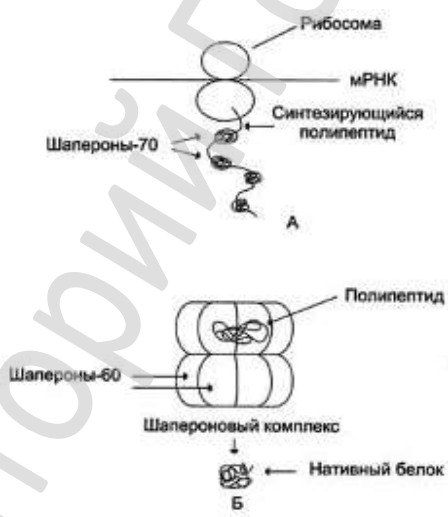


Рисунок 1.4 — Участие шаперонов в фолдинге белков.
А — участие шаперонов-70 в предотвращении гидрофобных взаимодействий между участками синтезирующегося полипептида;
Б — формирование нативной конформации белка в шаперонах-60 [7]

3. Нарушение пространственной структуры белка как основа конформационных заболеваний

Некоторая часть синтезируемых молекул белка не способна сформировать правильную нативную структуру. На поверхности таких белковых молекул появляются участки, богатые гидрофобными

группами. Такие участки становятся объектом узнавания шаперонов, которые «пытаются» сформировать нативную структуру белка. Установлено, что кратковременные стрессовые воздействия, увеличивают выработку БТШ и повышают устойчивость организма к длительным стрессовым воздействиям. Так, кратковременная ишемия сердечной мышцы в период бега при умеренных тренировках значительно повышает устойчивость миокарда к длительной ишемии, вызванной стенокардией или закупоркой сосудов сердца тромбом. Поиски способов активации синтеза белков «теплового шока» в клетках является перспективным направлением исследований [8].

Если сформировать нативную структуру с помощью шаперонов не удастся, белок подвергается протеолизу. К такому белку, подлежащему протеолизу, присоединяется специфический консервативный белок — убиквитин (рисунок 1.5), состоящий из 76 аминокислот. Распознавание белка и присоединение убиквитина катализируется специальной системой, состоящей из трех ферментов (E_1 , E_2 и E_3). Убиквитинированные при участии АТФ белки опознаются и поглощаются протеасомами, протеазы которых «нарезают» их на пептиды, имеющие в своем составе 5–17 аминокислот. Образовавшиеся пептиды покидают протеасому и в цитозоле гидролизуются до свободных аминокислот. Подобный механизм называется убиквитин-протеасомной системой деградации белков.

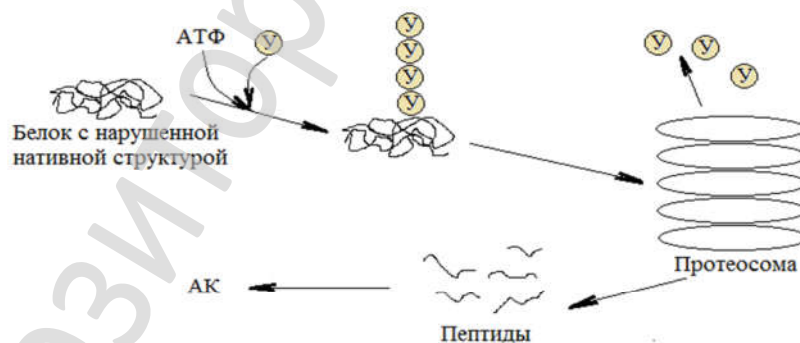


Рисунок 1.5 — Дегградация белка с помощью убиквитин-протеасомной системы

В норме клетка обладает рядом механизмов, позволяющих ей синтезировать белки и контролировать их качество. Но при нарушении этих механизмов в клетке могут формироваться нерастворимые агрегаты, состоящие из молекул белка с неправильным фолдингом.

Такие агрегаты нарушают функцию клеток, что проявляется в форме различных заболеваний. Диабет II типа, болезнь Альцгеймера, хорей Хантингтона, болезнь Паркинсона возникают в результате нарушения нормального фолдинга белка — мисфолдинга. В большинстве случаев при подобных болезнях клетками секретируется белок в неправильно свернутом виде, в результате чего он превращается в нерастворимые внеклеточные волокна (в норме данный белок растворим). Образующиеся неразветвленные волокна имеют диаметр от 7 до 10 нм и упорядоченную структуру. Они содержат много фрагментов со структурой β -слоев. Эти β -слои ориентированы перпендикулярно оси волокна (рисунок 1.6).

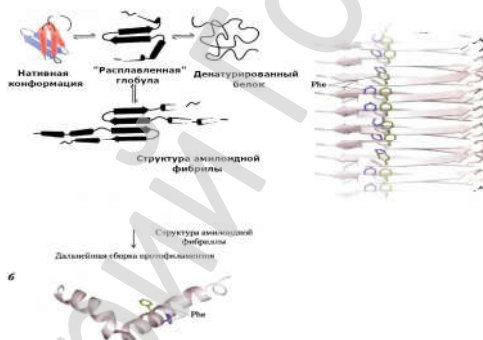


Рисунок 1.6 — Образование ядра амилоида [3]

Центральная часть β -слоя формируется до **того, как произойдет правильная укладка остального белка, так что** β -слои одного или нескольких не полностью свернутых белков могут взаимодействовать между собой, образуя волокна (рисунок 1.6). Стабилизация данной структуры осуществляется ароматическими остатками аминокислот (рисунок 1.7).

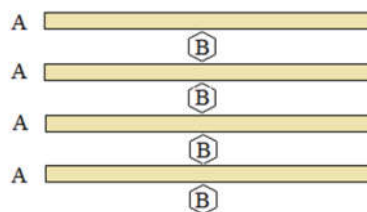


Рисунок 1.7 — Формирование амилоидной фибриллы (A — фрагмент β -слоя, формирующий амилоидную фибриллу; B — радикалы остатков ароматических аминокислот)

4. Точечные мутации как причина нарушения пространственной структуры белка. Серповидно-клеточная анемия

Серповидно-клеточная анемия — результат мутации гена, кодирующего β -цепь гемоглобина. При этом в положении 6 вместо гидрофильной полярной глутаминовой кислоты появляется гидрофобный нейтральный валин.

Молекула валина на поверхности одной β -цепи гемоглобина хорошо «вписывается» в гидрофобный карман на поверхности β -цепи другой молекулы. В результате происходит полимеризация молекул восстановленного гемоглобина внутри эритроцитов и резкое снижение его растворимости (рисунок 1.8). В кислой среде он выпадает в осадок и деформирует эритроциты. Форма двояковогнутых дисков, характерная для нормальных эритроцитов, сменяется на серповидную или звездчатую. Агрегаты полимеров гемоглобина повреждают клеточную мембрану эритроцита и увеличивают ее проницаемость.

Полимеры гемоглобина S прочно связываются с эндоплазматической частью гликофорина и белками полосы 3 эритроцитов. Это способствует дальнейшей агрегации белков гемоглобина и изменению распределения отрицательного заряда на поверхности серповидной клетки. В результате серповидные эритроциты прочно адгезируют к клеткам эндотелия капилляров, что способствует закупорке капилляров и нарушению микроциркуляции.

Приступы болей, на которые обычно жалуются пациенты во время кризов при серповидноклеточной анемии, являются результатом закупорки капилляров в разных тканях, что лишает клетки тканей кислорода и вызывает их повреждение [4]. Серповидные клетки захватываются и разрушаются фагоцитами, главным образом в селезенке. В результате развивается гемолитическая анемия и, вследствие повышения скорости распада гемоглобина, увеличивается уровень билирубина в крови.

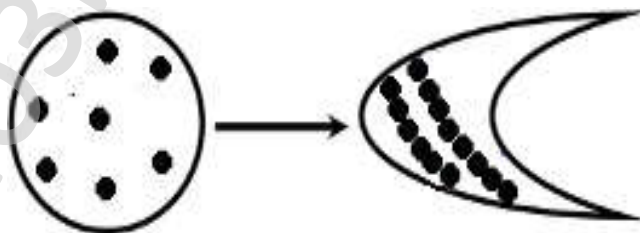


Рисунок 1.8 —Изменение формы эритроцита вследствие агрегации гемоглобина

5. Амилоидозы и серпинопатии — заболевания, вызванные изменением пространственной структуры белка и его агрегацией

Серпинопатии. Ингибиторы сериновых протеаз (серпины) представляют собой широко распространенное суперсемейство белков. Наиболее хорошо изученными представителями этого семейства выступает α_1 -антитрипсин, основной функцией которого является защита легких от разрушающего действия эластазы нейтрофилов. В центре молекулы α_1 -антитрипсина располагается β -складчатость, а над ней неструктурированный участок — подвижная петля (рисунок 1.9). Если молекула α_1 -антитрипсина сохраняет нативную конформацию, подвижная петля не может взаимодействовать с β -складчатостью. В случае мутации возможно формирование димерной формы путем взаимодействия подвижной петли одной молекулы с β -складчатостью другой, которая затем может стать инициатором образования полимера. При этом, α_1 -антитрипсин накапливается в гранулярной эндоплазматической сети печени в форме включений. Следствием накопления таких включений может быть ювенильный гепатит, цирроз печени или гепатоцеллюлярный рак. Выраженный дефицит ингибитора ведет также к нарушению физиологического баланса между протеазами и их ингибиторами в ткани легких, следствием чего является раннее развитие эмфиземы легких.

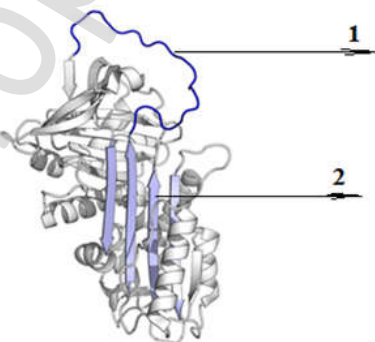


Рисунок 1.9 — Структура α_1 -антитрипсина (1 — подвижная петля; 2 — β -складчатость) [9]

Незначительное количество ингибитора образуется локально в легких макрофагами и бронхиальными эпителиоцитами, поэтому процессы полимеризации ингибитора протекают не только в пече-

ни, но и в легких, что еще в большей степени снижает количество действующего ингибитора.

Полимеры α_1 -антитрипсина в легких служат хемоаттрактантами для нейтрофилов. Оказывая провоспалительный эффект, полимеры ингибитора способствуют развитию воспаления и закислению среды. Это, в свою очередь, стимулирует полимеризацию. Аналогичным действием обладает кислая реакция дыма сигарет.

Еще одно заболевание, причиной которого является полимеризация ингибитора — семейная энцефалопатия с включениями нейросерпиновых телец. Заболевание развивается в возрасте 20–30 лет и проявляется в форме деменции, прогрессирующего снижения познавательной функции мозга, эпилепсии.

Амилоидоз. Термин амилоид, от которого произошло название заболевания, впервые был предложен Р. Вирховым в середине XIX в. Исследуя срезы печени, он обнаружил внеклеточный материал по свойствам подобный крахмалу. Спустя некоторое время была показана белковая природа этого материала, однако термин, предложенный Вирховым, используется до настоящего времени.

Образование амилоида может происходить в различных органах и сопровождать развитие многих заболеваний. Однако общие свойства амилоидов сходны. Все они сформированы протяженными неразветвленными фибриллами, обогащенными β -слоями (рисунок 1.10) и устойчивы к воздействию протеаз.

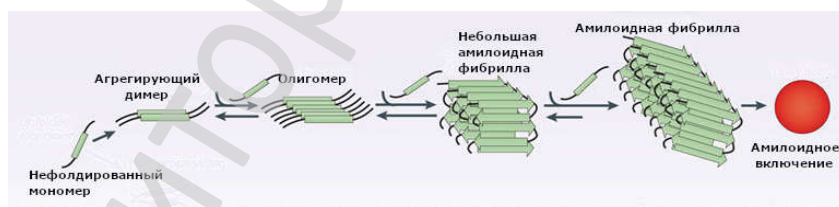


Рисунок 1.10 – Модель формирования структуры амилоида [10, представлено с изменениями]

Первичный амилоидоз связан с биосинтезом избытка легких цепей иммуноглобулинов, способных к агрегации между собой. Его также называют AL амилоидозом (AL — amyloidlightchain). Первичный амилоидоз может поражать сердце, почки, печень, ЖКТ и ЦНС. Поражение почек проявляется нефротическим синдромом, а при отложении амилоида в миокарде развиваются разнообразные нарушения ритма, отмечается прогрессирующее развитие сердечной недостаточности.

Диспепсические явления (запоры, диарея) и синдром нарушенного всасывания обусловлены амилоидозом желудочно-кишечного тракта. Прогноз при первичном амилоидозе хуже, чем при других формах заболевания. Средняя продолжительность жизни не превышает двух лет после начала проявлений. Наиболее частыми причинами смерти являются сердечная недостаточность, почечная недостаточность, сепсис, сосудистые осложнения.

Вторичный системный амилоидоз вызывается гиперсекрецией печенью белков острой фазы α -глобулиновой фракции в ответ на любое хроническое воспаление (ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева, псориатический артрит, различные опухоли, лимфогранулематоз, неспецифический язвенный колит и болезнь Крона, туберкулез, остеомиелит, бронхоэктатическая болезнь). Его также называют АА (амилоид А) амилоидоз. При этом типе амилоидоза поражаются главным образом почки. Относительно редко поражаются печень и (или) селезенка (около 10 % случаев) и сердце. Прогноз во многом зависит от природы основного заболевания.

Семейный (или наследственный) амилоидоз — единственный тип амилоидоза, который наследуется. Амилоид у таких людей состоит из мутантных форм транстиретина (преальбумина). Мутантные формы транстиретина также являются причиной развития системного старческого амилоидоза. При этом типе амилоидоза поражаются в основном сердце и сосуды. Причиной смерти служит сердечная недостаточность.

6. Нейродегенеративные заболевания, обусловленные изменением пространственной структуры белка: хорея Гентингтона и болезнь Паркинсона

Хорея Гентингтона (chorea; от греч. choreia — пляска) — это наследственное нейродегенеративное заболевание головного мозга. Характеризуется произвольными быстрыми нерегулируемыми движениями, возникающими в различных мышечных группах и прогрессирующим снижением интеллекта вплоть до развития глубокой деменции (слабоумия).

В основе заболевания лежит удлинение участка гена, кодирующего белок хангтинтин, состоящий из 3144 аминокислот (рисунок 1.11). Экзон 1 содержит тринуклеотидные повторы, кодирующие глутамин. У здоровых людей обычно имеется от 10 до 34 таких повторов. У людей с проявлением заболевания таких повторов более 40. При этом мутантный хангтинтин может формировать агрегаты в коре головного мозга и вызывать гибель нейронов.

Функция белка хангтинтина неизвестна, но он необходим для развития и поддержания нормального функционирования

головного мозга. Исследования показали, что хангтинтин необходим для нормального развития мышц. Нокаутные по этому гену мыши погибали на 7–8-й день эмбриогенеза.

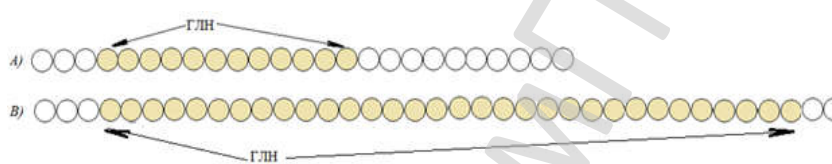


Рисунок 1.11 – Структура белка хангтинтина (А) и его мутантной формы (В)

Болезнь Паркинсона (дрожательный паралич) — широко распространенное нейродегенеративное заболевание.

Характерными признаками паркинсонизма являются двигательные расстройства: дрожание (тремор) пальцев рук, нижней челюсти и языка, головы и век, замедление движений, нарушение координации и т. д. У некоторых больных возникают проблемы с речью и сном. Это связано с гибелью нейронов черной субстанции, вырабатывающих дофамин. На первых этапах развития заболевания функциями погибших в этой области нейронов компенсируются нейронами из других участков, но, когда доля утраченных клеток достигает 50–80 %, внешние проявления становятся хорошо заметными — возникают неконтролируемые движения.

Выделено несколько белков, мутации генов которых причастны к развитию болезни Паркинсона. Так, мутация в гене, кодирующем белок α -синуклеин, приводит к формированию белковых фибрилл (рисунок 1.12). Из них формируются тельца Леви в дофамин-продуцирующих клетках черной субстанции головного мозга. Впервые тельца Леви были описаны немецким патологоанатомом Леви в 1912 г. при исследовании клеток черной субстанции у людей, умерших от паркинсонизма. α -синуклеин — небольшой белок, состоящий из 144 аминокислот. Его функция недостаточно изучена [11].

Болезнь Паркинсона может быть следствием мутации в гене, кодирующем другой белок — паркин, состоящий из 465 аминокислот. Паркин способствует присоединению убиквитина к белкам с мисфолдингом. При мутации паркина механизм протеолиза мисфолдированных белков нарушается.

Из телец Леви выделен также белок BAG5, который может блокировать работу нативного паркина и способствовать гибели нейронов черной субстанции.

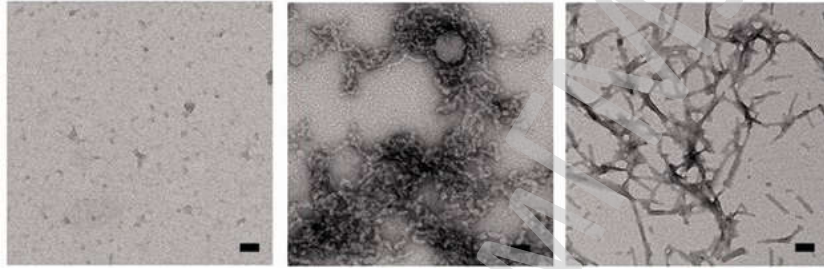


Рисунок 1.12 — Изображение белка α -синуклеина полученное с помощью электронной микроскопии (шкала, 50 нм).
А — мономеры α -синуклеина; **Б** — олигомеры α -синуклеина;
В — фибриллы α -синуклеина [12]

Болезнь Альцгеймера. Основные патологические признаки заболевания описаны А. Альцгеймером около 100 лет назад и представлены двумя основными морфологическими изменениями: внеклеточно расположенными сенильными бляшками и внутриклеточными нейрофибрилярными сплетениями.

Основной компонент сенильных бляшек — β -амилоид. Белком-предшественником β -амилоида является APP, содержащий порядка 700 аминокислот, который относится к классу протеогликанов (рисунок 1.13).

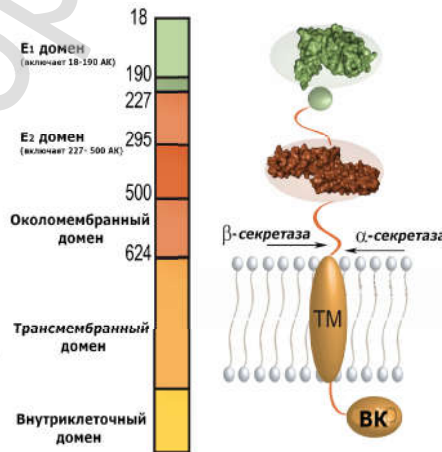


Рисунок 1.13 — Схема строения APP-белка с указанием его основных доменов: E1, E2, ТМ — трансмембранного и ВК — внутриклеточного [13, представлено с изменениями]

APP участвует в построении ионных каналов. Мутации в гене, кодирующем APP, могут вызвать образование β -амилоида — белка, образующего нерастворимые фибриллы, нарушающие структуру и функции нервных клеток. Как показано на рисунке 1.15, β -амилоид формируется в результате ограниченного протеолиза — процесса вырезания части аминокислотной последовательности ферментами секретазы. Схематически этот процесс представлен на рисунке 1.14.

Рисунок 1.14 — Схематическое изображение путей процессинга APP-белка неамилоидогенного (с участием α -секретазы) и амилоидогенного (с участием β -секретазы и γ -секретазы) [14, представлено с изменениями]

Образование β -амилоида тесно связано с другой группой белков, которые были названы пресенилинами. Физиологическая роль самих пресенилинов в норме полностью не выяснена. Однако мутация в кодирующих их генах является одной из основных причин развития болезни Альцгеймера.

Нейрофибрилярные сплетения (англ. — neurofibrillarytangle, NFT) — еще одна патологическая структура, описанная А. Альцгеймером. Она формируется из гиперфосфорилируемого тау-белка. Основная функция тау-белков — соединяясь с микротрубочками стабилизировать отростки нейронов (рисунок 1.15). После синтеза тау-белки подвергаются посттрансляционному процессингу, важное место в котором занимают реакции фосфорилирования. Основным ферментом, который катализирует фосфорилирование тау-белка, является киназа гликогенсинтазы-3. Изменение ее активности приводит к гиперфосфорилированию тау-белка и его конформационным изменениям [14].

Первые проявления болезни Альцгеймера — нарушение памяти и развивающееся вскоре расстройство речи. Сначала больные забывают текущие события, затем отдаленные. Постепенно утрачиваются любые навыки: пациенты не в состоянии самостоятельно одеться, умыться, поесть. Возникают изменения личности, депрессия. Средняя продолжительность жизни таких больных — около 8 лет.

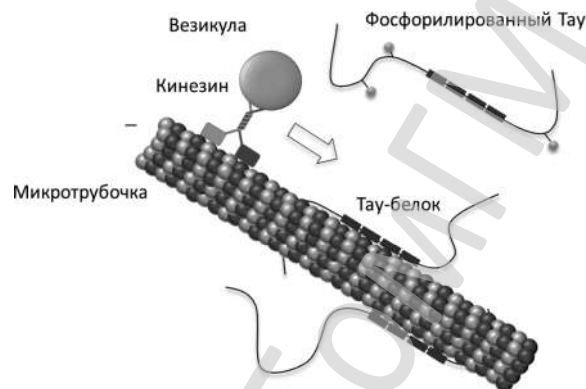


Рисунок 1.15 — Тау-белок, соединенный с микротрубочкой [14]

По данным ВОЗ, среди 10 ведущих причин смерти по всему миру болезнь Альцгеймера и другие виды деменции поднялись на 5-ю строчку [15]. Показательно, что еще в начале 2000-х гг. это место принадлежало ВИЧ и СПИДу, которые теперь даже не входят в первую десятку. 21 сентября объявлен Всемирным днем борьбы с болезнью Альцгеймера.

7. Белки прионы. Прионные заболевания

Аномальное сворачивание белков является причиной нескольких редких дегенеративных заболеваний мозга у человека и животных. Наиболее известными среди них являются болезнь куру и болезнь Крейтцфельда — Якоба у людей, бычья губчатая энцефалопатия — «коровье бешенство» у крупных сельскохозяйственных животных, скрепи (почесуха) у овец, коз и т. д.

Заболевание овец, названное «скрепи» (англ. — scrapie) было описано еще в середине XVIII в. Оно сопровождается нарушением координации движений и гибелью животных. В мозге таких животных обнаруживают вакуоли на месте погибших клеток.

Вначале 20-х гг. XX ст. исследователи Ганс Крейтцфельд и Альфонс Якоб описали заболевание у людей, которое проявлялось слабоумием и ранней смертью. При этом заболевании гибли нейроны мозга и в них накапливались агрегаты белков.

Сходное заболевание (куру) было описано в 50-х гг. XX ст. среди аборигенов Папуа Новой Гвинеи. На фоне прогрессирующей деменции у людей возникали приступы беспричинного смеха, при этом в головном мозге наблюдалась гибель клеток, и накапливались включения, состоящие из агрегировавших белков.

Все эти заболевания обусловлены изменением структуры всего лишь одного белка, получившего название прион или PrP^C (от аббревиатуры английской фразы «proteinaceous infectious particle») — белковая инфекционная частица. Это относительно простой белок с молекулярной массой 27–30 кДа, состоящий из 253 остатков аминокислот (рисунок 1.16). Он синтезируется в нейронах в виде предшественника и подвергается в последующем ограниченному протеолизу и посттрансляционной модификации. Данный белок участвует в процессе клеточного распознавания и передачи нервного импульса через рецепторы. Нативные прионы здоровых людей относятся к группе белков, в которых почти 40 % молекул формируют α -спирали [4, 16]. PrP^C включает три α -спирали и две короткие β -складки. В норме прионы легко гидролизуются протеазами и не образуют агрегатов между собой.

Измененный прион (PrP^{Sc}) состоит в основном из β -складчатых структур, а оставшиеся α -спирали имеют измененную конформацию (рисунок 1.16). Такой белок легко агрегирует, плохо растворим и очень устойчив к действию протеаз. Следует отметить, что аминокислотные последовательности у PrP^C и PrP^{Sc} идентичны.

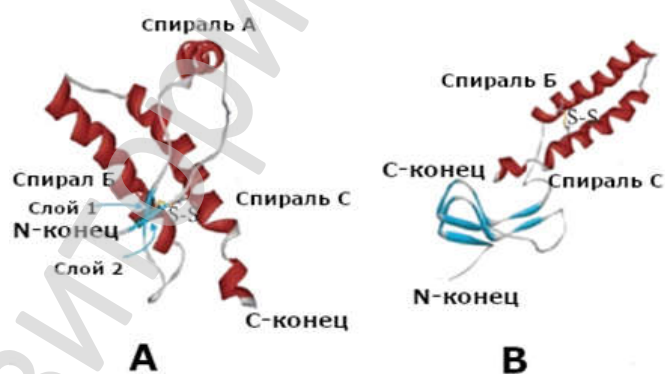


Рисунок 1.16 — Третичная структура прионного белка [17, представлено с изменениями]. А — PrP^C («нормальный») и В — PrP^{Sc} («аномальный»)

Прионный белок (PrP^{Sc}), имеющий аномальную структуру, способен катализировать конформационное превращение гомологичного ему нормального клеточного прионного белка (PrP^C) в себе подобный. Запускается цепная реакция, в ходе которой в ЦНС образуется огромное количество утративших растворимость и неправильно свернутых молекул полимеризовавшихся прионных белков, форми-

руются амилоидные бляшки, разрушающие нормальную структуру ткани, что приводит к развитию у инфицированного человека или животного нейродегенеративного заболевания.

Прионные болезни — это принципиально иная эпидемическая проблема, чем те, с которыми сталкивались эпидемиологи при противодействии вспышкам чумы, дифтерии, гриппа, или, даже, пандемиям ВИЧ-инфекции и сывороточных гепатитов. В первую очередь, это обусловлено очень длительным периодом инкубации. Количество людей, инфицированных прионами, но находящихся в инкубационном периоде болезни, неизвестно. Установлено, что временной интервал между пиком вспышки варианта болезни Крейтцфельдта — Якоба среди людей, последовавшей за эпидемией бешенства коров в Великобритании, составил 9 лет.

С проблемой прионовой безопасности уже столкнулись производители препаратов крови (рисунок 1.17).

Способы, используемые для инактивации вирусов в препаратах крови, сложно адаптировать для инактивации прионов. Прионы проходят через фильтры с порами 25–50 нм в диаметре; сохраняют стабильность своей структуры даже при температуре 90 °С. Их инактивация возможна при 30-минутном автоклавировании с температурой 135 °С, что неприменимо для обеспечения прионовой безопасности препаратов крови.

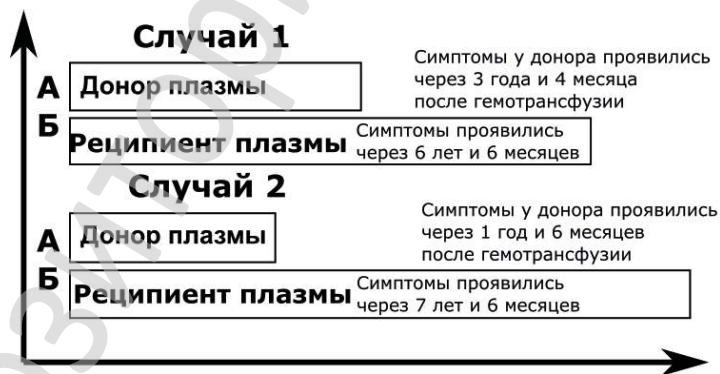


Рисунок 1.17 — Временные интервалы развития симптомов болезни Крейтцфельдта — Якоба у доноров плазмы и реципиентов препаратов крови, полученных из плазмы крови инфицированного прионами человека
А — временной интервал, в течение которого появились симптомы болезни Крейтцфельдта-Якоба у доноров плазмы;
Б — временной интервал, в течение которого появились симптомы болезни Крейтцфельдта — Якоба у реципиентов
[17, представлено с изменениями]

Надо отметить, что один и тот же прион может вызывать различные по тяжести заболевания, при этом очаги поражения головного мозга располагаются в разных областях. Скорость и течение заболевания оказываются также различными. Данное обстоятельство потребовало введения понятия линий прионных болезней. Предполагается, что прионы различных линий отличаются по степени гликозилирования и гидроксигликозилирования остатков пролина или по пространственной структуре. Взаимодействуя с нормальными прионами, такие белки создают только свою копию, поэтому в зараженной клетке образуется только один из очень многих неправильно упакованных вариантов приона. Вероятно, именно по этой причине становится возможным возникновение многочисленных линий прионных болезней.

Таким образом, прионы — это особый класс белков, обладающих инфекционными свойствами. Попадая в организм человека, или спонтанно возникая в нем, они способны вызывать тяжелые неизлечимые заболевания ЦНС, называемые прионные болезни.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Переверзева, Э. В.* Питание современного человека: путь развития или деградации? / Э. В. Переверзева, С. Н. Филипова // Вестник РТМАТ. — 2015. — № 4. — С. 116–130.
2. *Baynes, J. W.* Medical biochemistry / J. W. Baynes, M. H. Dominiczak. — Edinburgh: ELSEVIER, 2019. — 682 p.
3. *Нельсон, Д.* Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс; пер. с англ.— М.: Бином, 2011. — Т. 1. — 694 с.
4. *Таганович, А. Д.* Патологическая биохимия : монография / А. Д. Таганович, Э. И. Олецкий, И. А. Котович; под общ. ред. А. Д. Тагановича. — М.: БИНОМ, 2016. — 447 с.
5. Расплавленная глобула: 45 лет спустя / В. Е. Бычкова [и др.] // Успехи биологической химии. — 2018. — Т. 58. — С. 67–100.
6. Биорганическая химия: учебник / И. В. Романовский [и др.]; под общ. ред. И. В. Романовского. — Минск: Новое знание; М.: ИНФРА-М, 2015. — 504 с.
7. Биохимия [Электронный ресурс]: учебник / под ред. Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 768 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970437629.html>. — Дата доступа: 15.09.2020.
8. *Белан, Д. В.* Белки теплового шока при конформационных болезнях мозга / Д. В. Белан, И. В. Якимова // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2019. — Т. 105, № 12. — С. 1465–1485.
9. Protein Data Bank. — Mode of access: <https://www.rcsb.org/structure/1ATU>. — Date of access: 15.09.2020.
10. *Hilal, A.* The many faces of α -synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target / A. Hilal // Lashuel and Nature Reviews Neuroscience. — 2013. — Vol. 14. — P. 38–48.
11. *Cox, J. A.* Preventing α -synuclein aggregation: The role of the small heat-shockmolecular chaperone proteins [Electronic resource] / J. A. Cox, H. E. Carver // Biochimica et Biophysica Acta. — 2014. — Vol. 1842. — P. 1830–1843. — Mode of access: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.06.024>. — Date of access: 15.09.2020.
12. *Roberts, R. F.* Direct visualization of alpha-synuclein oligomers reveals previously undetected pathology in Parkinson's disease brain / F. R. Roberts, R. Wade-Martins // Javier Alegre-Abarrategui Author Notes Brain. — 2015. — Vol. 138, № 6. — P. 1642–1657.
13. Analysis of the Overall Structure of the Multi-Domain Amyloid Precursor Protein (APP) [Electronic resource] / I. Coburger [et al.] Manuel E. PLOS ONE. — 2013. — Vol. 8, № 12. — Mode of access: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081926.g005>. — Date of access: 15.09.2020.
14. *Татарникова, О. Г.* Бета-амилоид и тау-белок: структура, взаимодействие и прионоподобные свойства / О. Г. Татарникова, М. А. Орлов, Н. В. Бобкова // Успехи биологической химии. — 2015. — Т. 55. — С. 351–390.
15. ВОЗ. 10 ведущих причин смерти в мире. Информационные бюллетени 24 мая 2018 г. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. — Дата доступа: 26.09.2020.
16. *Xavier, E. A.* Prions: the danger of biochemical weapons [Electronic resource] / E. A. Xavier // Food Sci. and Technol. — 2014. — Vol. 34, № 3. — Mode of access: <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6342>. — Date of access: 26.09.2020.
17. *Norrbby, E.* Prions and protein-folding diseases / E. Norrbby // J InternMed. — 2011. — Vol. 270 (1). — P. 1–14.

Занятие № 2 ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ НАРУШЕНИЕМ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ — ЭНЗИМОПАТИИ

Цель занятия: сформировать представление о классификации и основных причинах энзимопатий. Рассмотреть примеры патологических состояний и молекулярные механизмы нарушений обмена аминокислот, пуриновых оснований, гема.

Требования к исходному уровню знаний

1. Понятие о мутациях и механизмах мутагенеза. Основные этапы биосинтеза белка.
2. Пути метаболизма аминокислот, пуриновых оснований, гема в норме.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Медицинская энзимология. Энзимопатии. Классификация.
2. Первичные энзимопатии, механизм развития метаболических нарушений.
 - 2.1. Нарушение образования конечных продуктов (альбинизм).
 - 2.2. Накопление субстратов-предшественников.
 - 2.3. Нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов-предшественников (болезнь Гирке — гликогеноз I типа).
3. Вторичные энзимопатии, причины возникновения, механизм развития метаболических нарушений.
4. Примеры некоторых энзимопатий.
 - 4.1. Энзимопатии обмена аминокислот (фенилкетонурия, алкоптонурия, лейциноз).
 - 4.2. Нарушения метаболизма пуринов (синдром Леша — Нихана).
 - 4.3. Нарушение синтеза гема (порфирии).

1. Медицинская энзимология. Энзимопатии.

Классификация

Энзимопатии (энзим[ы] + греч. pathos: «страдание», «болезнь») — болезни, развивающиеся вследствие отсутствия или снижения активности ферментов. Различают первичные (наследственные) и вторичные (приобретенные) энзимопатии (рисунок 2.1).



Рисунок 2.1 — Классификация энзимопатий

2. Первичные энзимопатии, механизм развития метаболических нарушений

При первичных энзимопатиях дефектные ферменты наследуются, в основном, по аутосомно-рецессивному типу. Гетерозиготы, чаще всего, не имеют фенотипических отклонений. Как правило, первые клинические симптомы наследственных энзимопатий обнаруживаются в раннем детском возрасте, однако в ряде случаев болезнь клинически проявляется у детей более старшего возраста или у взрослых.

Первичные энзимопатии обычно относят к метаболическим болезням, так как происходит нарушение определенных метаболических путей.

На рисунке 2.2 показана общая схема метаболического пути, когда вещество А в результате последовательных ферментативных реакций превращается в продукт П.

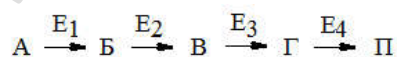


Рисунок 2.2 — Общая схема метаболического пути

Существует несколько вариантов возможных нарушений метаболического пути [1]:

2.1. Нарушение образования конечных продуктов (альбинизм)

Недостаток конечного продукта метаболического пути может приводить к развитию клинических симптомов, характерных для данного заболевания; например, при альбинизме нарушен синтез в меланоцитах пигментов — меланинов (находятся в коже, волосах, радужке, пигментном эпителии сетчатки глаза и влияют на их окра-

ску). Причина метаболического нарушения — дефицит тирозиназы, которая в норме катализирует начальные этапы синтеза меланина (рисунок 2.3).

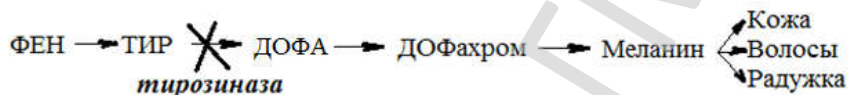


Рисунок 2.3 — Схема нарушения метаболического пути синтеза меланина при альбинизме

При альбинизме наблюдают слабую пигментацию кожи, светлые волосы, красноватый цвет радужки глаза из-за просвечивающих капилляров.

2.2. Накопление субстратов-предшественников

При недостаточности фермента E_3 (рисунок 2.2) будет накапливаться не только вещество В, но и предшествующие ему соединения; например, при **алкаптонурии («болезнь «ерных пеленок»)** нарушено окисление гомогентизиновой кислоты (ГТК) — промежуточного метаболита катаболизма ТИР в тканях (рисунок 2.4). У таких больных наблюдают недостаточность фермента окисления ГТК-диоксигеназы гомогентизиновой кислоты, приводящей к развитию заболевания.

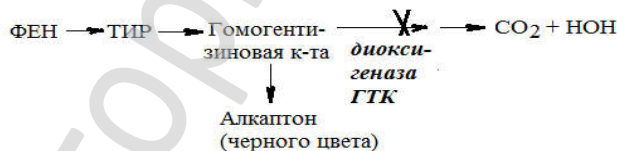


Рисунок 2.4 — Схема метаболического пути при алкаптонурии

В результате увеличиваются концентрация ГТК и выведение ее с мочой. В присутствии кислорода ГТК превращается в соединение черного цвета — алкаптон, поэтому моча таких больных на воздухе окрашивается в черный цвет. Алкаптон также образуется и в биологических жидкостях, оседая в тканях, коже, сухожилиях, суставах. При значительных отложениях алкаптона в суставах нарушается их подвижность.

2.3. Нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов-предшественников (болезнь Гирке — гликогеноз I типа)

Как пример рассмотрим болезнь Гирке (гликогеноз I типа). Клиническое проявление — снижение концентрации глюкозы в крови

(гипогликемия) в перерывах между приемами пищи. Одной из причин болезни Гирке является нарушение распада гликогена в печени и выходом из нее глюкозы вследствие дефекта фермента глюкозо-6-фосфатазы (рисунок 2.5).

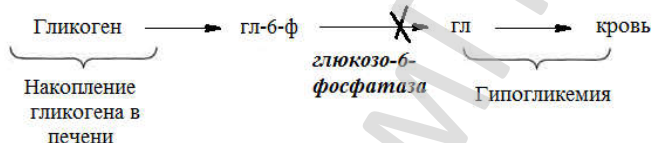


Рисунок 2.5 — Схема метаболического пути при болезни Гирке

Одновременно у таких людей увеличиваются размеры печени (гепатомегалия) вследствие накопления в ней не используемого гликогена.

Примеры первичных энзимопатий:

Наследственные болезни обмена аминокислот — ФКУ, альбанизм, алкоптонурия («болезнь черных пеленок»), «болезнь голубых пеленок», лейциноз («болезнь кленового сиропа») и др.

Наследственные болезни углеводного обмена — гликогенозы, галактоземия, фруктозурию, дисахаридазную недостаточность (синдром мальабсорбции), мукополисахаридозы.

Наследственные болезни обмена липидов — липидозы сыворотки крови, характеризующиеся повышением содержания в крови липидов, холестерина или липопротеидов, и липидозы с внутриклеточными включениями.

Наследственные болезни пуринового и пиримидинового обмена — некоторые формы подагры, синдром Леша — Нихана, ксантинурия.

Наследственные болезни нарушения синтеза гема включают различные виды порфирий.

3. Вторичные энзимопатии, причины возникновения, механизм развития метаболических нарушений

Вторичные энзимопатии являются следствием тех или иных патологических процессов, сопровождающихся нарушением активности ферментов.

А) Алиментарные — связаны с пищевыми факторами и вызываются дефицитом или дисбалансом в пище:

- витаминов (в виде кофермента входят в состав фермента);
- макро- и микроэлементов (являются составной частью некоторых ферментов);
- аминокислот.

Б) Токсические — связаны с ингибированием ферментов пестицидами, гербицидами, лекарствами, промышленными выбросами. Токсические вещества могут избирательно угнетать активность (через денатурацию или ингибирование) или синтез отдельных ферментов.

Примеры:

- антивитамины, присутствующие в некоторых пищевых продуктах, или разрушают витамины или конкурентно замещают их в молекулах ферментов, что приводит к угнетению активности этих ферментов;
- цианиды и СО прочно связываются с железом активного центра цитохромов, что угнетает их активность.

В) Вызванные различными патологическими состояниями организма.

Любое заболевание, нарушающее КОС, изменяющее температуру тела, концентрацию ингибиторов и активаторов, меняет активность ферментов организма.

Примеры:

- при ацидозе и повышении температуры возрастает активность катаболических (лизосом) и падает активность анаболических ферментов;
- все инфекционные болезни (вирусные, бактериальные и паразитарные) протекают с расстройством ферментных систем, это связано с выделением экзо- и эндотоксинов, блокирующих ряд ферментов.

4. Примеры некоторых энзимопатий.

4.1. Энзимопатии обмена аминокислот (фенилкетонурия, алкоптонурия, лейциноз)

А) Обмен фенилаланина и тирозина в норме и при патологии.

Основной путь метаболизма фенилаланина начинается с его гидроксирования, в результате чего образуется тирозин. Кроме использования в синтезе белков, тирозин в разных тканях выступает предшественником таких соединений, как катехоламины, тироксин, меланины и катаболизируется до CO_2 и H_2O (рисунок 2.6).

Фенилкетонурия

ФКУ обусловлена дефицитом фермента фенилаланингидроксилазы (ФАГ), осуществляющей превращение ФЕН в ТИР. Описана в 1934 г. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Частота среди новорожденных колеблется от 1:5000 до 1:14 000.

Отсутствие в печени ФАГ препятствует нормальному превращению ФЕН пищи в ТИР, поэтому ФЕН используется лишь при синтезе белка. Избыток ФЕН и его производные (фенольные кислоты), образующиеся по альтернативному пути (рисунок 2.7), оказывают токсическое воздействие на головной мозг. Выделение с мочой фенилкетона и дало название «фенилкетонурия» [2].

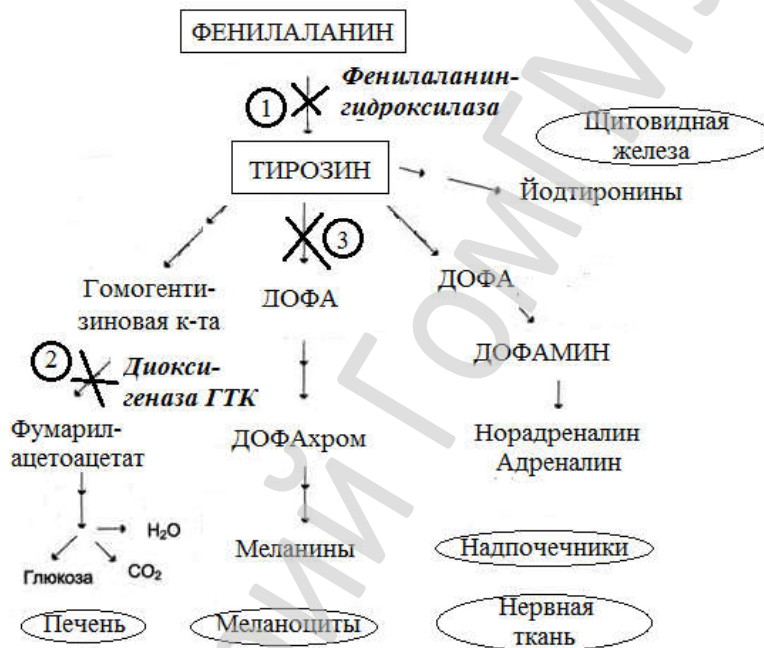


Рисунок 2.6. — Метаболизм фенилаланина и тирозина.
 Цифрами обозначены энзимопатии:
 1 — фенилкетонурия; 2 — алкаптонурия; 3 — альбинизм

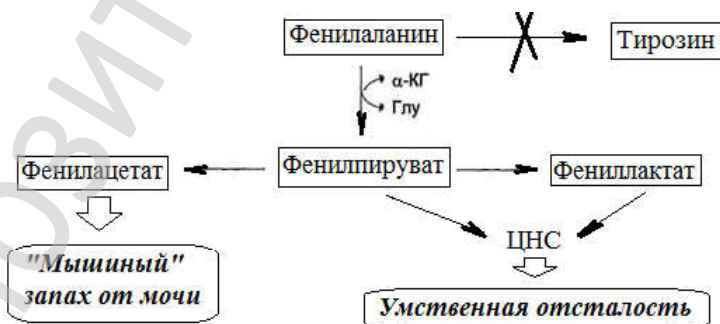


Рисунок 2.7 — Альтернативные пути метаболизма фенилаланина при недостаточности фенилаланин-4-гидроксилазы

Клиническая картина. Дети с ФКУ, как правило, рождаются в срок с нормальной массой. Лишь к 6–8 месяцам становится очевидной задержка психомоторного развития, страдает развитие речи, отличаются симптомы повышенной возбудимости и рвоты. Типичен своеобразный «мышинный» запах от пеленок, связанный с наличием в моче неприятно пахнущего фенилацетата. Помимо задержки психического развития есть неврологические нарушения: повышенный мышечный тонус, мелкий тремор, постоянные непроизвольные движения пальцев, вращательные движения рук или раскачивание тела из стороны в сторону и микроцефалия (68–94 % случаев). В некоторых случаях задержка психического развития выражена не сильно, дети с ФКУ могут учиться в школах и в дальнейшем выполнять несложную работу.

Диагностика и дифференциальный диагноз. Ранее для диагностики ФКУ применялась проба Фелинга на фенилПВК в моче, когда несколько капель 5 %-ного раствора треххлористого железа и уксусной кислоты приводило к появлению зеленой окраски мочи в случае заболевания.

В Республике Беларусь с 1978 г. обследованию на ФКУ подлежат все новорожденные дети (доношенные на 3-й день, недоношенные на 7–14-е сутки жизни). Тестирование проводится в сухих пробах крови (определяют ФЕН в крови), разработаны и внедрены молекулярно-генетические методы выявления генного дефекта. Объектом исследования могут служить лимфоциты, амниоциты, клетки хориона.

Лечение. Для лечения ФКУ назначается специальная диета с использованием аминокислотных смесей, не содержащих ФЕН. Маму больного ребенка обучают расчету питания. В процессе лечения периодически определяют ФЕН в крови, в случае необходимости в диету вносят коррективы. Если лечение начато до появления клинических нарушений, то правильно подобранная диета обеспечивает нормальное развитие ребенка. Если лечение начато, когда клинические нарушения уже есть, результаты будут зависеть от возраста ребенка и степени тяжести заболевания. Лечение, начатое после года, практически всегда не эффективно.

Рацион ребенка после года строят по принципу резкого ограничения ФЕН, поступающего с пищей. Благодаря лечению многие женщины с ФКУ достигли детородного возраста. Однако у детей от таких женщин нередко наблюдается умственная отсталость, обусловленная гиперфенилаланинемией.

В Республике Беларусь заболевание встречается с частотой 1:6000 новорожденных. В год выявляется примерно 15–20 новорожденных с ФКУ. Таким образом, система массового скрининга на ФКУ спасает от глубокой инвалидности до 20 детей в год.

Алкаптонурия (охроноз, «болезнь черных пеленок»).

Частота — 2–5 случаев на 1 млн новорожденных. Алкаптонурия — болезнь, обусловленная врожденным нарушением обмена тирозина (рисунки 2.4 и 2.6), процесс превращения которого останавливается на этапе образования ГТК. Алкаптонурия возникает вследствие мутации гена, кодирующего синтез оксидазы гомогентизиновой кислоты (гомогентизиназы). Данная патология характеризуется ауто-сомно-рецессивным типом наследования. Из-за дефекта фермента гомогентизиназы процесс превращения ГТК в фумарилацетоацетат тормозится и остающаяся в избытке ГТК превращается в алкаптон, который и выводится почками (рисунок 2.4). Не полностью экскретируемый мочой алкаптон откладывается в хрящевой и другой соединительной ткани, обуславливая их потемнение и повышенную хрупкость. Термин «охроноз» и означает коричневую пигментацию соединительной ткани у больных с алкаптонурией. Ее обнаруживают на ушных раковинах, коже и склере.

Клиническая картина. Алкаптонурия сама по себе — бессимптомное состояние. Клинические признаки и симптомы появляются, когда пигмент депонируется в хрящах и других структурах соединительной ткани. Самый ранний признак алкаптонурии — выделение у ребенка мочи, быстро темнеющей при стоянии на воздухе («болезнь черных пеленок»). У таких больных чаще развиваются мочекаменная болезнь и пиелонефрит.

Признаки поражения опорно-двигательного аппарата появляются обычно у лиц 30–40-летнего возраста. Характерно поражение крупных суставов нижних конечностей: коленных, тазобедренных, реже в процесс вовлекаются плечевые суставы. Часто поражается позвоночник с развитием боли и ограничения движений. При алкаптонурии примерно у 20 % больных развиваются изменения аортального клапана (редко — митрального): кальцификация створок, фиброзного кольца, а также восходящего отдела аорты (рисунок 2.8) [3].

Диагностика. Диагностические критерии охроноза не разработаны, однако, исходя из клинической картины, можно выделить следующие, наиболее значимые симптомы:

- появление темно-коричневых пятен на склерах, ушных раковинах, носу;
- умеренные периодические боли и тугоподвижность в поясничном отделе позвоночника, крупных суставах;
- выявление ГТК в моче при лабораторном исследовании;
- кальцификация межпозвоночных дисков.

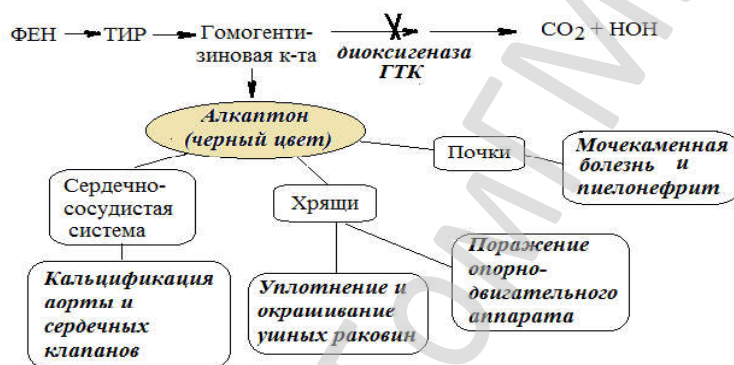


Рисунок 2.8 — Клиническая картина алкаптонурии

Наиболее информативным для диагностики алкаптонурии является метод количественного определения ГТК в моче. Более простым и широко применяемым способом установления диагноза алкаптонурии является оценка цвета мочи через 12–24 ч после пребывания ее на воздухе (становится бурой или черной). Следует иметь в виду, что данные изменения происходят только при щелочных значениях pH мочи, поэтому при кислой реакции мочи необходимо ее подщелачивание.

Диагностических методов выявления гетерозиготных носителей дефектного гена к настоящему времени не найдено.

Лечение. Лечение этого заболевания не разработано. В случае поражения суставов обычно проводится терапия, применяемая при первичном остеоартрозе.

Б) Обмен аминокислот с разветвленной углеводородной цепью — валина, лейцина, изолейцина

Начальные реакции распада, учитывая сходство, одинаковы у всех аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АКРУЦ). Затем пути их расходятся, валин становится источником глюкозы, лейцин — кетоновых тел, а изолейцин дает продукты для синтеза и глюкозы, и кетоновых тел (рисунок 2.9).



Рисунок 2.9 — Метаболизм аминокислот с разветвленной углеводородной цепью

Первый этап катаболизма — трансаминирование. Полученные альфа-кетокислоты, подвергаются окислительному декарбоксилированию при участии митохондриального полиферментного комплекса (подобен пируватдегидрогеназному комплексу, состав — те же субъединицы и кофакторы).

Лейциноз («болезнь кленового сиропа»). Лейциноз впервые описан в 1954 г. При данной патологии отсутствует фермент **дегидрогеназа АКРУЦ**, в связи с чем в плазме, спинномозговой жидкости, моче накапливается ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАА, а также их производные. Специфический запах мочи связан с α -оксипроизводными ЛЕЙ и ИЛЕ. Кетокислоты, накапливаясь в организме, вызывают расстройства ряда органов и систем и, прежде всего, ЦНС. В основе блока окислительного декарбоксилирования АКРУЦ лежит аутосомно-рецессивный тип наследования. Частота заболевания — 1:300 000.

Клиническая картина

А) Классическая форма лейциноза. Первые симптомы появляются на первой неделе жизни ребенка. Сначала отмечаются судороги, повышенная возбудимость, резкий крик, мышечная гипертония, отказ от пищи, упорная рвота, развиваются признаки обезвоживания. Возбуждение сменяется вялостью, угнетением ЦНС, возможны коматозные состояния, нарушение дыхания. Периоды мышечного гипертонуса чередуются с выраженной гипотонией. В связи с развивающимся иммунодефицитом отмечается склонность к повторным инфекционным заболеваниям.

У выживших детей отмечены выраженные нарушения функций мозга. Без лечения летальный исход наступает к концу первого года жизни.

Б) Тиаминзависимая форма болезни. Данная форма болезни отличается менее злокачественным течением без выраженных приступов. Больные отстают в психомоторном развитии, у них отмечаются судороги, мышечная гипотония, ацидоз, может быть характерный запах мочи.

Диагностика. Повышенное содержание 3 аминокислот (ЛЕЙ, ИЛЕ, ВАА) и их кетопроизводных наблюдается в крови и моче. Обменные нарушения характеризуются ацидозом и высоким содержанием молочной кислоты в крови. Моча имеет характерный запах кленового сиропа, пивной закваски, мясного супа или карамелизованного сахара. При повышенном выделении органических кислот проба мочи с треххлористым железом положительна и характеризуется появлением **темно-синего окрашивания (проба Фелинга)**. К биохимическим признакам относят гипогликемию, кетонурию и кетонемию. Гипогликемия обусловлена нарушениями ГНГ.

С целью пренатальной диагностики определяют состав органических кислот амниотической жидкости и делают энзиматическое исследование амниоцитов и клеток хориона.

Лечение. При «болезни кленового сиропа» применяют смесь аминокислот, лишенную лейцина, изолейцина и валина. После достижения нормального уровня этих аминокислот можно использовать белковые продукты (молоко и т. д.), но в количествах, не превышающих потребность в АКРУЦ. Нет сведений о том, можно ли впоследствии ослабить ограничения в диете и когда именно. Если лечение было начато в первую неделю жизни ребенка, удастся значительно смягчить тяжелые проявления болезни.

Тиаминзависимая форма лейциноза поддается лечению витамином В₁ (тиамин), доза которого составляет 10 мг в сутки и выше.

Наследственные болезни пуринового обмена

В норме весь процесс синтеза пуринов (рисунок 2.10) можно разделить на два этапа:

- 1) образование ИМФ из предшественников (на схеме не показано);
- 2) преобразование ИМФ в АМФ и ГМФ, которые далее идут в различные метаболические пути.

Основной путь катаболизма пуриновых нуклеотидов — образование **мочевой кислоты**.

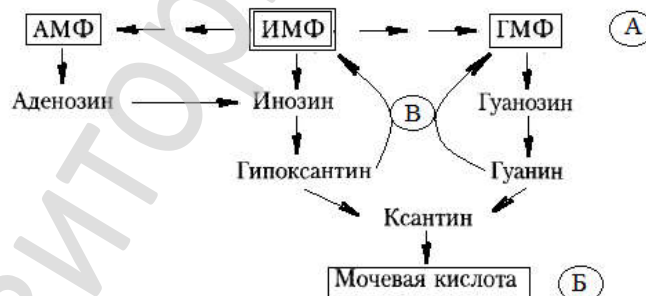


Рисунок 2.10 — Схема метаболических путей синтеза и катаболизма пуринов: А — Синтез АМФ и ГМФ из ИМФ; Б — Катаболизм АМФ и ГМФ; В — Реутилизация пуринов («путь спасения»)

Когда в плазме крови концентрация мочевой кислоты превышает норму, то возникает гиперурикемия. Вследствие гиперурикемии может развиваться подагра — заболевание, при котором кристаллы мочевой кислоты и уратов откладываются в суставных хрящах, синовиальной оболочке, подкожной клетчатке с образованием подагрических узлов, или тофусов. К характерным признакам подагры относят

повторяющиеся приступы острого воспаления суставов (чаще всего мелких) — так называемого острого подагрического артрита. Заболевание может прогрессировать в хронический подагрический артрит.

Существует метаболизм повторного использования пуриновых оснований («путь спасения») не ведущий к образованию мочевой кислоты.

4.2. Нарушения метаболизма пуринов (синдром Леша — Нихана)

Синдром Леша — Нихана наследуется как рецессивный признак, сцепленный с X-хромосомой, и проявляется только у мальчиков и характеризуется тяжелым поражением нервной системы и гипериурикемией. Частота синдрома — 1:380–1:23500 чел.

Причиной заболевания является отсутствие активности фермента гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (ГФРТ) — фермента пути реутилизации пуринов. Данный фермент экспрессируется во всех тканях организма и катализирует реакцию превращения гипоксантина в ИМФ и гуанина в ГМФ (рисунок 2.10 В). Снижение образования ИМФ и ГМФ приводит к усилению синтеза пуриновых нуклеотидов *de novo*. Дефицит реутилизации пуриновых оснований в сочетании с повышенным синтезом пуриновых нуклеотидов *de novo* приводит к гиперпродукции мочевой кислоты.

Клинические проявления. Синдром Леша — Нихана, как правило, манифестирует не с рождения. Первые признаки болезни (гипотония и задержка развития) становятся заметными обычно в возрасте 3–6 мес. Отчетливые непроизвольные движения обращают на себя внимание к 6–12 мес. жизни. После года формируется значительная задержка моторного и речевого развития, прогрессируют двигательные расстройства. При попытке сидеть или стоять у больных часто возникает аркообразное выгибание шеи и туловища; сильные продолжительные выгибания туловища могут сопровождаться дистоническим тремором и это может напоминать эпилептический приступ. Тяжесть синдрома Леша — Нихана определяется степенью выраженности расстройств, которые напоминают дистонический церебральный паралич. При наиболее тяжелом варианте заболевания больные не могут самостоятельно сидеть, передвигаться и производить целенаправленные движения руками. Для больных характерно аутоагрессивное поведение — повторяющиеся попытки нанести вред самим себе. Наиболее часто наблюдается кусание губ и языка, может быть кусание пальцев рук, а также других частей тела, бывают попытки ударить себя или травмировать свои конечности и глаза. Аутоагрессивное поведение появляется в среднем в возрасте между 1-м и 8-м годом жизни. В среднем уровень IQ при этом заболевании соответствует легкой или умеренной степени интеллектуального недоразвития.

Еще одной особенностью синдрома Леша — Нихана является мочекислая нефропатия, обусловленная гиперпродукцией мочевой кислоты [4].

Диагностика. Для установления правильного диагноза важно своевременно заподозрить заболевание, в первую очередь провести тщательное неврологическое обследование больного и правильно оценить имеющиеся нарушения мышечного тонуса и движений. При биохимическом исследовании в крови больных выявляется высокое содержание мочевой кислоты и повышение экскреции уратов с мочой.

Диагноз может быть подтвержден исследованием активности фермента ГФРТ в эритроцитах, культурах фибробластов или лимфоцитов. ДНК-диагностика проводится женщинам из группы риска для выявления носительства мутации. Пренатальная ДНК-диагностика показана в случае установленного в семье диагноза синдрома Леша — Нихана.

Лечение. Основные принципы терапии синдрома Леша — Нихана — нормализация уровня мочевой кислоты в крови, профилактика и лечение мочекаменной болезни и подагры (у взрослых) и коррекция неврологических расстройств. Для лечения мочекаменной нефропатии назначается диета с ограничением продуктов, содержащих большое количество пуринов (мясные, рыбные и грибные бульоны; копчености, консервы и др.).

С целью снижения гиперпродукции мочевой кислоты, наряду с диетой, больным с синдромом Леша — Нихана назначают медикаментозный препарат **аллопуринол** (рисунок 2.11), который является ингибитором ксантиноксидазы и предотвращает переход гипоксантина в ксантин и последующего образования из него мочевой кислоты.



Рисунок 2.11 — Строение аллопуринола и гипоксантина

Аллопуринол оказывает двойное действие на обмен пуриновых нуклеотидов:

- ингибирует ксантиноксидазу и останавливает катаболизм пуринов на стадии образования гипоксантина, растворимость которого почти в 10 раз выше, чем мочевой кислоты;
- с другой стороны, будучи псевдосубстратом, аллопуринол может превращаться в нуклеотид по «запасному» пути и ингибировать ферменты синтеза пуринов *de novo*.

При лечении аллопуринолом детей с синдромом Леша-Нихана удается предотвратить развитие патологических изменений в суставах и почках, вызванных гиперпродукцией мочевой кислоты, но

препарат не излечивает аномалии в поведении, неврологические и психические расстройства.

4. 3. Нарушение синтеза гема (порфирии)

Синтез гема требует наличия трех основных структурных компонентов: глобина, протопорфирина и железа. Хотя синтез гема может происходить во всех тканях, главными местами его синтеза являются красный костный мозг (около 85 %) и печень.

Синтез гема – многостадийный процесс (рисунок 2.12), нарушения отдельных этапов которого может приводить к накоплению в организме промежуточных продуктов — порфиринов и их производных. Источником порфиринов может быть и нарушение синтеза других гемопroteинов — цитохромов, пероксидаз и т. д.



Рисунок 2.12 — Схема синтеза гема

Порфирии — это группа заболеваний, развивающихся вследствие наследственных дефектов синтеза гема. В соответствии с локализацией биохимического нарушения (дефект синтеза гема в печени или в красном костном мозге) выделяют эритропоэтические и печеночные порфирии. Эритропоэтические порфирии сопровождаются накоплением порфиринов в нормобластах и эритроцитах, а печеночные — в гепатоцитах. Анемия разной степени выраженности наблюдается только при эритропоэтических порфириях.

При легких формах наследственных порфирий заболевание может протекать бессимптомно, но прием лекарств, индукторов синтеза аминолевулинатсинтазы (регуляторов экспрессии генов), может вызвать обострение болезни. Индукторами синтеза аминолевулинатсинтазы являются сульфаниламиды, барбитураты, диклофе-

нак, вольтарен, стероиды. В некоторых случаях симптомы болезни не проявляются до периода полового созревания, когда повышение образования стероидов вызывает индукцию синтеза аминолевулинатсинтазы. Порфирии наблюдаются при отравлениях солями свинца, гербицидами, инсектицидами.

В целом для порфирий характерны два основных клинических синдрома: кожная фотосенсибилизация и неврологические расстройства (рисунок 2.13). Фотосенсибилизация обусловлена уникальной реакцией на солнечное облучение откладывающихся в коже промежуточных продуктов синтеза гема (порфиринов). Характерна светобоязнь, появление неприятных ощущений в коже после пребывания на солнце (покалывание, зуд, жжение), возможно появление отека, в редких случаях образуются волдыри. Эти изменения развиваются только на открытых участках кожи и обычно исчезают бесследно через несколько недель. В тяжелых случаях после заживления волдырей могут остаться рубцы.



Рисунок 2.13 — Биохимические механизмы развития симптомов порфирий

Неврологические расстройства также связаны с избыточной продукцией и экскрецией предшественников гема. В частности, избыток 5-аминолевулиновой кислоты токсичен для мозга. Степень неврологических расстройств различна: от умеренной периферической моторной нейропатии, сопровождающейся слабостью в конечностях (чаще верхних), до клонико-тонических судорог, нарушения функции дыхательной мускулатуры. Возможны психические расстройства (эмоциональная лабильность, поведенческие «странности», галлюцинации).

Многие из порфирий сопровождаются выделением предшественников гема с калом или мочой. Моча вследствие этого может быть окрашена в темно-красный (винный) цвет [5].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биохимия [Электронный ресурс]: учебник / под ред. Е.С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 768 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970437629.html>. — Дата доступа: 08.05.2020.
2. Simulations of the regulatory ACT domain of human phenylalanine hydroxylase (PAH) unveil its mechanism of phenylalanine binding / Ge. Yunhui [et al.]. — *J. Biol. Chem.*, 2018. — 293(51). — P. 19532–19543.
3. Сердюк, А. В. Алкаптонурия у пациента с вертебрально-базиллярной недостаточностью: описание случая и обзор литературы / А. В. Сердюк, Е. А. Ковражкина, А. О. Кулькова. — *Consilium Medicum*, 2017. — № 19 (2). — С. 51–55.
4. Lesch-Nyhan syndrome: The saga of metabolic abnormalities and self-injurious behavior / Nitesh Tewari, Vijay Prakash Mathur, Divesh Sardana, Kalpana Bansal. — *Intractable & Rare Diseases Research*, 2017. — Vol. 6(1). — P.65-68.
5. Porphyrria: What Is It and Who Should Be Evaluated? / Yonatan Edel, Rivka Mamet — *Rambam Maimonides Medical Journal*, 2018. — P. 1–12.

Занятие № 3

БИОЭНЕРГЕТИКА.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

Цель занятия: обобщить знания по основным аспектам и проблемам биоэнергетики. Сформировать представление о молекулярных механизмах нарушений энергетического обмена и гомеостаза митохондриальных элементов. Раскрыть понятие «митохондриальная медицина» и ее стратегии в митохондриальной терапии.

Требования к исходному уровню знаний

1. Суть и механизмы окислительно-восстановительных реакций.
2. Историю развития учения о БО.
3. Этапы БО: цитоплазматический и митохондриальный. Пути утилизации субстратов БО в норме.
4. ЦТК — общий конечный путь утилизации субстратов БО.
5. Строение мтДЦ и принципы ее функционирования.
6. Понятие о мутациях и особенности мутагенеза митогенома в связи со строением мтДНК.
7. Основные этапы биосинтеза белка.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Современные представления о БО. Принципы преобразования и передачи энергии в живых системах. Антиэнтропийная роль энергетического обмена
2. Митохондрология.
3. Строение и функции митохондрий. Сравнительная характеристика мембран и состав различных компартментов митохондрий.
4. Особенности организации и функционирования митогенома.
5. Митохондриальные патологии (дефекты яДНК, дефекты мтДНК, дефекты межгеномных сигнальных связей между яДНК и мтДНК).
6. Митохондриальная медицина. Методы диагностики и лечения митопатологий.

1. Современные представления о БО.

Принципы преобразования и передачи энергии в живых системах.

Антиэнтропийная роль энергетического обмена.

Одним из ключевых процессов, обеспечивающих существование живых организмов, является преобразование энергии. Эту часть биологической химии называют «биоэнергетика»

Существенным понятием биоэнергетики является учение о БО, которое изучает совокупность реакций окисления и восстановления, протекающих в живых организмах.

Принципы преобразования и передачи энергии в живых системах основаны на подчинении законам термодинамики:

- I закону сохранения энергии — энергия ниоткуда не возникает и никуда не исчезает, а превращается, в результате чего частично диссипирует в виде тепла;
- II закону термодинамики — любая система стремится к устойчивому состоянию, при котором энтропия — мера беспорядка возрастает.

Живые системы противостоят II закону термодинамики (росту энтропии), при этом затрачивают огромное количество энергии для поддержания порядка — энтальпии, в конечном итоге гомеостаза, являясь антиэнтропийными системами, что требует достаточно высокого уровня энергетического обмена.

2. Митохондрология

В настоящее время митохондрология выделилась в самостоятельное научное направление [1], изучающее происхождение, особенности строения и функций митохондрий, а также механизмы, реализуемые с участием митохондрий. Поскольку накоплен достаточный экспериментальный и клинический материал, анализ которого позволил определить как ведущую роль митохондрий в чувствительности к лекарственным препаратам, так и ключевую роль митохондрий в старении, апоптозе и нейродегенеративных расстройствах, что в конечном итоге привело к созданию митохондриальной медицины [2, 3].

3. Строение и функции митохондрий.

Сравнительная характеристика мембран и состав различных компартментов митохондрий

Митохондрии — важнейшие органеллы клеток, осуществляющие синтез АТФ за счет окисления субстратов (рисунок 3.1). Митохондрии имеют собственный уникальный геном, наследуемый по материнской линии (из цитоплазмы яйцеклетки).

Митохондрии — двумембранные органеллы: внутренняя мембрана — складчатая, образует кристы, высокоселективна, до 75 % состоит из белков, которые входят в состав митохондриальной дыхательной цепи, на внутренней стороне внутренней митохондриальной мембраны локализованы сукцинат и АТФ-азы, непроницаема для ионов водорода, что определяется высоким содержанием кардиолипина; наружная мембрана митохондрий гладкая, менее селектив-

на, содержание белков около 20 %, ферменты моноаминоксидазы и некоторые ферменты обмена жирных кислот, высокое содержание фосфоинозитола и холестерина. В межмембранном митохондриальном пространстве, при работе электронтранспортной цепи создается протонный пул, который определяет градиент электрохимического потенциала, реализуемого в ОФ. В матриксе митохондрий протекает цикл трикарбоновых кислот, бета-окисление жирных кислот, начальные этапы цикла синтеза мочевины и т. д.

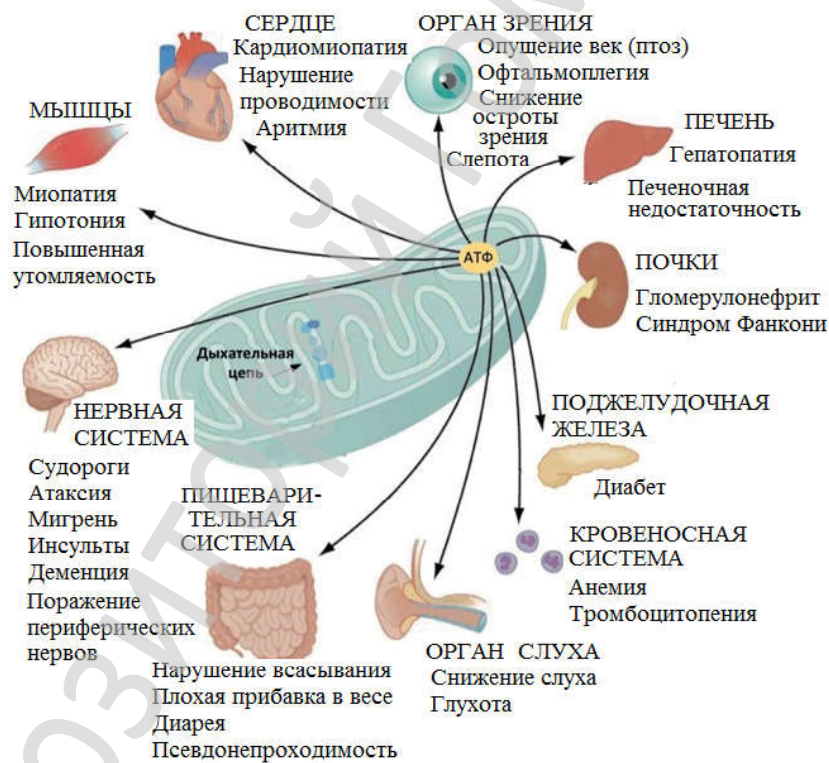


Рисунок 3.1 — Строение митохондрии. Органы-мишени при различных митохондриальных заболеваниях [1]

Основные функции митохондрий:

1. Синтез АТФ — «энергетический центр» клетки (95 % синтезируется в митохондриях).

2. Интеграция и участие в основных типах метаболизма аминокислот, липидов, холестерина, стероидов, нуклеотидов (ЦТК — амфиболический путь).
3. Инициация процессов апоптоза (программируемой клеточной смерти).
4. Регуляция экспрессии ядерного генома.
5. Участие в собственном воспроизведении.

4. Особенности организации и функционирования митогенома

Митохондриальный геном человека: 37 генов, 16569 пар нуклеотидов. Митохондриальная ДНК является небольшой двуниевой молекулой, состоящей из тяжелой и легкой цепи, содержащей 16569 пар нуклеотидных оснований, 37 генов и имеющей собственный аппарат репликации. Вторичная структура митохондриальной ДНК — хорошо спирализованное образование, третичная представляет собой кольцевой дуплекс, т. е. концы сдвоенной нити сближены и ковалентно соединены между собой и с относительно малым числом белков (рисунок 3.2).

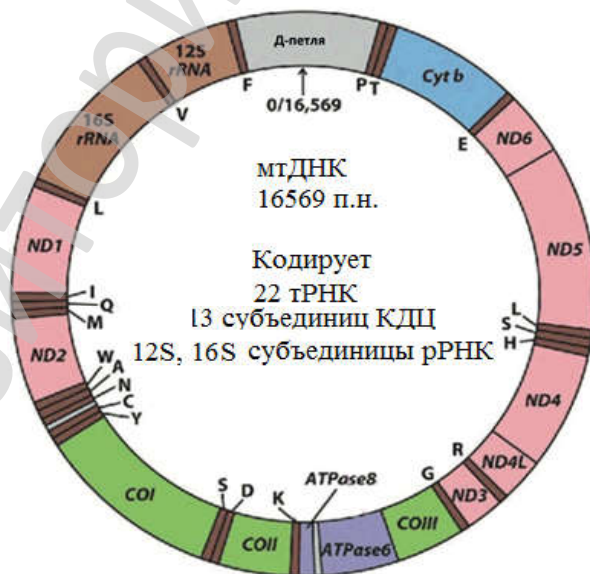


Рисунок 3.2 — Схема строения мтДНК [5]

Большинство митохондриальных белков кодируется ядерной ДНК и лишь 2 % синтезируются в митохондриальном матриксе под контролем структурных генов. 13 генов отвечают за полипептиды дыхательной цепи: 7 относятся к комплексу I, 1 — к комплексу III, 3 — к комплексу IV, 2 — к комплексу V. Митохондриальная ДНК кодирует также 22 транспортные РНК и 2 рибосомальные РНК (12s, 16s). Остальные 70 полипептидов, входящих в состав I-V комплекса, кодируются ядерными генами, транспортируются в митохондрии и там функционируют (таблица 3.1). Практически каждая митохондрия содержит от 2 до 10 молекул митохондриальной ДНК.

Таблица 3.1 — Структурно-функциональная характеристика комплексов дыхательной цепи [5]

Комплекс	Состав	Функции
I (НАДН — коэнзим Q — редуктаза)	25–28 полипептидов, 7 из которых кодируются мтДНК	Транспорт электронов от НАДН + H ⁺ -продуцирующих субстратов на убихинон
II (Сукцинат-коэнзим Q — редуктаза)	5 ядерно-кодируемых пептидов	Перенос восстановленных эквивалентов от ФАДН ₂ -продуцирующих субстратов на убихинон
III (Коэнзим Q — цитохром c — редуктаза)	11 субъединиц, 1 кодируется мтДНК	Транспорт электронов от восстановленного убихинона
IV	Цитохромы a, a ₃ и 13 протеиновых субъединиц, 3 из которых кодируются мтДНК	Окончательный этап передачи электронов от восстановленного цитохрома c на молекулярный кислород. Поддержка активности протонного насоса
V (АТФ-синтетаза)	Все субъединицы кодируются мтДНК	Обеспечение обратного тока ионов H ⁺ во внутрь митохондриального матрикса, использование освободившейся энергии на синтез АТФ

Причины, приводящие к мутациям митохондриальной ДНК, могут быть довольно разнообразны. Одними из самых распространенных — эндогенных — являются ошибки функционирования ДНК-полимераз и репараз (ферментов синтеза митохондриального генома). Другой механизм мутаций — это повреждение незащищенного гистонами и нитронами митохондриального генома продуктами перекисного окисления (супероксидные радикалы, перекись водорода, гидроксильные радикалы), так как митохондрии используют до 90 % клеточного кислорода. Мутации митохондриальной ДНК представляют собой различного размера делеции (в том числе множественные), точечные поражения, деплеции, вставки. Репликация митохондриальной ДНК идет очень интенсивно (в 10 раз быстрее ядерной), происходит быстрое накопление мутаций.

5. Митохондриальные патологии (дефекты яДНК, дефекты мтДНК, дефекты межгеномных сигнальных связей между яДНК и мтДНК)

Митохондриальные патологии могут возникать из-за нарушений либо в ядре, либо в митохондриальном геноме. Как результат может получиться любой вариант наследования: аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный, X-сцепленный, материнское наследование, спорадические случаи. Передача митохондрий и митохондриальной ДНК в следующее поколение в подавляющем большинстве случаев происходит через цитоплазму яйцеклетки.

Наличие большого числа копий митохондриальной ДНК в каждой клетке и их случайное распределение при клеточном делении определяют феномен гетероплазмии. Когда нормальный или мутантный геном всех митохондрий идентичен, клетка считается гомоплазмической. При наличии мутантной митохондриальной ДНК способность клеток осуществлять окислительное фосфорилирование определяется природой мутации, соотношением нормальных и мутантных геномов. Превышение нормального порога функционирования сопровождается нарушением энергетики и появлением клинических расстройств. Пороговый эффект зависит от различных факторов, в том числе от возраста и энергетической потребности ткани. Феномен гетероплазматической клетки объясняет наблюдения, что симптомы поражения того или иного органа могут усилиться или ослабнуть в процессе наблюдения, в то время как непораженные первоначально органы могут оказаться вовлеченными в патологический процесс.

Выделяют врожденные (первичные, наследственные) и приобретенные (вторичные) митохондриальные болезни.

Возможные причины врожденных митохондриальных болезней:

1. Дефекты ядерной ДНК:

- 1.1. дефекты субстратов утилизации;
- 1.2. дефекты цикла Кребса;
- 1.3. нарушение окислительного фосфорилирования;
- 1.4. нарушения в дыхательной цепи;
- 1.5. дефекты импортирования белков.

2. Дефекты митохондриальной ДНК:

- 2.1. спорадические мутации;
- 2.2. точечные мутации с поражением структурных генов;
- 2.3. точечные мутации синтезирующих генов.

3. Межгеномные сигнальные дефекты:

3.1. Делеции митохондриальной ДНК — множественные аутосомно-доминантные;

3.2. Делеции митохондриальной ДНК — множественные аутосомно-рецессивные.

Возможные причины приобретенных митохондриальных болезней — недостаточность митохондрий, обусловленная действием токсинов, лекарственных препаратов, экотатогенов, а также старением.

Дефекты яДНК. Выделена группа митохондриальных болезней, связанных с ядерными мутациями. Среди них различные формы младенческих миопатий, болезни Альперса — прогрессирующая энцефалопатия (дегенерация серого вещества мозга в сочетании с циррозом печени), Лея (подострая невротизирующая энцефаломиелопатия, мышечная гипотония, атаксия и нистагм, пирамидные симптомы, офтальмоплегия и атрофия зрительных нервов, часто отмечается присоединение кардиомиопатий), Менкенса (резкая задержка психомоторного развития, отставание в росте, нарушение роста и дистрофические изменения волос), синдром Барта (задержка физического и психомоторного развития, миопатический синдром, гипертрофическая кардиомиопатия, нейтропения, гипогликемические состояния), синдромы недостаточности карнитина, некоторых ферментов цикла Кребса и дыхательной цепи. В этом случае тип наследования заболевания соответствует простой менделевской передаче по аутосомно-доминантному или аутосомно-рецессивному типу.

Дефекты мтДНК. К настоящему времени верифицированы самостоятельные нозологические формы, возникающие при мутациях митохондриальных генов (рисунок 3.3), к ним относят синдромы: MELAS (энцефалопатия, лактат-ацидоз, инсультоподобные эпизоды), MERRF (миоклонус-эпилепсия, красные «рваные» волокна), KSS — синдром Кернса — Сейра (пигментный ретинит, атаксия, офтальмоплегия, мышечная слабость, нарушение сердечной проводимости), Пирсона (вялость, гипопластическая анемия, нарушение функций

поджелудочной железы, диарея), LHON (Leber hereditary optic neuropathy) — врожденная оптическая нейропатия Лебера, синдром DIDMOAD (сахарный и несахарный диабет, атрофия зрительных нервов, нейросенсорная тугоухость), NARP (атаксия, нейропатия, пигментный ретинит), MND (заболевания двигательных нейронов).

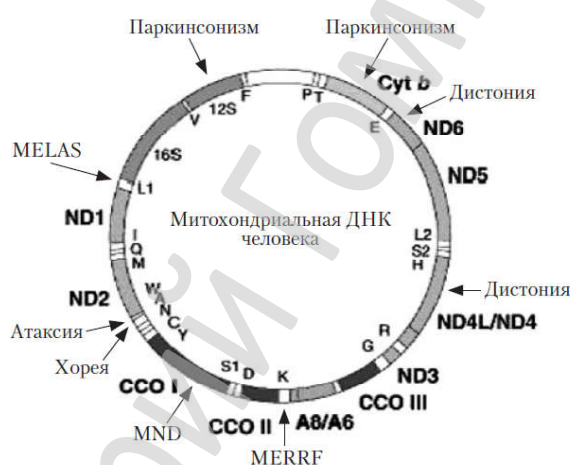


Рисунок 3.3 — Локусы дефектов митохондриальной ДНК [5]

Дефекты межгеномных сигнальных связей между яДНК и мтДНК. Большинство генов, ответственных за окислительное фосфорилирование, расположены в ядерной ДНК. Известны несколько локусов, мутации которых могут рассматриваться в качестве этиологической причины митопатологий. Гораздо чаще мутации в ядерных генах модифицируют экспрессию мутаций в мтДНК. Без вероятного влияния ядерного генома трудно объяснить, почему одна и та же точковая мутация мтДНК ассоциируется с такими разными клиническими фенотипами как энцефалопатия и сахарный диабет. Кроме того, в основе возникновения некоторых митохондриальных миопатий, таких как офтальмоплегия и птоз, может лежать дестабилизация молекулы мтДНК, инициируемая мутациями в ядерных генах.

Возникающие в онтогенезе соматические мутации мтДНК реплицируются на ряду с мутациями яДНК и цитоплазматической материнской мтДНК. Чем ярче клиническое проявление и последствия для носителей мутаций, тем раньше будет преодолен биоэнергетический порог и тем раньше проявятся признаки митопатологий.

Митохондриальные заболевания могут встречаться в любом возрасте, однако у одной трети пациентов с недостаточностью ферментов дыхательной цепи начальные симптомы проявляются в первый месяц жизни. Двумя основными клиническими признаками митохондриальных расстройств являются — увеличение с течением времени числа вовлеченных в патологический процесс органов и тканей, а также практически неизбежное поражение центральной нервной системы.

Имеется значительная вариабельность симптомов, наличие стертых и скрытых форм. У детей с дисфункцией митохондрий часто выявляются: отставание физического развития, сниженная масса тела (инфантильный соматотип), гипотония скелетных мышц, астения, нарушение терморегуляции, обморочные состояния. Так называемые «вялые дети» нередко имеют митохондриальную недостаточность.

Изначальный взгляд на митохондриальные болезни как на нервно-мышечную патологию сформировался не случайно: поражение ЦНС и мышечной ткани доминирует в клинике. Миопатический синдром включает в себя слабость и атрофию проксимальной мускулатуры, мышечные боли, непереносимость физической нагрузки, прогрессирующую наружную офтальмоплегия, птоз, отсутствие рефлексов. Основными неврологическими проявлениями являются судороги, инсульты (инсультоподобные эпизоды), нейросенсорная тугоухость, атрофия зрительного нерва, атаксия, миоклонусы, крампи, полинейропатия, олигофрения, деменция, нарушение психомоторного развития, мигрень.

Митохондриальные изменения являются клинико-патогенетической основой для развития кардиомиопатий (идиопатическая дилатационная и симметричная гипертрофическая кардиомиопатия, кардиомиопатии при синдромах Кернса — Сейра, MELAS, Барта), нарушения проводимости (сердечные блокады). Клетки миокарда в условиях митохондриальной недостаточности изменяются принципиально также, как и волокна скелетных мышц, что подтверждается наличием феномена «рваных» красных волокон в сердечной мышце.

Среди эндокринопатий, выявленных при митохондриальной патологии, первое место занимает сахарный диабет. Также описаны гипопаратиреоз, изолированный дефицит гормона роста, гипогонадизм, экзокринная недостаточность поджелудочной железы при синдроме Пирсона.

Патология желудочно-кишечного тракта проявляется в виде появления повторной рвоты (особенно после физической нагрузки), диареи или псевдонепроходимости кишечника. Серьезное поражение печени наблюдается при ряде синдромов с первичным поражением митохондриальной ДНК, при митохондриальной патологии с

преимущественным нарушением β -окисления жирных кислот (например, стеатоз печени при синдроме Рея). В условиях первичного билиарного цирроза печени выявляется деструкция желчных протоков с наличием гетерогенных клонов Т-лимфоцитов в инфильтратах портальных трактов. Поражение печени характеризуется прогрессирующим увеличением печени с нарушением функций и развитием признаков печеночной недостаточности. Описано поражение костного мозга с развитием панцитопении у новорожденных, трансфузиозависимой макроцитарной анемии, тромбоцитопении, нейтропении в старшем возрасте при синдроме Пирсона.

Е. А. Вишневикий [4] показал роль митохондриальных нарушений в развитии нейрогенной дисфункции мочевого пузыря, а также в прогнозировании развития энуреза. Проводились работы по изучению энергетической недостаточности при дисфункциях почечной лоханки и мочеточников у детей с гидронефротической трансформацией почек. О. В. Комарова, Т. В. Сергеева определили снижение функциональной активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах у детей с хроническим гломерулонефритом при воздействии пульс-терапии стероидами [5]. Ультраструктура нефрона такова, что наиболее богатые митохондриями клетки находятся в проксимальных и дистальных извитых канальцах коркового слоя почки, а также в восходящей части петли Генле, лежащей в наружной части мозгового вещества. В связи с этим диагностическим ориентиром почечной митохондриальной дисфункции, прежде всего, служит нарушение деятельности именно этих структур нефрона, что важно для ранней диагностики патологии. Поражение митохондрий различных отделов почек может быть как первичным (в рамках митохондриальных цитопатий), так и вторичным: в результате различных почечных заболеваний и токсических воздействий тяжелых металлов и некоторых лекарственных средств.

Выделено четыре основных клинико-морфологических варианта нефропатий с митохондриальной дисфункцией:

- тубулопатии с поражением эпителия проксимальных и (или) дистальных канальцев;
- тубулоинтерстициальные нефриты;
- смешанные нефропатии, проявляющиеся фокально-сегментарным гломерулосклерозом;
- дизметаболические нефропатии (чаще с оксалано-кальциевой кристаллурией).

В отдельную группу вынесена патология мочевого пузыря, связанная с митохондриальными дисфункциями.

Самым ранним признаком проявления заболевания почек, вызванным первичной митохондриальной недостаточностью, является

триада Фанкони и болезнь де Тони-Дебре-Фанкони. Этиологическим фактором в данном случае могут быть дефекты пируватдегидрогеназного комплекса и нарушения в дыхательной цепи на уровне III комплекса (коэнзим Q цитохром С редуктаза) и IV комплекса — ключевого элемента дыхательной цепи — цитохром С оксидазы. Клинически синдром де Тони — Дебре — Фанкони, вызванный мутациями в митохондриях, проявляет себя как и в классическом варианте, в виде проксимальной канальцевой недостаточности: глюкозурии, генерализованной гипераминоацидурии, фосфатурии, тубулярной протеинурии, гипокалиемии, гипоурикемии. Эти симптомы обычно возникают в раннем неонатальном периоде и приводят к развитию терминальной почечной недостаточности; либо у детей до 3 лет, причем развитие проявлений сложной канальцевой недостаточности может на несколько лет предшествовать типичным проявлениям митохондриальной энцефалопатии, в том числе и синдромам Кернса — Сейра и Пирсона.

В литературе есть данные о возникновении нефропатий с развитием канальцевой дисфункции — синдрома де Тони — Дебре — Фанкони в результате повреждения митохондрий при острой свинцовой интоксикации.

Другими тубулярными нарушениями, описанными при первичных митохондриальных цитопатиях, являются дистальный почечный канальцевый ацидоз, тубулопатия, подобная синдрому Барттера, и проксимальный почечный канальцевый ацидоз (причина — парциальный дефицит цитохром-С-оксидазы) при синдроме Кернса — Сейра, а также при синдроме Пирсона, для которого характерны гиперкальциурия и гипероксалурия. Приведено описание [5] больных с недостаточностью цитохром-С-оксидазы, фенотип которых был идентифицирован как подострая некротизирующая энцефаломиелопатия Лея с клиническими проявлениями почечного тубулярного ацидоза.

В литературе [5] имеются сведения о развитии кист при митохондриальных тубулопатиях. Дисфункция митохондрий эпителия почечных канальцев и связанная с ней слабость клеточной энергетики способствуют, вероятно, ухудшению белкового синтеза и ослаблению межклеточных контактов со склонностью к образованию кист в том органе, патология которого имеет яркие проявления, в частности в почке. Множественные кисты коркового вещества описаны при синдроме Пирсона. Комбинация поликистоза почек и жировой дистрофии печени может явиться следствием глутаровой ацидурии II типа — аутосомно-рецессивного дефекта энергетического метаболизма митохондрий, приводящего к летальному исходу в неонатальном периоде.

Тубулоинтерстициальные нефриты у больных с митохондриальными цитопатиями чаще других нефропатий связаны с возможным неблагоприятным экзогенным воздействием. Заболевание проявляется хронической почечной недостаточностью без признаков дисфункции проксимальных канальцев, у 6 описанных больных [5] отмечалась полиурия со снижением контрационной функции почек и экстраренальными изменениями. Световая микроскопия почечных биоптатов при хроническом тубулоинтерстициальном нефрите выявляет диффузный интерстициальный фиброз с тубулярной атрофией и склерозом гломерул в зоне почечного фиброза. Методом электронной микроскопии обнаруживаются признаки явной дезорганизации митохондрий эпителия извитых канальцев нефрона: дистопия митохондрий (они располагались либо хаотически, без связи с инвагинациями цитомембраны, либо группировались около ядра), дезорганизация интрамитохондриальных элементов (уплотненное расположение крист, уплотнение матрикса, разрыв крист, формирование интрамитохондриальных пластинчатых структур типа миелиноподобных и др. Особо четко наблюдаемые патологические изменения регистрировались в нефробиоптатах у детей с признаками дизэмбриогенеза.

Количество митохондрий контролируется посредством аутофагии. Старые «изношенные» митохондрии уничтожаются лизосомами. Если по какой-либо причине количество митохондрий становится ниже необходимого и выработка ими АТФ уменьшается, то в клетке включаются другие механизмы получения энергии, такие, как процесс гликолиза в цитоплазме с выработкой небольшого количества АТФ и увеличением продукции молочной кислоты.

Особое внимание педиатров-нефрологов привлекает проблема митохондриальной недостаточности при заболеваниях почек. Выяснено, что все более широкий круг заболеваний оказывается связан с мутациями мДНК или яДНК, с врожденной недостаточностью митохондриальных ферментов тканевого дыхания, а также со вторичными структурно-функциональными митохондриальными нарушениями — эндо- или экзогенными. Богатые митохондриями и крайне зависимые от протекающих в них процессов энергообмена клетки нефрона безусловно подвержены структурно-функциональным изменениям при дисфункции митохондрий любого генеза.

Митохондрии — «главные силовые станции клеток». Патология митохондрий по своей природе чрезвычайно полиморфна и, вероятно, гораздо более распространена, чем это представлялось совсем недавно. Вместе с тем появились возможности применять при лечении больных ряд средств целенаправленной терапии для стимуляции и коррекции деятельности митохондрий. Становится необходимым знание свойств митохондриальной патологии, знание связанных с ней конкретных нозологических единиц, синдромов и болезненных состояний.

6. Митохондриальная медицина.

Методы диагностики и лечения митопатологий

Митохондриальная медицина появилась благодаря достижениям современной митохондрологии, важнейшим ее разделом являются болезни, связанные с нарушением функций митохондрий — митохондриальные цитопатии, а также методы диагностики и лечения митопатологий.

Митохондриальные болезни — разнородная группа патологий, вызванная генетическими, биохимическими и структурно-функциональными дефектами митохондрий с нарушением клеточно-тканевого дыхания. Классификация митохондриальной патологии имеет свою историю. Одной из первых была схема, основанная на биохимических дефектах метаболизма. Теперь она имеет только исторический интерес. Недостаточно глубокой оказалась и систематизация по клиническим синдромам, среди них ранее выделяли:

- 1) синдромы установленной митохондриальной природы;
- 2) синдромы предположительно митохондриальной природы;
- 3) синдромы — следствия митохондриальной патологии.

Позднее, с открытием митохондриального генома и мутаций мтДНК или яДНК, удалось применить генетический принцип классификации — сначала в упрощенном виде, затем в усложненном. В итоге теперь митохондриальная патология подразделяется с учетом таких обстоятельств, как дефекты мтДНК, дефекты яДНК, межгеномные дефекты, виды мутаций, их локус и характер, тип наследования и, что особенно важно для педиатра, синдром или нозологическая единица. Разработка классификаций продолжается.

Методами биохимического анализа определяются метаболический ацидоз и главный ориентировочный показатель патологии — повышение в крови уровней молочной и пировиноградной кислот (лактата и пирувата): при соотношении «лактат/пируват» больше 20 — вероятность дисфункции митохондрий высокая. Кроме того, в крови отмечается повышение или снижение уровня кетоновых тел, увеличение концентрации аммиака, снижение содержания глюкозы, общего и свободного карнитина. Возрастает мочевая экскреция органических кислот, миоглобина. Изменяется спектр фосфолипидов сыворотки крови со снижением содержания фосфатидилхолина и возрастанием лизофосфатидилхолина при росте уровня гидроперекисей совместно или отдельно со снижением антиоксидантной активности.

При митохондриальной патологии часто определяется генерализованное структурно-функциональное повреждение митохондрий различной степени. Активность этих органелл оказывается измененной одновременно, в частности, в почечном эпителии, в скелетных

мышцах, в миокарде, в фибробластах соединительной ткани, в лейкоцитах крови. Поэтому все они могут исследоваться в целях диагностики природы заболеваний. Наиболее информативным морфологическим исследованием дисфункции митохондрий является анализ сравнительно однородной и богатой митохондриями мышечной ткани, которая способна подавать сигналы «митохондриального дистресса» посредством пролиферации митохондрий и образования феномена «рваных красных мышечных волокон» (Ragged Red Fibers — RRF). RRF расцениваются как морфологический субстрат митохондриальной недостаточности, а при определенном уровне феномена — как показатель повреждения мДНК, митохондриальной дисфункции.

Комплексный минимум гистологических методов диагностики митохондриальной недостаточности по биоптатам почки или скелетной мышцы состоит в следующем:

1. Прямая характеристика структуры и функции митохондрий:

- свето-гистохимическое определение в ткани активности сукцинатдегидрогеназы, цитохром-С-оксидазы, других митохондриальных ферментов;

- электронно-микроскопическое исследование для характеристики локализации митохондрий, изменений их формы, величины, внутренней структуры;

- выявление RRF в биоптатах мышечной ткани.

2. Косвенные морфологические показатели митохондриальной дисфункции:

- некрозы (апоптоз) единичных или мелких групп мышечных волокон, эпителиальных клеток;

- повышенное содержание липидов, гликогена, кальция в клеточных элементах или стромах органа (световая микроскопия).

В начале диагностики митохондриальной патологии на первый план могут выходить цитологические методы — анализ лимфоцитов периферической крови для определения в них активности энергетических ферментов в этих легко доступных объектах.

По активности дегидрогеназ лимфоцитов крови определяется эффективность методов терапии, направленных против угнетения клеточной энергетики. Использование цитохимических методов анализа структуры и функции лимфоцитов периферической крови по активности СДГ позволяет прогнозировать течение заболевания, распознавать особые варианты патологии, хотя совпадение уровней этой активности в лимфоцитах и тканях наблюдается не всегда.

Вполне естественно, что при дисфункции митохондрий обнаруживаются значительные изменения структуры этих органелл, а также их локализации и в мышечных волокнах, и в различных клетках организма, включая эпителий почечных канальцев. Скопления митохондрий возникают под наружной мембраной, возле клеточных

ядер. При этом отмечено возрастание количества межмитохондриальных контактов. В скоплениях митохондрий часто определяется избыток липидных гранул, частиц гликогена, слабость реакции выявления цитохром-С-оксидазы.

Возможна медикаментозная компенсация дисфункции митохондрий. Разнородность форм патологии при митохондриальных дисфункциях, наличие первичных и вторичных вариантов, различия мутаций ДНК по виду и степени, зависимость развития митохондриальных болезней от внешних влияний — все это допускает возможность получить положительный эффект терапии при целенаправленном лечении хотя бы части больных с митохондриальными расстройствами; активность врачебной позиции имеет большое значение для успеха терапии. Получены доказательства того, что у части больных дефект ферментов митохондрий проявляется только при действии добавочного экзогенного фактора. В частности, недостаточность бета-окисления жирных кислот, зависящая от митохондриальных ацил-СоА-дегидрогеназ, возникала у ребенка в условиях дефицита рибофлавина, вызванного светолечением, коррекция приводила к нормализации. Лечение, компенсирующее ферментный дефицит или чрезмерное возбуждение митохондрий под влиянием ионов кальция и активных форм кислорода, может становиться эффективным при ранней диагностике патологии.

В последнее время разрабатываются и применяются методы комплексной терапии митохондриальных болезней детского возраста. С положительным эффектом для клинических проявлений и показателей метаболизма используются группы медикаментов, а именно:

- 1) кофакторы ферментных реакций энергетического обмена (карнитин, никотинамид, рибофлавин);
- 2) переносчики электронов в дыхательной цепи митохондрий (коэнзим Q, янтарная кислота, цитохром-С и др.);
- 3) антиоксиданты (витамины E, C);
- 4) димефосфон, улучшающий функции митохондрий, снижающий лактат-ацидоз.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Navdeep, S. C.* Evolution of Mitochondria as Signaling Organells / S. C. Navdeep // *Cell Metabolism*. — 2015. — Vol. 22. — P. 204–206.
2. *Haynes, C. M.* Evaluating and responding to mitochondrial dysfunction: the mitochondrial unfolded-protein response and beyond / C. M. Haynes, C. J. Fiorese, Y. F. Lin // *Trends Cell Biol.* — 2013. — Vol. 23. — P. 311–318.
3. *Shi, L.* Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences / L. Shi, B. P. Tu // *Curr. Opin. Biol.* — 2015. — Vol. 33. — P. 125–131.
4. Митохондриальная недостаточность в патогенезе расстройств мочеиспускания / Е. А. Вишнеvский [и др.] // *Клинические и патогенетические проблемы нарушений клеточной энергетики: материалы I Всероссийской конф.* — М., 1999. — С. 20–21.
5. *Ершова, С. А.* Дисфункция митохондрий при нефропатиях у детей / С. А. Ершова // *Нефрология и диализ*. — 2003. — Т. 5, № 4. — С. 344–353.

Занятие № 4 ПАТОЛОГИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

Цель занятия: сформировать представления о нормогликемии, гипо- и гипергликемии, роли ферментов гликолиза, ПФП и ГНГ в развитии некоторых патологий, о причинах нарушения метаболизма фруктозы и галактозы, гликогенозах и мукополисахаридозах.

Требования к исходному уровню знаний

1. Пути метаболизма глюкозы в тканях.
2. Механизмы регуляции уровня глюкозы в крови.
3. Общую схему энергетического обмена.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Нормо-, гипо- и гипергликемии. Характеристика, причины, механизм возникновения, их клинические проявления.
2. Патология ферментов гликолиза.
3. Патология ферментов пентозофосфатного пути.
4. Патология ферментов глюконеогенеза.
5. Нарушение метаболизма фруктозы.
6. Нарушение метаболизма галактозы.
7. Гликогенозы и агликогенозы.
8. Мукополисахаридозы.

1. Нормо-, гипо- и гипергликемии.

Характеристика, причины, механизм возникновения, их клинические проявления

К типовым формам патологии углеводного обмена относятся: гипогликемия, гипергликемия, гликогенозы, агликогенозы, гексо- и пентоземии.

Нормогликемия — это нормальная концентрация глюкозы в крови, колеблется в пределах 3,3–5,5 ммоль/л.

Гипогликемия — патологическое состояние, характеризующееся снижением концентрации глюкозы в периферической крови ниже нормы (т. е. ниже 3,3 ммоль/л), вследствие чего возникает гипогликемический синдром. Может быть физиологической и патологической.

Причины физиологической гипогликемии:

- 1) физическая нагрузка (повышенная утилизация глюкозы мышцами);
- 2) интеллектуальная работа (повышенная утилизация глюкозы нейронами);

- 3) беременность;
- 4) умеренное голодание.

Причины патологической гипогликемии:

- 1) нарушение депонирования глюкозы в печени;
- 2) нарушение мобилизации гликогена (например, при циррозе);
- 3) нарушение всасывания углеводов в ЖКТ;
- 4) гиперинсулинизм (при опухолях β -клеток островков Лангерганса, метаболический синдром, передозировка инсулина больным СД);
- 5) дефицит контринсулярных гормонов (кортикостероиды, глюкагон, T_3 , T_4 и др.);
- 6) алкогольная интоксикация (этанол блокирует ГНГ).

Клинические проявления гипогликемии:

1) Первая фаза: чувство голода, дрожь, слабость, сонливость, нарушение координации движений, учащенное сердцебиение, потливость, головная боль.

2) Вторая фаза: двоение в глазах, бледная и влажная кожа, неадекватное поведение и речь, появляется агрессия.

3) Третья фаза: заторможенность, потеря сознания, кома.

Гипергликемия — патологическое состояние, характеризующееся повышением концентрации глюкозы в периферической крови выше нормы. Может быть физиологической и патологической.

Причины физиологической гипергликемии:

- 1) алиментарная (после еды);
- 2) нейрогенная (при стрессе, боли: возбуждение коры → иррадиация на нижележащие отделы → по симпатическим путям к печени → усиливается гликогенолиз и тормозится липогенез из глюкозы);
- 3) при кетаминовом наркозе (возбуждение симпатических центров → выброс адреналина → гликогенолиз).

Причины патологической гипергликемии:

1) нарушение эндокринной регуляции (недостаток инсулярных эффектов → снижение утилизации глюкозы тканями, особенно мышечной и жировой, гиперпродукция контринсулярных гормонов → стимуляция гликогенолиза и ГНГ). Примерами патологической гипергликемии являются: сахарный диабет, болезнь Иценко — Кушинга, акромегалия и др.

Клинические проявления гипергликемии:

- 1) глюкозурия (полиурия, ночной энурез, компенсаторная полидипсия);
- 2) дегидратация и нарушение электролитного баланса → сухость кожи и слизистых, снижение тургора тканей, гипотония;
- 3) синдром белкового истощения (плохое заживление ран, склонность к гнойничковым грибковым заболеваниям, мышечная слабость, снижение темпов роста);
- 4) синдром нарушения липидного обмена (снижение массы тела);

5) астенический синдром вследствие энергетического голода и дизэлектролитных нарушений (снижение работоспособности, слабость, адинамия);

6) при стойкой гипергликемии апобелок липопротеидов сыворотки крови апо-А гликозилируется, что снижает активность ЛХАТ и, тем самым, нарушает обратный транспорт ХС.

При изучении патологии углеводного обмена следует помнить, какие из направлений в метаболизме углеводов являются катаболическими и анаболическими. К катаболическим процессам относятся: гликолиз, ПФП, путь уроновых кислот, гликогенолиз, деградация гликопротеидов и протеогликанов. К анаболическим процессам можно отнести: ГНГ, синтез гликогена, гликопротеинов и протеогликанов. Каждый из этих путей нуждается в субстратах, ферментах и регуляторах. Организм должен постоянно приспосабливаться к изменениям, связанным с доступностью субстратов и условиями протекания реакций. На интенсивность реакций влияет не только недостаток, но и избыток субстратов, например, фруктозы при парентеральном питании. Высокая концентрация последней приводит к снижению уровня адениловых нуклеотидов из-за фруктокиназы, активность которой не регулируется АТФ, что может приводить к некротическому поражению печени. При этом также нарушаются специальные транспортные системы, обеспечивающие не только поступление моносахаров из кишечника в кровь, но и трансмембранный перенос, а также выделительную функцию почек.

Следует помнить, что решающим фактором метаболизма являются ферменты, их количество и активность. Согласованное функционирование метаболических реакций в различных органах и тканях определяется их контролем, прежде всего со стороны гормонов.

2. Патология ферментов гликолиза

Дефекты ферментов гликолитического расщепления глюкозы связаны с нарушениями метаболизма эритроцитов и способны вызывать развитие гемолитических анемий. В эритроцитах, где нет митохондрий, анаэробный гликолиз является единственным способом извлечения энергии. Образование АТФ в эритроцитах зависит от работы ключевых ферментов гликолиза и функционирования шунта Раппопорта. Энергия, поставляемая гликолизом, обеспечивает поддержание целостности плазматической мембраны эритроцитов и работу Na^+ , K^+ -АТФазы. При блокировании гликолиза становится невозможным транспорт O_2 к тканям, так как происходит снижение активности Na^+ , K^+ -АТФ-азы, что приводит к потере ионов калия клеткой, уменьшению содержания одновалентных ионов и дегидратации эритроцитов, что влечет за собой их гибель.

Наиболее распространенным дефектом гликолиза является недостаточность фермента пируваткиназы, которая сопровождается развитием наследственной гемолитической анемии (пример первичной энзимопатии) [1–2]. Врожденная гемолитическая анемия встречается у лиц, гомозиготных по аутосомно-рецессивному гену. Гетерозиготные носители являются практически здоровыми. У больных с дефицитом пируваткиназы снижается количество АТФ в эритроцитах и накапливаются продукты гликолиза предшествующих этапов — фосфоенолпируват, 3-фосфоглицерат, 2,3-дифосфоглицерат, а содержание пирувата и лактата снижается [3].

Среди других дефектов гликолиза, которые вызывают гемолитическую анемию, описана также недостаточность гексокиназы [4], глюкозо-6-фосфат изомеразы [5], фосфофруктокиназы [6].

3. Патология ферментов пентозофосфатного пути

Для человека решающее значение имеет окислительная часть пентозофосфатного пути (ПФП), связанная с синтезом рибозо-5-фосфата (необходим для синтеза моно-, ди-, полинуклеотидов и ГАГ) и НАДФН+Н⁺ (необходим для синтеза многих соединений, для реакций фагоцитоза и детоксикации ксенобиотиков). Для эритроцитов НАДФН+Н⁺ необходим в первую очередь для АОЗ (регенерация глутатиона) и восстановления metHb.

Недостаточность ключевых ферментов ПФП — глюкозо-6-фосфат ДГ и 6-фосфоглюконат ДГ — может приводить к падению пула НАДФН+Н⁺ и снижению АОЗ эритроцитов. Количество перекиси в эритроцитах возрастает, и она окисляет Hb(Fe⁺²) в MetHb(Fe⁺³). Известно, что дефекты глюкозо-6-фосфат ДГ приводят к снижению времени жизни эритроцитов, а при недостатке этого фермента происходит гемолиз эритроцитов [1]. Следовательно, недостаточность глюкозо-6-фосфат ДГ приводит к гемолитической анемии. Заболевание возникает вследствие мутации гена, расположенного на X-хромосоме, с рецессивным типом наследования. Страдают преимущественно мужчины и гомозиготные женщины. У женщин-гетерозигот клинические проявления будут зависеть от соотношения нормальных эритроцитов и эритроцитов с недостаточностью глюкозо-6-фосфат ДГ. У новорожденных при выраженном дефиците активности глюкозо-6-фосфат ДГ гемолитические кризы возникают сразу после рождения. Заболевание протекает с тяжелой неврологической симптоматикой.

Болезнь широко распространена в странах Средиземноморья, Африки, Азии, Латинской Америке. В Беларуси встречается редко. В настоящее время описано более 250 вариантов недостаточности глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы [3], [7].

4. Патология ферментов глюконеогенеза

Глюконеогенез (ГНГ) — синтез глюкозы из углеводов предшественников. При голодании более 1 суток, при стрессе ГНГ обеспечивает нормогликемию, необходимую для поддержания функций мозга и эритроцитов. При сахарном диабете ГНГ — основной механизм развития гипергликемии.

Патология ГНГ может быть связана с активностью ключевых ферментов: пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы; недостатком фруктозо-1,6-дифосфатазы и низкой активностью глюкозо-6-фосфатазы.

Низкая активность пируваткарбоксилазы является первичной энзимопатией (синдром Лея из-за дефицита пируваткарбоксилазы).

Недостаток фосфоенолпируваткарбоксикиназы проявляется как гипогликемия, гепатомегалия, возможна задержка роста (так как синтез глюкозы идет только из глицерина).

Дефицит фруктозо-1,6-бисфосфатазы — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, приводящее к дефектам глюконеогенеза в результате мутаций в гене FBP1. К основным клиническим проявлениям относятся эпизоды гипогликемии и острого лактат-ацидоза или кетоацидоза, возникающие преимущественно у детей раннего возраста на фоне голодания, функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта или при присоединении интеркуррентных заболеваний. Заболевание характеризуется высоким уровнем летальности в неонатальном периоде и является одной из причин синдрома внезапной смерти. При ранней диагностике недостаточности фруктозо-1,6-бисфосфатазы и адекватной диетотерапии прогноз благоприятный.

В настоящее время золотым стандартом диагностики дефицита фруктозо-1,6-бисфосфатазы является молекулярно-генетическое исследование гена FBP1. С помощью молекулярно-генетического исследования биоптата хориона возможна и пренатальная диагностика заболевания. Дифференциальная диагностика проводится с другими формами гипогликемических состояний, протекающих с ацетонемией: гликогенозами, надпочечниковой недостаточностью, дефектами окисления жирных кислот и др. [8].

При недостаточности глюкозо-6-фосфатазы нарушается ГНГ и гликогенолиз в печени — основные механизмы поддержания нормогликемии.

5. Нарушение метаболизма фруктозы

Метаболизм фруктозы включает несколько путей ее использования для синтеза других веществ и участия в энергообеспечении организма, при этом она превращается в печени в глюкозу, либо в промежуточные продукты (гликоген, триацилглицеролы).

Доброкачественная эссенциальная фруктозурия — редкий, рецессивно наследуемый дефект обмена фруктозы. Заболевание связано с недостаточным синтезом фруктокиназы в печени и других тканях. В связи с этим фруктоза накапливается в крови (фруктоземия) и выделяется с мочой (фруктозурия), где ее можно обнаружить лабораторными методами.

Другая тяжелая форма фруктозурии (наследственная непереносимость фруктозы) обусловлена недостаточностью фермента фруктозо-1-фосфатаальдозазы и накоплением в клетках печени, почек, кишечника и других тканях фруктозо-1-фосфата. Клинически проявляется рвотой, болями в животе, диареей, гипогликемией, гипофосфатемией, гиперурикемией, поражением функций печени, почек и головного мозга. Заболевание не проявляется, пока ребенок питается грудным молоком, симптомы возникают, когда в рацион добавляют фрукты, соки, сахар. При этом боль в животе, срыгивание, рвота, диарея могут появиться уже через 30 минут после приема пищи, содержащей фруктозу. Непереносимость фруктозы — частая аутосомно-рецессивная форма. При устранении фруктозы из пищи дети развиваются нормально [9–10].

6. Нарушение метаболизма галактозы

Галактоземия связана с нарушением метаболизма галактозы из-за недостаточности трех ферментов — галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (галактоземия I типа), галактокиназы (галактоземия II типа) и уридилфосфат-4-эпимиразы (галактоземия III типа). Наследственная форма галактоземии имеет аутосомно-рецессивный тип наследования. Причины — генетически обусловленный дефект и (или) недостаточность эффектов ферментов метаболизма галактозы. В плазме крови нарастает концентрация галактозы и ее метаболитов, которые оказывают токсическое влияние на нервную ткань, почки, печень, кишечник, клетки крови. У детей с галактоземией при рождении признаки заболевания отсутствуют. Симптоматика обнаруживается при кормлении ребенка грудным молоком или молочными смесями, содержащими лактозу. Первые проявления неспецифичны — срыгивания, задержка в прибавке массы тела, диарея. Позднее могут присоединяться гепато- и (или) гепатоспленомегалия, асцит, гипербилирубинемия, повышение активности печеночных ферментов в крови, нередко гипогликемия. Поражение печени при галактоземии — одна из ведущих причин смерти, поскольку уже в течение первого полугодия жизни нередко развивается острая печеночная недостаточность. Токсическое действие на нервную систему избытка галактозы и ее метаболитов вызывает отек мозга, экстрапирамидные и мозжечковые расстройства. Нарушение синтетической

функции клеток печени и токсическое поражение стенок капилляров могут стать причиной геморрагического синдрома. Характерно также развитие гемолитической анемии вследствие повреждения мембран эритроцитов. Одним из патогенных признаков галактоземии является угнетение бактерицидной активности лейкоцитов, что служит фактором риска развития сепсиса. К концу первого месяца жизни в связи с накоплением в хрусталике одного из метаболитов галактозы — галактитола — может сформироваться катаракта. Патологические процессы при галактоземии обусловлены не только токсическим действием указанных продуктов, но и их тормозящим влиянием на активность других ферментов, участвующих в углеводном обмене (фосфоглюкомутазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), следствием чего является гипогликемический синдром.

Подавляющее большинство случаев заболевания обусловлено мутациями в гене GALT (фермент галактозо-1-фосфатуридилтрансфераза).

7. Гликогенозы и агликогенозы

Гликогенозы — общее название синдромов, обусловленных наследственными дефектами ферментов, участвующих в синтезе, мобилизации или деградации гликогена и отложение его в неизменном виде или в виде нефизиологических форм в различных органах и тканях. Гликогенозы сопровождаются нарушениями функций органов и систем организма. Причина гликогенозов — мутации генов, которые кодируют синтез ферментов, участвующих в гликогенолизе (реже — синтезе гликогена). Чаще гликогенозы имеют аутосомно-рецессивный тип наследования. Недостаточность практически любого фермента, участвующего в метаболизме гликогена, может вызвать различные варианты гликогенозов. Известно около 15 типов различных гликогенозов. Выделяют следующие формы: печеночные, мышечные, смешанные.

Печеночные формы гликогенозов ведут к нарушению использования гликогена для поддержания нормогликемии. Общий симптом — гипогликемия в постабсорбтивном периоде.

I тип, дефект глюкозо-6-фосфатазы (болезнь Гирке), печеночный тип гликогеноза. Причина — мутации генов, кодирующих синтез глюкозо-6-фосфатазы (Ia тип) и глюкозо-6-фосфат трансферазы (Ib тип). Оба фермента участвуют в процессе гликогенолиза. Заболевание обычно проявляется уже в раннем возрасте. У детей обнаруживают гипогликемию, лактацидоз, гиперлипидемию и гепатомегалию. Гликогеноз Ib типа близок по симптоматике к Ia, однако при типе Ib могут также наблюдаться нейтропения и дисфункция нейтрофилов. В организме развиваются выраженные метаболиче-

ские нарушения, аденомы печени с последующей их малигнизацией, гепатоцеллюлярные карциномы. При болезни Гирке аденомы могут продуцировать гепсидин, что сопровождается анемией. При гликогенозе I типа наблюдаются нарушения функций почек, почечная недостаточность [11].

II тип, дефект мальтазы (болезнь Помпе), смешанный тип гликогеноза. Причина — мутации в гене, кодирующем синтез — глюкозидазы (кислой мальтазы). Дефект этого фермента приводит к накоплению избытка гликогена в лизосомах клеток различных тканей, наиболее часто — в клетках миокарда и скелетных мышц. Гликогеноз II типа относят к лизосомным болезням накопления. Это единственный гликогеноз, при котором нарушение гликогенолиза связано с дефектом лизосом. Болезнь Помпе рассматривают также и как нейромышечное заболевание, и как метаболическую миопатию. Это наиболее тяжелая форма гликогеноза, эффективного лечения не существует.

III тип, дефект амило-1,6-глюкозидазы, «деветвящий» фермент (болезнь Форбса-Кори), печеночный тип гликогеноза. В клетках пораженных тканей накапливается аномальный гликоген. У большинства пациентов с гликогенозом III типа поражаются мышечная ткань и печень (гликогеноз IIIa типа) и только у некоторых из них органом-мишенью является печень (гликогеноз IIIb типа). Гипогликемия при данном заболевании менее выражена, чем при болезни Гирке, так как на фоне ограничения гликогенолиза сохраняется глюконеогенез. Частым проявлением болезни Кори у детей бывает фиброз печени (цирроз развивается редко).

IV тип, дефект амило-1,4→1,6-глюкозилтрансферазы, («ветвящий» фермент (болезнь Андерсена), печеночный тип гликогеноза. Редкое заболевание. Нарушается превращение 1,4-связей в молекуле гликогена в 1,6-связи, что изменяет ветвление молекулы полисахарида. При этом образуется аномальный гликоген. Этот гликоген активно накапливается в клетках печени, сердца, мышц, головного, спинного мозга и кожи. Печеночная форма болезни Андерсена проявляется у детей в первый месяц жизни. Основными проявлениями данной патологии становятся гепатомегалия и острая печеночная недостаточность. Цирроз печени приводит к смерти, как правило, до пятого года жизни.

У детей наиболее часто встречающимися формами являются гликогенозы I–IV типов.

VI тип печеночного гликогеноза — дефект фосфорилазы печени (болезнь Херса). Недостаточность фермента приводит к замедлению процессов гликогенолиза с последующим накоплением гликогена в тканях. Наблюдается умеренная гипогликемия, гепатомегалия. Болезнь отличается более легким течением.

Мышечные формы гликогенозов связаны с нарушением энергообеспечения скелетных мышц. Эти болезни отчетливо выявляются при усиленных физических нагрузках, сопровождаются болями и судорожным состоянием мышц, а также быстрой утомляемостью. К ним относятся гликогеноз **V muna** — нарушение мышечной фосфоорилазы гликогена (болезнь Мак–Ардла), гликогеноз **VII muna** (болезнь Таруи) — дефект фосфофруктокиназы мышц; **VIII mun** — дефект печеночной фосфоорилазы киназы.

Характерным для всех гликогенозов является гепатомегалия, мышечная слабость, гипогликемия натощак. Введение адреналина таким больным вызывает не гипергликемию, а гиперлактатацидемию. Продолжительность жизни таких больных сокращается.

Агликогеноз — гликогеноз **0 muna** — заболевание, возникающее в случае дефекта гликогенсинтазы, наследуется обычно ауто-сомно-рецессивно. В печени и других тканях больных наблюдают очень низкое содержание гликогена. Это проявляется резко выраженной гипогликемией в постабсорбтивном периоде. Характерный симптом — судороги, проявляющиеся особенно по утрам. При агликогенозах в результате нарушения синтеза гликогена страдают энергетические ресурсы клеток. Болезнь совместима с жизнью, но больные дети нуждаются в частом кормлении.

8. Мукополисахаридозы

Мукополисахаридозы (МПС) — группа наследственных болезней соединительной ткани, обусловленных нарушением обмена кислых гликозаминогликанов (мукополисахаридов, ГАГ) из-за поражения системы лизосомных ферментов, регулирующих обмен ГАГ. Поскольку катаболизм ГАГ нарушается, они в больших количествах откладываются в органах и тканях, поэтому МПС относят к «болезням накопления». Накопление гликозаминогликанов вызывает тяжелые нарушения функции клетки и формирование характерной клинической картины [11].

В настоящее время выделяют 14 типов мукополисахаридозов (таблица 4.1).

Таблица 4.1 — Классификация мукополисахаридозов

Тип мукополисахаридоза	Синдром
ИH	Гурлер
ИH-S	Гурлер — Шейе
IS	Шейе
II	Хантера, легкая и тяжелая формы
III	Санфилиппо

Окончание таблицы 4.1

Тип мукополисахаридоза	Синдром
IIIA	Санфилиппо А
IIIB	Санфилиппо В
IIIC	Санфилиппо С
IIID	Санфилиппо D
IV	Моркио
IVA	Моркио А
IVB	Моркио В
VI	Марото — Лами, легкая и тяжелая формы
VII	Слая

Все они, за исключением синдрома Хантера (II тип), наследуются аутосомно-рецессивно. Наследование синдрома Хантера — рецессивное, сцепленное с хромосомой X. Для практических целей все типы мукополисахаридозов удобнее делить на две группы: «гурлер-подобный» и «моркио-подобный» фенотипы. Последний включает синдромы Моркио А и В, а остальные 12 характеризуются «гурлер-подобным» фенотипом. Больным с «гурлер-подобным» фенотипом свойственны общие внешние, довольно специфичные признаки. Обычно они проявляются задержкой роста, диспропорциональным строением скелета (короткие туловище и шея, длинные конечности), грубыми чертами лица, костными деформациями, тугоподвижностью крупных и мелких суставов. Наряду с этим отмечаются редкие зубы, дистрофия зубной эмали, множественный кариес, макрогlossия, полные губы, гипертелоризм глаз, запавшее переносье, низко расположенные ушные раковины, гепатоспленомегалия, пахово-мошоночные и пупочные грыжи, гипертрофия лимфоидного глоточного кольца. Типична патология ЦНС (снижение интеллекта, часто довольно грубое), органов зрения (помутнение роговицы, глаукома) и слуха (тугоухость), а также сердечно-сосудистой системы (чаще недостаточность клапанов сердца, кардиомиопатия). Больных с «моркио-подобным» фенотипом характеризуют диспропорциональная карликовость, типичные изменения внешности: грубые черты лица, большой рот, прогнатизм. Детям также свойственны килевидная деформация грудной клетки, увеличение суставов с их минимальной тугоподвижностью или нормальным объемом движений, вальгусная деформация нижних конечностей, диффузная мышечная гипотония и нормальный интеллект. Патология других органов и систем идентична изменениям у больных с «гурлер-подобным» фенотипом [12].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mary F. McMullin*. The molecular basis of disorders of red cell enzymes / Mary F. McMullin // *J Clin Pathol.* — 1999. — Vol. 52. — P. 241–244.
2. Richard van Wijk, Wouter W. van Solinge. The energy-less red blood cell is lost: erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis / *Blood.* — 2005. — Vol. 106, № 13. — P. 4034–4042.
3. *Чеснокова, Н. П.* Гемолитические анемии, классификация. Механизмы развития и гематологическая характеристика врождённых и наследственных анемий / Н. П. Чеснокова, В. В. Моррисон, Т. А. Невважай // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* — 2015. — № 6, Ч. 1. — С. 162–167.
4. Allogeneic bone marrow transplantation for treatment of severe hemolytic anemia attributable to hexokinase deficiency / Sajad Khazal [et al.] // *Blood.* — 2016. — Vol. 128 (5). — P. 735–737.
5. Two novel mutations (p.(Ser160Pro) and p.(Arg472Cys)) causing glucose-6-phosphate isomerase deficiency are associated with erythroid dysplasia and inappropriately suppressed hepcidin / Renata Mojzickova [et al.] // *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* — Vol. 69. — P. 23–29.
6. Two cases of phosphofructokinase deficiency associated with congenital hemolytic anemia found in Japan / Kenzaburo Tani MD [et al.] // *American Journal of Hematology.* — 1983. — Vol. 14(2). — P. 165–74.
7. *Мицура, Е. Ф.* Гемолитические анемии у детей / Е. Ф. Мицура, И. П. Рома-шевская, Д. К. Новик. — Гомель: ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2017. — 20 с.
8. Дефицит фруктозо-1,6-бифосфатазы: описание первого генетически подтвержденного случая в России / Ю. В. Тихонович [и др.] // *Педиатрия.* — 2015. — Т. 94, № 1. — С. 96–99.
9. *Биохимия: учеб.* / под ред. чл.-кор РАН, Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. — 768 с.
10. Наследственная непереносимость фруктозы / Н. В. Нагорная [и др.] // *Здоровье ребёнка.* — 2014. — № 3 (54). — С. 92–96.
11. *Литвицкий, П. Ф.* Расстройства углеводного обмена у детей: гипогликемия, гипергликемия, гликогеноз, агликогеноз, гексоземия / П. Ф. Литвицкий, Л. Д. Мальцева // *Вопросы современной педиатрии.* — 2017. — № 16 (5). — С. 362–369.
12. Pathogenesis of Mucopolysaccharidoses: an Update / Fecarotta Simona [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* — 2020. — Vol. 21. — P. 2515.
13. Мукополисахаридозы у детей / А. Н. Семячкина [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* — 2007. — № 4. — С. 22–29.

Занятие № 5

БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ РАЗВИТИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Цель занятия: сформировать представление об основных механизмах возникновения сахарного диабета и биохимических нарушениях, вызванных дефицитом инсулярных эффектов.

Требования к исходному уровню знаний

1. Пути метаболизма глюкозы в тканях.
2. Механизмы регуляции уровня глюкозы в крови.
3. Роль печени и поджелудочной железы в метаболизме углеводов и липидов.
4. Общую схему энергетического обмена.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Сахарный диабет: причины возникновения (абсолютный или относительный дефицит инсулярных эффектов, его виды (СД 1 и 2 типа)).
2. Биохимические сдвиги при инсулярной недостаточности, механизм их возникновения и метаболические последствия.
3. Диагностика сахарного диабета.

1. Сахарный диабет: причины возникновения (абсолютный или относительный дефицит инсулярных эффектов, его виды (СД 1 и 2 типа))

Сахарный диабет — заболевание, характеризующееся абсолютным или относительным дефицитом инсулина. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, СД классифицируют с учетом патогенеза и клинического течения на две основные формы: диабет I типа — инсулинзависимый (ИЗСД) и диабет II типа — инсулиннезависимый (ИНСД).

СД 1-го типа (диабет молодых, инсулиндефицитный), возникает до 40 лет результате полного и частичного дефицита инсулина. Повреждение β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы (кисты, травмы, панкреонекроз и др.) сопровождается абсолютным дефицитом инсулина. При относительном дефиците гормон есть, но его недостаточно, так как есть несоответствие между инсулиновой продукцией и потребностью в нем. Причинами СД 1-го типа могут быть: генетические дефекты молекулы инсулина (ИНС); генетические дефекты в структуре белков-рецепторов к ИНС; дей-

ствии ИНС блокировано наличием антител; ИНС очень прочно связан с белком-носителем, что снижает его активность. Недостаточность секреции ИНС может развиваться вследствие аутоиммунного поражения β -клеток поджелудочной железы и чаще развивается у лиц с генетической предрасположенностью. Процессу способствуют некоторые продукты: углеводы, белки коровьего молока, нитраты, нитриты, вирусная инфекция (особенно аденовирусы) и стресс. Под влиянием инсулина находится транскрипция более чем 150 генов человека. В их числе гены, участвующие в гликолизе и его регуляции, а именно кодирующие гексокиназы II и IV, пируваткиназу. Молекулярными сенсорами глюкозы в клетках являются сиртуины (SIRT1) и ChREBP (carbohydrate response element binding protein). Сиртуины (SIRT1) — NAD-зависимые белковые деацетилазы, которые связывают регуляцию транскрипции прямо с внутриклеточной энергетикой и участвуют в координировании отдельных клеточных функций, таких как ответ на повреждение ДНК, метаболизм и аутофагия. ChREBP экспрессируется, главным образом, в печени, жировой ткани и почках. Он служит для координирования синтеза ферментов, необходимых для синтеза углеводов и жиров. ChREBP регулирует синтез таких ферментов, как пируваткиназа, синтаза жирных кислот и ацетил-СоА-карбоксилаза. Другой транскрипционный фактор, функционирующий в печени — SREBP-1c — регулирует образование пируваткиназы, гексокиназы IV, липопротеинлипазы, ацетил-СоА-карбоксилазы и синтазы жирных кислот. Синтез SREBP-1c стимулируется инсулином и подавляется глюкагоном [1].

СД 2-го типа (диабет пожилых, тучных, старше 40 лет) — инсулиноизбыточный или инсулинрезистентный. Относительный дефицит инсулина возникает при избыточной углеводной нагрузке, когда большое количество гормона уходит на депонирование глюкозы в форме жира, рецепторы адипоцитов обладают высоким сродством к инсулину, что лежит в основе некоторых форм наследственного ожирения. Каждый толстый человек — потенциальный диабетик. Причина СД II-типа мутации генов, кодирующих различные компоненты системы регуляторных белков и ферментов, передающих сигнал от инсулина на рецептор в клетку, т. е. патология пострецепторного аппарата клеток-мишеней. Наиболее часто встречается патология генов, кодирующих инсулиновый рецептор и фермент фосфотидилинозитол-3-киназу. Эти мутации передаются по наследству. Но этот тип диабета может проявиться и в молодом возрасте. При развитии инсулинорезистентного СД-2 типа работают 2 вида факторов: генетические и внешние факторы. Вторичная инсулинорезистентность — это целый ряд внешних факторов. Под внешними факторами рассматривают: пожилой возраст, ожирение, малоподвижный образ жизни, гиперлипидемию. Генетические факторы,

вызывающие инсулинорезистентность имеют полигенный характер. Выявляют 2 группы генетически связанных причин: нарушения в инсулиновых рецепторах и нарушения в пострецепторных эффектах инсулина. Известно около 50 различных мутаций, приводящих к нарушению связывания рецепторов с инсулином. Мутации проявляются в виде уменьшения числа или изменения структуры самого рецептора к инсулину. Возможно нарушение встраивания рецепторов в мембраны клеток, рециркуляции рецепторов, нарушение интернализации гормон — рецепторного комплекса. Причиной мутаций может являться замедление процессов аутофосфорилирования, или снижение тирозинкиназной активности β -субъединиц рецептора. Указанные выше мутации инсулиновых рецепторов выявлены лишь при некоторых врожденных симптомах и встречаются редко. Значительно чаще причиной инсулинорезистентности являются генетически детерминированные дефекты пострецепторного каскада инсулинового рецептора, которые проявляются в виде: нарушения передачи сигналов от рецептора в клетку; изменения в системе глюкозотранспортных белков, а также мутации генов ключевых ферментов внутриклеточного метаболизма глюкозы — гликогенсинтазы и пируват дегидрогеназы. Исследования показывают, что у 30–90 % людей, имеющих ожирение, выявляется инсулинорезистентность, при этом имеет значение степень и тип ожирения. У пациентов, имеющих 2-ю и 3-ю степени ожирения, инсулинорезистентность выявляется в 5-6 раз чаще, чем у лиц с избыточным весом.

2. Биохимические сдвиги при инсулярной недостаточности, механизм их возникновения и метаболические последствия

Животные жиры, содержащие насыщенные жирные кислоты, вызывают структурные изменения фосфолипидов клеточных мембран, нарушают экспрессию генов, контролирующих внутриклеточные эффекты инсулина, что способствует развитию инсулинорезистентности. Гиперинсулинемия является в какой-то мере компенсаторным процессом, так как позволяет у ряда больных длительное время удерживать уровень глюкозы в нормальных пределах и предотвращать развитие СД. Но хронический избыток инсулина в крови оказывает отрицательное воздействие практически на все виды обмена веществ, что приводит к ускоренному развитию атеросклероза и его клиническим проявлениям. При дефиците или отсутствии инсулина (СД-1 типа), а также при отсутствии эффектов с его стороны (СД-2 типа), характер метаболических изменений единый: избыток глюкозы в крови и недостаток в тканях. Включается постоянный механизм регуляции уровня глюкозы в крови, который

необходим для создания градиента концентрации и стимуляции транспорта глюкозы в ткани, путем диффузии. При постоянном механизме регуляции уровня глюкозы в крови сохраняется высокая концентрация контринсулярных гормонов — глюкагона, АКТГ, СТГ, ТТГ, кортизола, активируются процессы протеолиза (увеличение концентрации аминокислот) и липолиза (увеличение концентрации СЖК и глицерина). Гликогенные аминокислоты направляются на ГНГ, образование глюкозы возрастает, но она выделяется с мочой (в то время, как в тканях дефицит глюкозы). Стимуляция липолиза переключает энергообмен на утилизацию ЖК. Их повышенное количество приводит к накоплению ацетил-КоА. Интенсивность ЦТК замедляется, поскольку оксалоацетат обеспечивает ГНГ, собирающий в печени гликогенные аминокислоты. Количество цитрата, ацетил-КоА возрастает и в митохондриях начинается синтез кетоновых тел и ХС. При СД 2 типа синтез кетоновых тел идет очень интенсивно. Избыток ЖК вызывает разобщение окислительного фосфорилирования, что объясняет плохое самочувствие больных при неконтролируемом СД. При превышении почечного порога глюкозы (8–10 мМ/л) идет выделение избытка глюкозы с мочой — глюкозурия, нарушается инсулинзависимая реабсорбция глюкозы в почечных канальцах. За счет гипергликемии, повышается также концентрация аминокислот, аммиака, жирных кислот, глицерина, кетоновых тел, K^+ , мочевины и других компонентов, которые суммарно формируют гиперосмоляльность (рисунок 5.1). Увеличение осмоляльности определяет чувство жажды, за счет дегидратации тканей (вода идет из тканей в кровь). Чувство жажды заставляет больного пить много воды (полидипсия до 40 л/сутки), следствием чего является мочеизнурение - полиурия. Дефицит глюкозы в тканях (не в крови) формирует чувство голода и увеличение потребления пищи (полифагия). Однако при этом человек худеет, масса тела снижается (повышенный катаболизм), так как в организме активируется протеолиз и липолиз. Одним из тяжелых осложнений СД является гиперосмоляльная (рисунок 5.1) кома, возникающая в результате дегидратации тканей, нарушения энергообмена, ацидоза (истощаются буферы крови, т.к. накапливается много кислых продуктов), происходит нарушение электролитного баланса.

Таким образом, при дефиците инсулина активируются ферменты катаболизма. Гипергликемия и глюкозурия являются следствием нарушения процессов: снижения транспорта глюкозы в жировые и мышечные клетки; ингибирования гликолиза и синтеза гликогена (при отсутствии инсулина снижается активность ключевых ферментов: глюкокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы, гликогенсинтазы). Эти процессы сопровождаются фосфорилированием гликогена и активации ГНГ в печени.

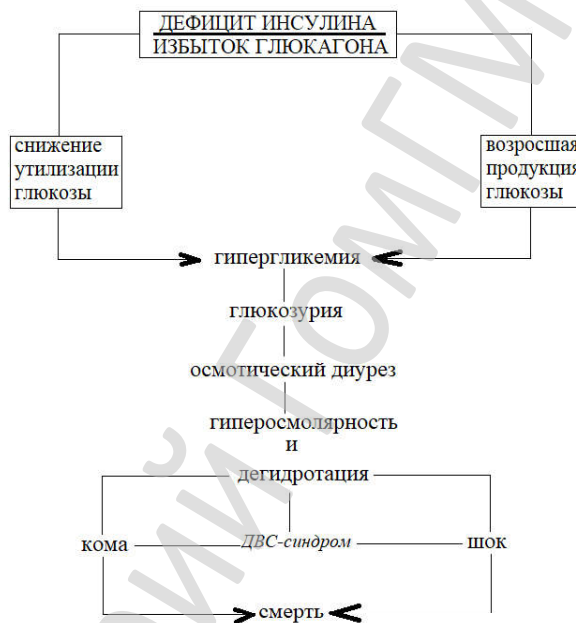


Рисунок 5.1 — Патогенез гипергликемической комы [2]

Избыток глюкозы в крови оказывает токсическое действие на клетки. Происходит неферментативное гликозилирование структурных белков. Избыток глюкозы — это активация полиолового пути — образование сорбитола, который накапливается в клетке, вызывает набухание в эндотелии и перицитах сосудов почечных клубочках. Неферментативное гликозилирование структурных белков мезангия и базальной мембраны почечных клубочков приводит к нарушению селективности базальной мембраны, нарушению структуры и нарушению клубочковой фильтрации.

Гиперхолестеринемия, кетонемия и кетонурия являются главными спутниками больных СД (рисунок 5.2).

При неконтролируемых типах СД, больные погибают от осложнений атеросклероза.

При СД из-за дефицита энергии, снижения активности пентозного цикла, из-за активного протеолиза (рисунок 5.3) снижается интенсивность синтетических и регенеративных процессов. В связи с этим, очень плохо заживают раны, ссадины, после переломов медленно образуются костный мозоль.

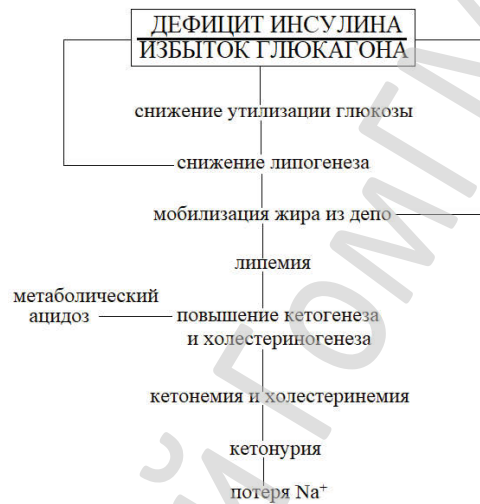


Рисунок 5.2 — Липидный обмен при сахарном диабете [2]

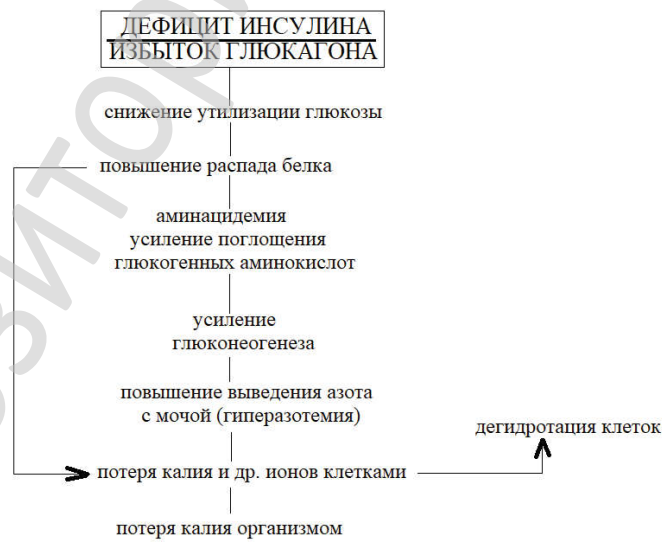


Рисунок 5.3 — Обмен белков при сахарном диабете [2]

3. Диагностика СД

1. Клинические проявления: кариес, фурункулез, катаракта, атеросклероз, незаживающие раны, мышечная слабость.

2. Лабораторная диагностика — определение уровня глюкозы в крови натощак; построение гликемической кривой; определение HbA_{1c} — гликозилированного гемоглобина. В норме он составляет 4–6 % от общего гемоглобина; определение С-пептида в сыворотке или моче; наличие альбуминурии (при СД- 30–300 мг при норме 8 мг).

К поздним осложнениям СД относят: макро- и микроангиопатии, нефропатию и ретинопатию.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Таганович, А. Д. Патологическая биохимия / А. Д. Таганович, Э. И. Олецкий, И. А. Котович / под ред. А. Д. Тагановича. — М.: Издательство БИНОМ, 2014. — 448 с.
2. Зайчик А. Ш. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения) / А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2007. — 768 с.
3. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus / Diabetes Care. — 2013. — Vol. 36, Supp. 1. — P. 67-74.
4. Kerner, W. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus / W. Kerner J. Brückel // Exp Clin Endocrinol Diabetes. — 2014. — Vol. 22 (7). — P. 384–386

Занятие № 6

ПАТОЛОГИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА.

ПОНЯТИЕ О МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Цель занятия: сформировать представление об основных механизмах возникновения патологии липидного обмена, взаимосвязи липидного и углеводного обменов, их регуляции гормонами.

Требования к исходному уровню знаний

1. Строение, свойства, особенности метаболизма каждого представителя класса липидов, их биологическую роль.
2. Строение, свойства, особенности метаболизма каждого представителя класса ЛП (липопротеидов).
3. Процесс переваривания и всасывания липидов в ЖКТ, значение энтерогепатической циркуляции желчных кислот.
4. Взаимосвязь углеводного и липидного обменов, цикл Рэндала.
5. Иметь представление о методиках: влияния желчи на активность липазы, определения концентрации триглицеридов и холестерина в плазме крови, их диагностическое значение.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Нарушения переваривания и всасывания липидов, его проявления. Стеатореи.
2. Жировая инфильтрация и дегенерация печени — механизмы развития и профилактика.
3. Жировая ткань (белая и бурая). Их биологическая роль.
4. Ожирение — виды, механизм развития и осложнения. Роль инсулина, лептина, грелина, адипонектина и других гормонов. Недостаточность функций пероксисом как причина ожирения.
5. Дислипотеидемии. Классификация по Фредриксону, биохимическая и клинико-диагностическая характеристика основных групп.
6. Липидозы — наследственные нарушения липидного обмена.

1. Нарушения переваривания и всасывания липидов, его проявления. Стеатореи

Наиболее распространенные формы патологии липидного обмена у человека — ожирение, истощение, липодистрофии, липидозы и дислипотеинемии (рисунок 6.1).



Рисунок 6.1 — Типовые формы патологии липидного обмена [1]

Одной из основных причин развития патологии липидного обмена является нарушение переваривания и всасывания экзогенных липидов. Под перевариванием понимают процессы механической и ферментативной деградации пищевых веществ и всасывание продуктов их расщепления. Переваривание и всасывание липидов происходит поэтапно [2–3]:

- 1 — процесс эмульгирования с участием кишечной перистальтики и дифильных веществ;
- 2 — гидролиз экзогенных липидов при участии липаз;
- 3 — мицеллярное растворение продуктов переваривания и всасывания;
- 4 — ресинтез в энтероцитах эндогенных липидов — триацилглицеролов, фосфолипидов (ФЛ) и эфиров холестерина (ЭХС);
- 5 — транспорт липидов в составе липопротеидов.

Стеаторея — результат нарушения переваривания липидов, проявляется повышением содержания жира в кале.

Причины стеатореи:

1. Алиментарная стеаторея (избыточное поступление жиров с пищей).
2. Заболевания поджелудочной железы (острый и хронические панкреатиты, сужение Вирсунгова протока, опухоль поджелудочной железы).
3. Заболевания печени (острые и хронические гепатиты, алкогольный гепатит, цирроз печени, амилоидоз, опухоли, кисты, болезнь Вильсона, гемохроматоз).
4. Заболевания желчного пузыря и желчных протоков (желчно-каменная болезнь, острый и хронический холециститы, воспаление желчных протоков, лямблиоз).

5. Заболевания кишечника (болезнь Крона, болезнь Уиппла, лимфома кишечника, воспаление тонкого кишечника, состояние после резекции (удаления части) кишечника, амилоидоз).

6. Заболевания желез внутренней секреции (гипертиреоз, болезнь Аддисона).

7. Некоторые наследственные и врожденные заболевания (абеталипопротеинемия, муковисцидоз, целиакия).

8. Кожные заболевания с системными проявлениями (т. е. поражающие не только кожу, но и внутренние органы — псориаз, экзема).

9. Избыточное употребление некоторых лекарственных средств (слабительные, средства для лечения ожирения).

В зависимости от причин, вызывающих появление липидов в кале условно выделяют три типа стеаторей: панкреатическая (наличие в кале нейтральных жиров, окраска нормальная), гепатогенная (наличие в кале жирных кислот, мыл, отсутствие желчных пигментов), энтерогенная (совмещает признаки 1 и 2 типа, окраска кала нормальная).

При стеаторее нарушается всасывание жирорастворимых витаминов (А, Д, Е, К) и незаменимых жирных кислот (линолевой, линоленовой, арахидоновой). При длительно текущей стеаторее появляется недостаточность незаменимых факторов питания с соответствующими клиническими симптомами.

2. Жировая инфильтрация и дегенерация печени — механизмы развития и профилактика

Жировая инфильтрация и дегенерация печени (жировая дистрофия, жировой гепатоз, стеатоз печени) — избыточное накопление триглицеридов в печени. Когда накопление жира становится хроническим, в клетках происходят фиброзные изменения, приводящие к циррозу печени и нарушению ее функций. Для печени возможно несколько причин жирового перерождения:

1. Увеличение содержания свободных жирных кислот в плазме крови (жировая диета, сахарный диабет и др.). Это происходит при мобилизации триглицеридов из жировой ткани, или гидролизе триглицеридов, входящих в состав липопротеидов, за счет внепеченочной ЛП-липазы. Возрастает поглощение и эстерификация СЖК клетками печени. Образующихся в печени ЛПОНП оказывается недостаточно для утилизации всех, поступающих СЖК. Они накапливаются в гепатоцитах в виде ТГ, вызывая жировое перерождение печени.

2. Метаболический блок синтеза и секреции липопротеидов из печени. Это вызвано следующими причинами:

- а) нарушение синтеза апобелков, в частности апо-В100;
- б) блокада синтеза ЛП из липидов и апо-белков;

- в) недостаток ФЛ, входящих в состав ЛП;
 - г) недостаток или отсутствие липотропных факторов — холин, метионин, этаноламин, инозитол, серин, полиненасыщенные жирные кислоты, витамины группы В (необходимы для синтеза фосфолипидов, входящих в состав ЛП);
 - д) нарушение собственного секреторного механизма.
3. Длительное лечение антибиотиками.
 4. Хронический алкоголизм.
 5. Поражения печени (гепатиты, цирроз и др.).

Алкогольный гепатоз — жировой гепатоз, развивающийся вследствие злоупотребления алкоголем.

Неалкогольная жировая болезнь печени является результатом неправильного питания, неконтролируемого использования лекарств. В обоих случаях поражение органа связано с накоплением капель жира (ТГ), жировых включений в гепатоцитах.

При неалкогольном гепатозе основная часть пациентов (до 80 %) имеет изолированный жировой гепатоз печени, протекающий доброкачественно. У принимающих алкоголь в токсичных дозах (примерно 10–25 % случаев), а также при алкогольном жировом гепатозе, болезнь начинает прогрессировать: результаты эластографии регистрируют развитие фиброза, далее цирроза, с последующей необходимостью трансплантации органа. Воспалительно-некротические изменения, которые появляются в поврежденных клетках и в межклеточном веществе — это состояние дистрофии. Печень не может функционировать нормально.

Одной из причин жирового гепатоза печени является инсулинорезистентность — снижение чувствительности мышц и белой жировой ткани к инсулину. Это явление увеличивает количество глюкозы в сыворотке крови (гипергликемия) и (или) повышает инсулин в крови — развивает гиперинсулинемию. Гиперинсулинемия усиливает расщепление липидов (ТГ) в соединительной и жировой тканях, высвобождая большое количество свободных ЖК, при том, что скорость их окисления в печени снижается. Орган начинает избыточно накапливать ТГ, повышено продуцировать ЛПОНП. Нарушается баланс между синтезом и утилизацией клеток. Запущенная цепная реакция расстройств сопровождается гибелью гепатоцитов, развитием воспаления, разрастанию соединительной ткани. Неправильное питание у пациентов с проблемой данного заболевания печени — это другая причина стеатоза. Избыток насыщенных жиров в пище (ТГ), при дефиците полиненасыщенных (ω -6 и ω -9) жирных кислот, а также недостаток незаменимых липотропных факторов питания, недостаток холина, метеонина нарушает синтез фосфолипидов, без которых невозможно формирование частиц ЛПОНП. К причинам развития жирового гепатоза относятся также нарушения

кишечной микрофлоры. Избыточный бактериальный рост в тонком кишечнике способствует попаданию некоторых видов бактерий в воротную вену и ее притоки. Это активизирует иммунный ответ организма, развивается воспаление и синтез фиброзной ткани. Частой причиной гепатоза является метаболический синдром (МС) — ряд клинических, обменных, гормональных расстройств.

Жировой гепатоз — широко распространенная патология печени хронического характера. Наблюдается рост заболеваемости и в раннем возрасте, так как количество детей, страдающих избыточной массой тела, увеличивается. Симптомы жирового гепатоза выявить сложно, он протекает бессимптомно. Печень с признаками жирового гепатоза обнаруживается случайно. Чаще больные обращаются на стадии формирования цирроза после длительного течения болезни. Поэтому для диагностирования патологии на первый план выходят симптомы МС.

3. Жировая ткань (белая и бурая). Их биологическая роль

Жировая ткань — это разновидность соединительных тканей. Различают два вида жировой ткани: белую и бурую.

В белых адипоцитах ядро смещено на периферию одной гигантской капли жира. В цитоплазме клеток содержатся умеренно развитые органеллы общего значения. Кроме адипоцитов, в белой жировой ткани встречаются и другие клетки: преадипоциты, фибробласты, макрофаги, лейкоциты, тучные клетки и др.

Функции белой жировой ткани:

1. Белая жировая ткань играет роль депо для питательных веществ (липиды), воды, жирорастворимых витаминов А, Д, Е, К и каротиноидов, стероидных гормонов (эстрогенов, андрогенов).

2. Энергетическая функция.

3. Терморегуляционная функция. Белая жировая ткань проводит тепло хуже, чем другие ткани.

4. Защитно-механическая, опорная и пластическая функции состоят в механической защите тех органов, которые окружает белая жировая ткань. При резкой потере массы тела может происходить смещение органов, фиксируемых этой тканью (например, почек), что ведет к нарушению их функций. Пластическая функция заключается в том, что белая жировая ткань замещает ткань некоторых органов при их инволюции (тимус).

5. Регуляторная функция. Эта функция заключается в продукции биологически активных веществ и гормонов. Гормоны и биологически активные вещества, вырабатываемые адипоцитами, называются адипоцитокинами (адипокинами). Существуют два типа

адипоцитокинов: специфичные для жировой ткани биологически активные вещества, которые являются истинными адипоцитокинами (адипонектин и лептин), и другие, которые интенсивно секретируются жировой тканью, но не являются специфическими для нее (ингибитор-1 активатора пламиногена (ИАП-1) и фактор некроза опухоли- α (ФНО- α)). Адипоцитокины влияют на метаболизм липидов, гомеостаз глюкозы, процессы воспаления, свертывания крови, иммунитета, ангиогенеза, образования костной ткани, опухолевого роста и др. Они играют определенную роль в патогенезе ожирения и сопутствующих ему заболеваний.

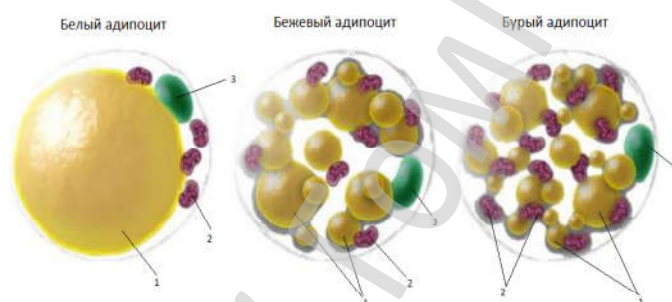
Белая жировая ткань выполняет также гомеостатическую функцию, является источником стромальных стволовых клеток, участвует в посттравматической регенерации кожи, а также в дезинтоксикационной функции организма.

В отличие от белых адипоцитов, в адипоцитах бурой ткани имеется несколько небольших жировых капель и множество митохондрий, содержащих железо (в цитохромах). Бурая жировая ткань содержит больше капилляров, чем белая жировая ткань, так как имеет большую потребность в кислороде. Окислительная способность митохондрий бурого жира в 20 раз выше, чем у белого жира. При термогенезе в бурой ткани задействован белок термогенин, который разобщает окислительное фосфорилирование и дыхание. Таким образом, бурая жировая ткань осуществляет несократительный термогенез — теплообразование, не связанное с мышечной активностью, т. е. продукция тепла в результате увеличения скорости обмена веществ и, следовательно, потребления кислорода организмом.

Бурая жировая ткань играет важную роль для новорожденных младенцев, при адаптации к холоду и при пробуждении от спячки (у животных). У новорожденных детей бурая жировая ткань хорошо развита (примерно 5 % от массы тела) и находится в области шеи, почек, вдоль верхней части спины, на плечах, а также в других участках. Установлено, что она имеется также и у взрослых людей, и расположена там же, где и у новорожденных, но в меньших количествах [4].

Помимо белой и бурой жировых тканей имеется промежуточная разновидность жировых тканей — бежевая жировая ткань (рисунок 6.2). Эта ткань является переходной между белой и бурой жировыми тканями. Морфология «бежевых» адипоцитов зависит от состояния последних: в базальном — имеют характеристики белых адипоцитов, при активации — бурых адипоцитов. Бежевые адипоциты имеют низкую базальную экспрессию термогенина, но под влиянием

стимулов (холод, симпатическая стимуляция, гормоны) экспрессия термогенина повышается и бежевые адипоциты превращаются в активные бурые адипоциты. Переход белой жировой ткани в бурую через бежевую жировую ткань служит важным механизмом поддержания энергетического и температурного гомеостаза [5–6].



**Рисунок 6.2 — Общий план строения адипоцитов:
1 — липидная капля; 2 — митохондрия; 3 — ядро**

Установлено, что физические упражнения способствуют выделению скелетной мышечной тканью миокина ирисина, который переводит белый жир в бурый (процесс получил название «браунинг») и препятствует ожирению. Ирисин вырабатывается мышечной тканью не только при физической работе, но и при действии на организм холода [7–9].

4. Ожирение — виды, механизм развития и осложнения. Роль инсулина, лептина, грелина, адипонектина и других гормонов. Недостаточность функций пероксисом как причина ожирения

Ожирение приводит к снижению трудоспособности, ранней инвалидизации и сокращению продолжительности жизни населения, способствуя развитию таких заболеваний, как сахарный диабет 2-го типа, артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, злокачественные опухоли. Установлено, что у 30-90 % людей, имеющих ожирение, выявляется инсулинорезистентность, что является одним из основных критериев метаболического синдрома.

Ожирение — патологическое накопление жира в организме в виде ТАГ. Причина первичного ожирения — нарушение функционирования системы адипоциты–гипоталамус. Это является результа-

том дефицита и (или) недостаточности эффектов лептина. Причина вторичного ожирения — избыточная калорийность пищи, пониженный уровень энергозатрат организма. Для понимания явных и скрытых причин ожирения необходимо иметь основную информацию о таких физиологических понятиях, как аппетит, голод, насыщение, энергетический баланс, мотивация пищевого поведения, малоподвижность, вредные пищевые привычки, качество пищевых продуктов и др.

Существует несколько классификаций ожирения. По типу отложения жировой ткани выделяют следующие типы ожирения:

- а) абдоминальное (андроидное, туловищное, «верхний тип»);
- б) гиноидное (глютеофemorальное, ягодично-бедренное, «нижний» тип);
- в) смешанное.

При туловищном ожирении жир распределяется неравномерно с избыточным отложением в верхней половине туловища, на животе и увеличением висцерального жира. На конечностях и ягодичах жира мало, вплоть до его отсутствия. При глютеофemorальном типе ожирения наблюдается равномерное распределение жира с преобладанием в области ягодиц и бедер. Этот тип развивается в детстве и характеризуется гиперплазией жировых клеток (гиперпластическое ожирение). Сравнение частоты инсулинорезистентности у больных ожирением указывает, что именно туловищное ожирение тесно связано с его развитием. Предполагается, что причиной развития туловищного ожирения является то, что оно появляется после 30 лет, когда существенное значение имеет возрастное повышение активности гипоталамуса, в частности системы АКТГ-кортизол. Это проявляется снижением чувствительности АКТГ к тормозящему влиянию кортизола, что приводит к хроническому избытку секреции кортизола (возможно генетическая предрасположенность). Хронический избыток кортизола стимулирует кортизол-зависимую ЛП-липазу на поверхности адипоцитов верхней части туловища, брюшной стенки и висцерального жира (кортизол-зависимая жировая ткань). В этих областях увеличивается отложение жира, гипертрофия адипоцитов клеток и характерное туловищное ожирение. Таким образом, избыток кортизола — это не только ожирение, но и развитие инсулинорезистентности. При развитии инсулинорезистентности в жировой ткани начинают преобладать процессы липолиза, что приводит к образованию избыточных НЭЖК (неэстерифицированных (свободных) жирных кислот), которые поступают в печень, а затем в системный кровоток. Избыток НЭЖК препятствует связыванию инсулина гепатоцитами и является причиной разви-

тия инсулинорезистентности гепатоцитов. Кроме того, НЭЖК снижают тормозящее действие инсулина на процессы ГНГ в печени, активируя продукцию глюкозы печенью. В мышечной ткани НЭЖК препятствуют утилизации глюкозы.

НЭЖК могут тормозить фосфорилирование глюкозы, снижать активность гликогенсинтазы, изменять текучесть клеточных мембран и таким образом влиять на чувствительность рецепторов к инсулину. Не исключается возможность прямого ингибирующего воздействия НЭЖК на экспрессию гена Glut-4. Избыток инсулина в крови по механизму обратной связи уменьшает количество экспрессируемых инсулиновых рецепторов, что усиливает инсулинорезистентность. Висцеральные адипоциты способны синтезировать ряд биологически активных веществ — адипоцитокинов.

Внешние факторы (физическая активность, избыточное потребление жирной пищи) не являются причинными, но они способны существенно усугублять инсулинорезистентность. Животные жиры, содержащие насыщенные жирные кислоты, вызывают структурные изменения фосфолипидов клеточных мембран, нарушают экспрессию генов, контролирующих внутриклеточные эффекты инсулина. Это способствует развитию инсулинорезистентности.

С пищей в организм могут поступать до 800 различных индивидуальных жирных кислот, но метаболическим превращениям *in vivo* подвергаются не более 30. Остальные сотни жирных кислот являются афизиологичными и подлежат окислению в пероксисомах при одновременной активизации α -, β -, и ω -оксидаз без образования АТФ. Окислению в пероксисомах подлежат ЖК с нечетным числом атомов углерода, очень длинные ЖК, ЖК с боковыми цепями атомов углерода, дикарбоновые ЖК и ЖК с бензольными и индольными кольцами в цепи атомов углерода. Пероксисомы окисляют также и избыточное количество экзогенной $C_{15}H_{31}COOH$ — пальмитиновой кислоты. Если пероксисомы усиленно окисляют экзогенную насыщенную $C_{15}H_{31}COOH$, то человек остается худым, недостаточность функций пероксисом может являться причиной ожирения.

Мутации в первичной структуре оксидаз пероксисом являются основной врожденной патологией, вызывая пероксисомные заболевания.

Причинами ожирения могут являться эндокринные нарушения: гипотиреоз; болезнь Иценко — Кушинга; синдром Фрелиха; синдром Лоренса — Муна — Бидля; опухоли в коре надпочечников; удаление яичников (гипоовариальное ожирение); климактерическое ожирение. Иногда ожирение связано с инсулиномой, в этом случае ожирение становится следствием рецидивов гипергликемии (рисунок 6.3).



Рисунок 6.3 — Схема эндокринного патогенеза ожирения [1]

5. Дислиппротеидемии.

Классификация по Фредриксону, биохимическая и клинико-диагностическая характеристика основных групп

Дислиппротеинемии — патологические состояния, связанные с отклонением от нормы содержания, структуры и соотношения в крови различных липопротеидов (ЛП). Нарушения метаболизма ЛП — главная причина патогенеза атеросклероза, ишемической болезни сердца и других заболеваний. На клинические проявления дислиппротеинемий оказывают влияние такие факторы, как наследственность, наличие сопутствующих заболеваний, образ жизни.

Дислиппротеинемии классифицируются в зависимости от того, уровень каких липопротеидов выходит за пределы нормы. Согласно классификации Д. Фредриксона (1967), выделяют 5 фенотипов дислиппротеинемий (таблица 6.1).

Таблица 6.1 — Дислиппротеинемии [2]

Тип и название дислиппротеинемии	Генетический дефект	Изменения липидного обмена
Тип I (наследственная недостаточность ЛП-липазы)	Дефект структуры ЛП-липазы Дефект структуры АпоС-II	↑ в крови ХМ и ЛПОНП. Нет риска атеросклероза, гипертриглицеролемиа
Тип II (семейная гиперхолестеролемиа)	Дефект рецепторов ЛПНП или мутации гена апо В-100	↑ концентрации ЛПНП, гиперхолестеролемиа, ранний атеросклероз, ксантомадоз
Тип III (семейная комбинированная гиперлипидемиа, нарушение удаления остаточных липопротеинов из крови)	Дефект в структуре апо Е, синтез изоформы апо Е2, которая не взаимодействует с рецепторами	↑ концентрации остаточных ХМ, ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП Гиперхолестеролемиа, гипертриглицеролемиа, ранний атеросклероз, ксантомадоз
Типы IV и V (семейная гипертриглицеролемиа)	Генетически гетерогенная группа заболеваний. Избыточная продукция ЛПОНП как результат гиперинсулинемии	↑ концентрации ЛПОНП, ЛПНП, гипертриглицеролемиа, умеренная гиперхолестеролемиа Атеросклероз, снижение толерантности к глюкозе, ксантомадоз

Однако классификация Фредриксона не разделяет первичные, вторичные и редкие типы дислиппротеинемий, не учитывает уровень ЛПВП и генетические дефекты, лежащие в основе многих нарушений липидного обмена. Но, тем не менее, остается самой распространенной классификацией дислиппротеинемий.

6. Липидозы — наследственные нарушения липидного обмена

Липидозы — группа заболеваний, характеризующихся наследственными нарушениями липидного обмена, при которых нарушается нормальный катаболизм липидов до соответствующих мономеров. К ним относятся преимущественно сфинголипидозы, ганглиозидозы, муколипидозы, аденолейкодистрофии, лейкодистрофии, липофусцинозы, цереброзидозы. Липидозы относятся к болезням накопления.

Болезнь Гоше — отложение цереброзидов в макрофагальных клетках селезенки, печени, лимфатических узлов и костного мозга. Заболевание, описанное Ф. Гоше, является системным, относится к группе врожденных и имеет несколько клинических вариантов, отличающихся степенью вовлечения ЦНС. Болезнь Гоше одинаково

часто встречается у мужчин и женщин (в среднем 1/75 тыс.), отмечается во всех этнических группах и в любом возрасте. В основе патогенеза болезни Гоше лежит первичный дефицит лизосомного фермента кислой β -глюкозидазы, который ведет к накоплению неразрушенного субстрата глюкозилцерамида в органах, содержащих большое количество клеток, относящихся к макрофагам. Дефицит кислой β -глюкозидазы не является абсолютным, у каждого пациента с болезнью Гоше, независимо от тяжести течения, имеется свой уровень дефицита и остаточная активность фермента во всех ядерных клетках. Если же фермент отсутствует вообще, отмечается неблагоприятный исход во время беременности или в периоде новорожденности. Нарушения функции β -глюкозидазы обусловлено более чем 300 мутациями в гене GBA1, приводящими к продукции кислой β -глюкозидазы с измененными функциями.

Выделяют три типа болезни в зависимости от степени вовлечения ЦНС: ненейропатическая (висцеральная) форма, острая нейропатическая и подострая нейропатическая. Манифестация болезни чрезвычайно разнообразна и зависит от степени вовлечения различных органов, но не связана непосредственно с самой мутацией. При всех типах болезни Гоше обязательным компонентом считаются висцеральные поражения, отсюда самыми частыми симптомами являются гепатомегалия, спленомегалия, анемия, тромбоцитопения, остеопатии. Дополнительно вовлекаются в процесс развития болезни легкие, но без яркой манифестации.

Болезнь Ниманна — Пика описана в конце 1920 г. благодаря работам Albert Niemann and Ludwig Pick. Это гетерогенная группа аутосомно-рецессивных нарушений, проявляющихся накоплением липидов, общими клиническими признаками которых являются гепатоспленомегалия и отложение сфингомиелина в ретикуло-эндотелиальных и паренхиматозных тканях, с вовлечением или без вовлечения ЦНС. В основе болезни лежит дефицит кислой сфингомиелиназы, ведущий к патологическому накоплению сфингомиелина в печени, селезенке, легких. Причиной дефицита кислой сфингомиелиназы являются мутации гена SMPD1.

В 1958 г. Stoecker предложил классификацию болезни Ниманна — Пика. Тип А характеризуется тяжелым ранним поражением ЦНС и массивными висцеральными и церебральными отложениями сфингомиелина. Тип В имеет хроническое течение с поражением висцеральных органов, но без явного вовлечения ЦНС; тип С отличается подострым вовлечением ЦНС с медленным или средним прогрессированием, умеренными висцеральными отложениями. Наиболее изучены два варианта течения: тип А и В. Промежуточный фенотип, названный тип А/В, может включать неврологические нарушения, умеренную задержку интеллектуального развития, изменения на глазном дне по типу «вишневой косточки» и висцеральные нарушения, характерные для типа В [10].

Лечение болезни Нимана — Пика симптоматическое. Профилактика заключается в проведении медико-генетического консультирования.

Болезнь Тея — Сакса. Это заболевание было описано независимо друг от друга британским офтальмологом У. Теем (1881 г.) и американским неврологом Б. Саксом (1887 г.). У. Тей впервые выявил у пациентов с данным заболеванием вишнево-красное макулярное пятно, которое на сегодняшний день является одним из главных диагностических признаков заболевания. Б. Сакс описал неврологические проявления болезни.

Заболевание передается по аутосомно-рецессивному типу наследования, вызывается мутацией в гене HEXA, расположенном на длинном плече 15-й хромосомы, состоящем из 14 экзонов, кодирующем синтез α -субъединицы гексозаминидазы А. В настоящее время известно более 120 различных мутаций этого гена — как делеций, так и миссенс- и нонсенс-мутаций.

Болезнь Тея — Сакса классифицируют в зависимости от возраста манифестации заболевания и возраста смерти. Форма заболевания отражает вариант мутации.

Детская форма болезни Тея — Сакса возникает, когда ребенок унаследовал от обоих родителей одинаково мутировавшие копии гена, при этом полностью нарушается процесс расщепления ганглиозидов. Дети на протяжении первых шести месяцев после рождения развиваются нормально, но после того, как нервные клетки накапливают ганглиозиды и растягиваются, наблюдается непрерывное ухудшение умственных и физических способностей ребенка. Он становится слепым, глухим, не может глотать. Характерным является появление вишневых пятен на сетчатке. Мышцы начинают атрофироваться, вследствие чего наступает паралич. Смерть обычно наступает до 4 лет.

Подростковая форма болезни Тея — Сакса встречается крайне редко, проявляет себя в возрасте от 2 до 10 лет. У детей развиваются когнитивно-моторные проблемы, проблемы с речью (дизартрия), глотанием (дисфагия), шаткость походки (атаксия). Смерть наступает в возрасте 5–15 лет.

Взрослая (поздняя) форма болезни Тея — Сакса: редкая форма, возникающая в возрасте 20–30 лет, как правило, не имеет летального исхода. Возникает при наследовании различных мутаций в гене HEXA. Характерным для этой формы является нарушение походки (неуклюжесть) и прогрессирующее ухудшение неврологических функций, перепады настроения.

В отличие от других лизосомальных болезней накопления, гепатоспленомегалия не является характерным для болезни Тея — Сакса симптомом, эффективного лечения болезни на сегодняшний день нет [10].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Литвицкий, П. Ф. Расстройства липидного обмена / П. Ф. Литвицкий // Вопросы современной педиатрии. — 2012. — Т. 11, № 6. — С. 48–62.
2. Северин, Е. С. Биохимия: учебник / под ред. Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 768 с.
3. Биохимия [Электронный ресурс]: учебник / под ред. Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 768 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970437629.html>. — Дата доступа: 28.08.2020.
4. Kershaw, E. E. Adipose tissue as an endocrine organ / E. E. Kershaw, J. S. Flier // Clin. Endocrinol. Metab. — 2004 Jun. — Vol. 89, № 6. — P. 2548–2555.
5. Wu, J. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown / J. Wu, P. Cohen, B. M. Spiegelman // Genes Dev. — 2013. — Vol. 27. — P. 234–250.
6. Cohen, P. Brown and beige fat: molecular parts of a thermogenic machine / P. Cohen, B. M. Spiegelman // Diabetes. — 2015. — Vol. 64. — P. 2346–2337.
7. Erickson, H. P. Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor? / H. P. Erickson // Adipocyte. — 2013. — Vol. 2, № 4. — P. 289–293.
8. Irisin Stimulates Browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling / Y. Zhang [et al.] // Diabetes. — 2014. — Vol. 63, № 2. — P. 514–525.
9. Метаболические особенности и терапевтический потенциал бурой и «бежевой» жировой ткани / Е. О. Кокшарова [и др.] // Сахарный диабет. — 2014. — № 4. — С. 5–15.
10. Лизосомные болезни накопления липидов у детей. Современные способы диагностики и лечения / И. Н. Захарова [и др.] // Медицинский совет. — 2016. — № 1. — С. 128–135.

Занятие № 7

БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ.

ОСНОВЫ НУТРИЦИОЛОГИИ

Цель занятия: сформировать представление о биохимических принципах и аспектах рационального питания человека для сохранения его здоровья. Формировать умения оперировать полученными знаниями в профессиональной деятельности и в повседневной жизни.

Требования к исходному уровню знаний

1. Принципы преобразования и передачи энергии в живых системах. Понятия: анаболизм, катаболизм, метаболизм.
2. Катаболизм и анаболизм белков, углеводов и липидов.
3. Гипоталамические регуляторы пищевого поведения.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Энергетические потребности организма человека (основной расход, термогенный эффект, физическая активность, температура окружающей среды).
2. Принципы рационального питания. Макро- и микронутриенты. Калорийность.
3. Пищевое поведение и гормоны, его регулирующие.
4. Взаимодействие гормонов, влияющих на аппетит. Центральные и периферические механизмы регуляции аппетита.
5. Обмен веществ и энергии в абсорбтивный и постабсорбтивный периоды, при голодании, а также различных видах физической активности.

1. Энергетические потребности организма человека (основной расход, термогенный эффект, физическая активность, температура окружающей среды)

Важнейшая биологическая роль пищевых продуктов заключается в обеспечении организма необходимой энергией. Организм млекопитающих должен получать столько питательных веществ, чтобы их свободная энергия обеспечила суточную потребность в макроэргических фосфатах, которые необходимы для осуществления всех функций организма. Энергия — это способность выполнять работу — физическую (механическую) или химическую. Питательные вещества поступают в виде углеводов, жиров и белков в соотношениях, широко варьирующих в разных группах населения. Алкоголь также может служить источником энергии. Энергия пищи количественно выражается ее калорийностью.

В условиях энергетического равновесия потребление энергии должно быть равно ее затратам. Постоянная масса тела в условиях неизменной потребности в энергии указывает на достаточное поступление ее с пищей.

Индивидуальный расход энергии зависит от нескольких факторов:

1. Основной обмен.
2. Термогенный эффект (пищевой термогенез).
3. Физическая активность.
4. Температура окружающей среды.

5. Затраты энергии на рост и образование тканей (у детей, беременных и кормящих грудью женщин).

Величина основного обмена (ВОО) — минимальное количество энергии, необходимое для поддержания собственного жизнеобеспечения организма (дыхание, кровообращение, выделительная функция, сохранение тонуса мускулатуры, деятельность нервной и эндокринной систем и т. д.) в состоянии покоя. ВОО зависит от массы тела, пола, возраста и некоторых других факторов. Он больше у мужчин, чем у женщин, повышен у маленьких детей и у лиц с лихорадкой и гипертиреозом и снижен при гипотиреозе и голодании. Самый интенсивный обмен у детей. В дальнейшем происходит его снижение на 7–10 % каждые 10 лет и к старости основной обмен достигает минимальных величин. Основной обмен является обобщенным показателем окислительно-восстановительных процессов, происходящих в организме. Наиболее активно обмен веществ протекает в мозговой ткани, мышцах и органах брюшной полости. В жировой ткани интенсивность обмена в 3 раза ниже, чем в остальной клеточной массе организма. У женщин процессы обмена протекают менее интенсивно, чем у мужчин, поскольку у них меньше развита мышечная ткань и больше жировая. Уровень основного обмена зависит от пищевого режима и от качества пищи человека. Продолжительное ограничение питания или избыточное потребление пищи существенно влияет на основной обмен. При чрезмерном и преимущественно белковом питании основной обмен повышается, а при углеводном, наоборот, понижается. Систематическая работа мышц вызывает значительное и стойкое увеличение основного обмена. Гиподинамия ведет к понижению основного обмена.

ВОО выражается в количестве килокалорий на 1 кг массы тела в час (ккал/кг/ч) или в общем количестве энергии в сутки для индивидуума (ккал/сут).

Исследования энергетических затрат организма широко используют в физиологии труда, спортивной медицине и клинике. Интенсивность обмена увеличивается пропорционально нагрузке, поэтому важно знать, сколько энергии тратит организм для выполнения той

или иной работы. Определение величины основного обмена имеет большое значение в диагностике некоторых заболеваний. Изменения ВОО наблюдаются при различных видах эндокринной патологии, сахарном диабете, при различных интоксикациях, инфекционно-лихорадочных заболеваниях. Повышение ВОО характерно для поздних стадий развития злокачественных опухолей и особенно лейкозов.

Определение основного обмена по формулам дает только приблизительные результаты, но при ряде заболеваний они достаточно достоверны и поэтому могут применяться в клинике.

Термогенный эффект (специфическое динамическое действие) пищи. Он составляет примерно 5–10 % общей затраты энергии и связан с дополнительным расходом энергии на пищеварение и со стимуляцией метаболизма благодаря притоку нового субстрата.

Физическая активность — фактор, обуславливающий наибольшее и сильно варьирующее расходование энергии; диапазон колебаний энергозатрат между состоянием покоя и максимальной физической активности у спортсменов может достигать 10-кратной величины.

Температура окружающей среды. У животных, обладающих бурным жиром, повышенный расход энергии при низкой температуре обеспечивается теплопродукцией за счет дрожания и других механизмов. При температуре среды, превышающей температуру тела, избыточная энергия тратится на охлаждение организма.

2. Принципы рационального питания.

Макро- и микронутриенты. Калорийность

Нутрициология (от лат. nutritio — питание и греч. logos — учение) — это наука о пище и питании, продуктах питания, пищевых веществах и других компонентах, содержащихся в этих продуктах, об их действии и взаимодействии, их потреблении, усвоении, расходе и выведении из организма, их роли в поддержании здоровья или возникновении заболеваний.

Современная нутрициология состоит из двух больших и взаимосвязанных разделов: общая нутрициология и частная нутрициология.

Общая нутрициология включает общие сведения о питании, пище и пищевых веществах, основных, эссенциальных и заменимых компонентах пищи; рассматривает сведения о содержании пищевых веществ в отдельных продуктах питания. Сюда же относятся сведения о белковом, жировом, углеводном и других видах обмена веществ.

Частная нутрициология имеет отношение к практической стороне проблемы питания. Здесь рассматриваются вопросы нутриентной обеспеченности различных групп населения и общества в целом, применение продуктов питания в профилактических и

лечебных целях, а также другие прикладные вопросы науки о питании.

Непосредственное отношение к нутрициологии имеют процессы нарушения здоровья под влиянием неполноценного питания и, наоборот, профилактическое и лечебное воздействие на организм человека здоровой пищи и правильного образа жизни. Диетология — это часть нутрициологии. В круг интересов нутрициологии также входит пищевое поведение человека, выбор пищи, обработка и хранение пищевых продуктов, вопросы пищевого законодательства (Постановление Совета Министров Республики Беларусь 15.12.17 г. № 962).

Пищевые вещества, или нутриенты (от лат. nutritio — питание) — это органические и неорганические вещества, входящие в состав продуктов. Пищевые вещества делятся на макро- и микронутриенты.

Макронутриенты (от греч. macros — большой и лат. nutritio — питание) — это пищевые вещества, нужные организму в больших количествах (измеряемых десятками граммов ежедневно). Сюда относятся белки, жиры, углеводы, а также вода и пищевые волокна (не являются собственно пищевыми веществами, но активно способствуют пищеварению).

Микронутриенты (от греч. micros — малый и nutritio — питание) — это пищевые вещества, нужные организму в малых количествах. Суточная потребность в этих веществах часто измеряется долями граммов (миллиграммами и микрограммами). Микронутриенты представлены витаминами и минеральными веществами.

Рациональное питание — полноценное питание здоровых людей, которое является разнообразным и сбалансированным по всем параметрам.

Принципы рационального питания:

1. Калорийность пищи должна обеспечивать энергетические затраты организма, которые зависят от возраста, пола, типа физической и умственной активности (для студентов 2200–3000 ккал/сутки).

2. Рациональное соотношение белков, жиров и углеводов, которое для усредненного человека составляет 1:1,5:4. Большую часть пищи составляют углеводы, в основном растительного происхождения. Обычный суточный рацион содержит 400–500 г углеводов, из которых 60–80 составляют полисахариды (в основном, крахмал), в меньшем количестве — гликоген и пищевые волокна — клетчатка), 20–30 % олигосахариды (сахароза, лактоза, мальтоза), остальное количество — моносахариды (глюкоза, фруктоза и пентозы). Приблизительно в равных соотношениях среди пищевых жиров (100 г/сут) должны присутствовать насыщенные мононенасыщенные и полиненасыщенные

жирные кислоты. Норма белка в питании от 80 до 100 г/сут и она должна обеспечиваться белками как растительного происхождения, так и животного.

3. Наличие в пище незаменимых компонентов, многие из которых присутствуют в минимальных количествах: незаменимые АМК, незаменимые ЖК (линолевая, линоленовая, арахидоновая), витамины, микроэлементы, клетчатка, ароматические компоненты, эфирные масла, вода.

4. Режим приема пищи, который включает кратность приема и распределение дневного рациона утро-обед-вечер.

5. Соответствие пищевого рациона физиологическому (или патологическому) статусу организма (ограничение углеводов при СД, белков — при патологии почек, липидов — при атеросклерозе).

6. Пища должна быть подвергнута кулинарной обработке для улучшения органолептических свойств и обеспечения безопасности для организма.

Калорийность — это энергетическая ценность пищевых продуктов, то есть количество энергии, содержащееся в пищевых веществах и полученное человеком с пищей. Выражается калорийность в килокалориях (ккал) или килоджоулях (кДж) на 100 г продукта. Один килокалорий представляет такое количество тепла, которое необходимо для нагревания 1 л воды на 1 °С с 15 до 16 °С, 1 ккал = 4,18 кДж. Энергетическая ценность для углеводов — 4 ккал/г, для белков — 4 ккал/г, для жиров — 9 ккал/г, для этанола — 7 ккал/г.

Эффективность использования энергии пищи для осуществления физиологических функций и биохимических процессов составляет лишь 20–25 %, а 75–80 % энергии выделяется и рассеивается в виде тепла, поддерживающего постоянную температуру тела.

Энергетическая ценность пищи должна соответствовать энергетическим затратам организма [1–2].

3. Пищевое поведение и гормоны, его регулирующие

Пищевое поведение — это все компоненты поведения человека, которые присутствуют в нормальном процессе приема пищи. Чаще всего при нарушении соотношения гормонов голода и насыщения формируется атипичное пищевое поведение. В настоящее время известно более 20 гастроинтестинальных гормонов и биологически активных веществ, отвечающих за поддержание метаболического и энергетического баланса организма. К наиболее важным гормонам относят: грелин, лептин, холецистокинин, нейропептид Y и др. (таблица 7.1). Перечень гастроинтестинальных гормонов непрерывно пополняется.

Таблица 7.1 — Регуляторы пищевого поведения

Орексигенный эффект	Анорексигенный эффект
Норадреналин-L2	Норадреналин-L1, β 2-рецепторы
Нейропептид Y	Серотонин
β -эндорфин	Холецистокинин
Соматолиберин	Меланостимулирующий гормон
Галанин	Кортиколиберин
Грелин	Лептин
Соматостатин	Энтеростатин
	Глюкагон
	Тиреолиберин
	Вазопрессин
	Бомбезин
	Адипонектин

Грелин («ghre» — расти, in «relin»=«release» — высвободить) — пептидный гормон, состоящий из 28 АМК остатков, открыт в 1999 г. японскими учеными. Гормон секретируется преимущественно париентальными клетками желудка. В небольших концентрация гормон также вырабатывается в гипоталамусе, гипофизе, легких, кишечнике, поджелудочной железе, яичках, плаценте, почках. Он способен преодолевать гематоэнцефалический барьер, воздействуя на гипоталамус. Оказавшись в кровотоке, грелин имеет период полужизни, составляющий примерно 30 минут. Суточные ритмы секреции грелина до конца не изучены. Плазменная концентрация грелина возрастает в первые часы сна, что коррелирует с пиками секреции гормона роста. Эффект грелина опосредуется через рецептор, стимулирующий секрецию гормона роста. Рецептор грелина относится к типу G-белок-сопряженных мембранных рецепторов. Как и все рецепторы этого класса, он состоит из семи трансмембранных доменов.

Грелин — гормон, вызывающий чувство голода, участвующий в адаптивном ответе организма на потерю веса (пустой желудок → вырабатывается грелин → мозг получает сигнал голода). Во время воздержания от еды уровень этого биологически активного вещества в крови начинает повышаться и падает сразу после приема пищи. Повышенный уровень грелина в организме вызывает активацию ферментов, отвечающих за отложение жировых запасов, и уменьшает потребление уже имеющихся жировых отложений. Концентрация грелина снижается при ожирении и, напротив, увеличивается при кахексии. Мутации гена грелина в зависимости от вариантов могут,

как способствовать ранней прибавке массы тела, так и оказывать протективное по отношению к ожирению действие [3–4].

Лептин (греч. «leptos» — стройный) — первые сведения об этом гормоне появились в 1995 г. Лептин — пептид, состоящий из аминокислотных остатков, продуцируется адипоцитами подкожной жировой клетчатки, а также синтезируется в плаценте и желудке и, возможно, в центральной нервной системе. Основная роль лептина — обеспечение афферентной сигнализации в ЦНС о количестве жировой ткани. Лептин играет ведущую роль в коррекции энергетического баланса организма, принимая участие в снижении веса тела и регуляции аппетита, ингибируя по механизму отрицательной обратной связи синтез гипоталамического нейропептида Y, продуцируемого нейронами дугообразного ядра, что приводит к повышению тонуса симпатической нервной системы и расходу энергии, а также изменению обмена веществ в периферических органах и тканях (рисунок 7.1).

ЛЕПТИН - ГОРМОН ГОЛОДА И ЕГО РОЛЬ В ПОХУДЕНИИ

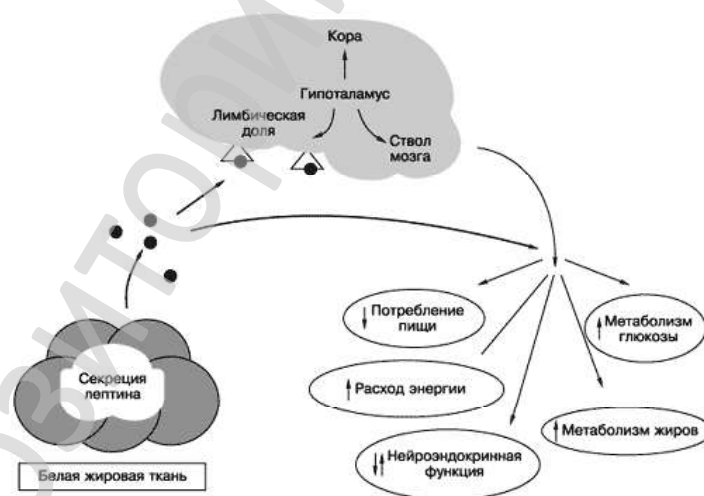


Рисунок 7.1 — Метаболические эффекты лептина

Уровень лептина зависит от количества жировой ткани в организме, от пола, возраста, состояния развития организма как в норме, так и при патологии. При ожирении уровень плазменного

лептина значительно повышается, причем у женщин гораздо выше, чем у мужчин. Сравнительно низкое содержание лептина у мужчин коррелирует с циркуляцией в крови тестостерона, в то время как эстрогены осуществляют стимуляцию продукции лептина у женщин. Парадоксально, но ожирение у человека связано в первую очередь не с недостатком лептина, а с устойчивостью к нему (лептинорезистентность — нарушение проникновения лептина через ГЭБ и (или) аномалия в структуре белка-носителя лептина; и (или) аномалия гипоталамических рецепторов, чувствительных к лептину).

Уровень лептина в плазме крови колеблется в зависимости от времени суток, его концентрация в ночное время примерно на 20–30 % ниже, по сравнению с дневным временем.

Биологическое действие лептина осуществляется в результате его взаимодействия с рецепторами, находящимися в гипоталамусе. Рецептор к лептину ob-R (с англ. obesity — ожирение) представлен в виде 6 изоформ, различающихся длиной цитоплазматического домена, необходимого для осуществления сигнальной трансдукции. Гипоталамус — основное место экспрессии лептинового рецептора в ЦНС. Кроме гипоталамуса, рецепторы к лептину находятся в разных тканях организма: плацента, печень, легкие, β -клетки поджелудочной железы, эндотелий сосудов, мышцы, рецепторы вкуса, сердце и др. Вследствие этого лептин способен оказывать влияние на метаболизм периферических тканей [5–6].

Холецистокинин — полипептид, образующийся в клетках 12-перстной кишки, а также, но в меньших количествах, в тощей и подвздошной кишке. Этот гормон регулирует потребление пищи человеком, выделяется после еды в тонком кишечнике и подавляет чувство голода, воздействуя на специфические рецепторы. Если грелин играет роль в долгосрочной регуляции веса тела, то холецистокинин является ключевым гормоном, обеспечивающим краткосрочную регуляцию веса тела [7].

Нейропептид YY (PYY) — гормон, вырабатывается в кишечнике по всей длине, однако в дистальных отделах он синтезируется в значительно больших количествах. Он выделяется после еды, а при голодании уровень гормона падает. Этот пептид уменьшает чувство голода и количество потребляемой пищи. У людей, страдающих ожирением, в отличие от лептина сохраняется чувствительность к подавляющему действию нейропептида YY, что может оказаться полезным при создании лекарственных препаратов от ожирения.

Гипоталамический **нейропептид Y (NPY)** — 36-аминокислотный нейропептид, являющийся мощным стимулятором пищевой активности (рисунок 7.2). Лептин подавляет синтез или секрецию нейропептида Y. Серотонин, возможно, играет роль связующего зве-

на между секрецией лептина и подавлением секреции нейропептида Y. Избыточная секреция нейропептида Y в ядре воронки — одна из возможных причин гипоталамического ожирения. Нейропептид Y усиливает потребление пищи, так как вызывает чувство голода, действуя на гипоталамические центры насыщения и голода. Кроме того, нейропептид Y понижает симпатический и повышает парасимпатический тонус, оказывая стимулирующее действие на синтез и секрецию пищеварительных соков и ферментов, а также усиливает моторику гладкомышечных клеток ЖКТ. Таким образом через активацию гормонов коры надпочечников нейропептид Y подготавливает организм к стрессу, которым и будет являться голод и необходимость поиска пищи [8–9].



Рисунок 7.2 — Общая характеристика нейропептида Y

4. Взаимодействие гормонов, влияющих на аппетит. Центральные и периферические механизмы регуляции аппетита

Первые представления о роли гипоталамуса как важнейшего координатора энергетического обмена были сформулированы после проведения ряда экспериментальных работ в начале 40-х гг. XX вв. Электролитическое разрушение латеральной гипоталамической области у грызунов сопровождалось анорексией и снижением массы тела, в то время как повреждение вентромедиальных ядер гипоталамуса приводило к ожирению. На основании этих наблюдений была сформулирована концепция, согласно которой латеральная гипоталамическая область и вентромедиальные ядра гипоталамуса являются, соответственно, центрами голода и насыщения. Широкомасштабные фундаментальные исследования, направленные на

уточнение функциональных особенностей различных гипоталамических ядер, возобновились после открытия в 1982 г. одного из медиаторов энергообмена нейропептида Y.

Ядра гипоталамуса содержат включения нейронов, наделенных строго определенными функциями. Наличие нейрональных взаимосвязей между отдельными ядрами, а также проекций нервных волокон в другие регионы мозга позволяет гипоталамусу интегрировать информацию, исходящую из мозговых структур, периферического кровотока и желудочно-кишечного тракта, обеспечивать баланс между потреблением и расходом энергии. Дугообразные (аркуатные) ядра, которым принадлежит приоритетная роль в интеграции сигналов, регулирующих аппетит, располагаются в области основания гипоталамуса, охватывая дно и нижние отделы стенок третьего желудочка. Привилегированность локализации определяется соседством с полупроницаемыми капиллярами срединного венозного синуса, что создает идеальные условия для восприятия и преобразования гормональных сигналов. Тела нейронов дугообразных ядер экспрессируют рецепторы ко многим гормонам и нейромедиаторам, участвующим в регуляции аппетита. Дугообразные ядра содержат два дискретных пула нейронов. Один пул нейронов продуцирует нейропептид Y (NPY) и агути-подобный белок (AGRP, АПБ), другой пул клеток — проопиомеланокортин (ПОМК, ПОМК) и кокаин-амфетамин-регулируемый транскрипт (CART, КАРТ) — это медиаторы биологического действия лептина, биосинтез которых в нейронах регулируется лептином. Учитывая, что именно эти группы клеток в первую очередь получают и преобразовывают поступающую с периферии информацию о состоянии энергетического баланса, их относят к нейронам первого порядка.

В аркуатных ядрах гипоталамуса потребление топлива контролируют два типа нейронов: орексигенные стимулируют аппетит путем производства и освобождения NPY; анорексигенные (подавляющие аппетит) нейроны дуговидных ядер гипоталамуса производят α -меланоцитстимулирующий гормон (α -МСГ), который получается при процессинге предшественника ПОМК (рисунок 7.3). При высвобождении α -МСГ следующий нейрон в цикле посылает сигнал в мозг о насыщении (о снижении потребления пищи и усилении метаболизма).

Лептин и инсулин действуют на анорексигенные нейросекреторные клетки, инициируя выделение α -МСГ, а также на орексигенные нейросекреторные клетки, ингибируя высвобождение NPY. Грелин стимулирует аппетит, активируя экспрессирующие NPY клетки, а PYY ингибирует эти нейроны и таким образом снижает аппетит. Установлено, что грелин способен блокировать действие лептина.

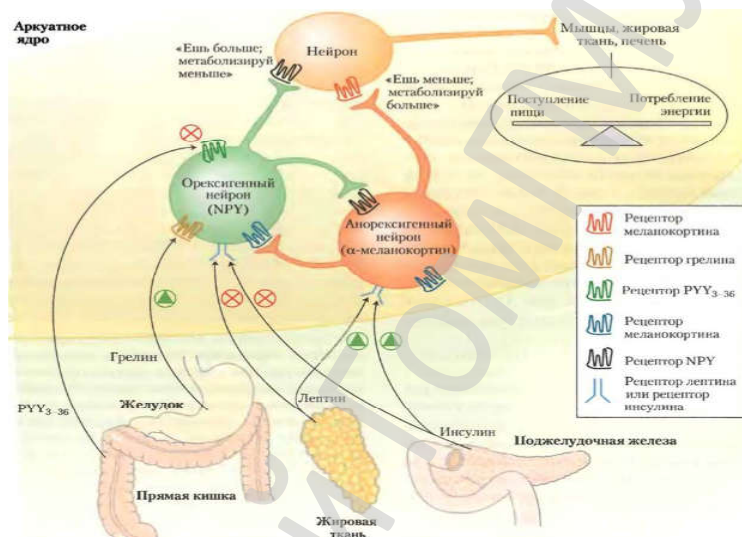


Рисунок 7.3 — Гормоны, контролирующие пищевое поведение [9]

Лептин — гормон цитокинового типа, секретируемый, главным образом, адипоцитами. В норме он снижает аппетит, воздействуя на гипоталамус и подавляя экспрессию нейропептида Y. При голодании уровень лептина быстро снижается, что ведет к уменьшению энергозатрат, усилению чувства голода. Еще одним эффектом лептина является его воздействие на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему. Лептин блокирует активацию данной системы (во время голодания этот блок исчезает) за счет снижения его содержания в крови и повышает секрецию глюкокортикоидных гормонов, в частности кортизола у человека. Глюкокортикоиды активируют ГНГ в печени, что необходимо для обеспечения глюкозой головного мозга в условиях ее ограниченного поступления в организм. В ряде исследований показано, что снижение содержания лептина в крови при голодании сопровождается также снижением содержания тироксина (регулятор скорости основного обмена). На более поздних стадиях голодания могут проявляться отрицательные эффекты гипотиреоза.

Ранее инсулин рассматривался как гормон, отвечающий только за углеводный обмен, тем не менее, по мере накопления знаний о регуляции энергообмена, расширялись представления и об эффектах инсулина. В настоящее время признается роль инсулина как одного из важнейших центральных регуляторов энергобаланса. Инсулин проходит через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) рецепторобуслов-

ленным процессом, в концентрации, пропорциональной циркулирующему на периферии уровню гормона. Проходя через ГЭБ, инсулин оказывает анорексигенные эффекты, вызывая уменьшение потребления пищи. Уменьшение количества рецепторов к инсулину в дугообразном ядре приводит к гиперфагии и увеличению жировой массы. Центральное введение инсулиномиметиков дозозависимо снижает аппетит, уменьшает вес, а также меняет экспрессию гипоталамических генов, контролирующих пищевое поведение и массу тела.

Рецептор инсулина состоит из двух субъединиц α -субъединицы и β -субъединицы и обладает тирозинкиназной активностью. Также выделяют 2 подтипа рецепторов к инсулину: А и В. Подтип А обладает большей аффинностью к инсулину и представлен по всему организму. Подтип В имеет меньшую аффинность и экспрессирован в типичных инсулинзависимых тканях: печеночной, жировой и мышечной. Рецепторы к инсулину широко представлены в головном мозге, особенно в гипоталамических ядрах, контролирующих энергобаланс (аркуатном, дорсомедиальных, паравентрикулярных ядрах, надхиазмальной и перивентрикулярной областями). Как в периферических тканях, так и в ЦНС связывание инсулина со своим рецептором приводит к фосфорилированию его субстратов — СИР-1 и СИР-2 с последующей активацией фосфатидилинозитол-3-киназы (ФИЗ-киназы). Было показано, что мыши без СИР-1 не отличались по пищевому поведению от мышей контрольной группы, тогда как мыши без СИР-2 демонстрировали повышенный аппетит, увеличение жировой ткани и бесплодие. Лептин, как и инсулин, может оказывать свои эффекты через взаимодействие с комплексом СИР-ФИЗ-киназа (рисунок 7.4).

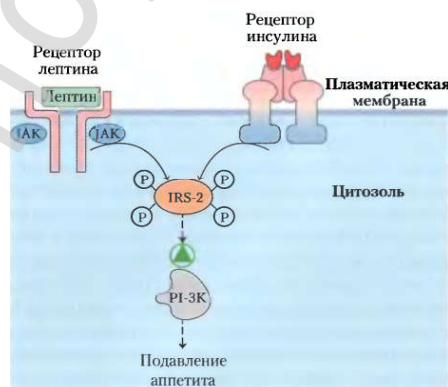


Рисунок 7.4 — Схема возможного механизма взаимодействия между рецепторами инсулина и лептина [9].

JAK — янус-киназы; **IRS-2** — субстрат инсулинового рецептора-2; **PI-3K** — фосфатидилинозитол-3-киназа

Рецепторы к инсулину присутствуют на нейронах ПОМК аркуатных ядер гипоталамуса, при введении инсулина в третий желудочек повышается экспрессия мРНК ПОМК. Меланокортиновая система является медиатором центральных эффектов инсулина. Анорексигенные эффекты инсулина блокируются при введении антагонистов меланокортина. Более того, экспериментально показано на крысах, что экспрессия ПОМК снижена у животных с диабетом и способна восстанавливаться при периферическом введении инсулина. Хорошо известно, что увеличение массы тела приводит к пропорциональному повышению концентрации уровня инсулина в крови [9].

5. Обмен веществ и энергии в абсорбтивный и постабсорбтивный периоды, при голодании, а также различных видах физической активности

Использование основных энергоносителей в абсорбтивный период [10]. Абсорбтивный период характеризуется временным повышением концентрации глюкозы, аминокислот и жиров в плазме крови. Клетки поджелудочной железы отвечают на это повышение усилением секреции инсулина и снижением секреции глюкагона. Увеличение отношения инсулин/глюкагон вызывает ускорение использования метаболитов для запасаания энергоносителей: происходит синтез гликогена, жиров и белков. Режим запасаания включает себя после приема пищи и сменяется режимом мобилизации запасов после завершения пищеварения. Тип метаболитов, которые потребляются, депонируются и экспортируются, зависит от типа ткани. Главные органы, связанные с изменениями потока метаболитов при смене режимов мобилизации и запасаания энергоносителей, — печень, жировая ткань и мышцы.

Изменения метаболизма в печени в абсорбтивном периоде. После приема пищи печень становится главным потребителем глюкозы, поступающей из пищеварительного тракта.

При повышении концентрации глюкозы в гепатоцитах происходит активация глюкокиназы, превращающей глюкозу в глюкозо-6-фосфат. Глюкокиназа имеет высокое значение K_m для глюкозы, что обеспечивает высокую скорость фосфорилирования при высоких концентрациях глюкозы. Кроме того, глюкокиназа не ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Инсулин индуцирует синтез мРНК глюкокиназы. Повышение концентрации глюкозо-6-фосфата в гепатоцитах обуславливает ускорение синтеза гликогена. Этому способствуют одновременная инактивация гликогенфосфорилазы и активация гликогенсинтазы. Под влиянием инсулина в гепатоцитах ускоряется гликолиз в результате повышения активности и количества ключевых ферментов: глюкокиназы, фосфофруктокиназы и

пируваткиназы. В то же время происходит торможение глюконеогенеза в результате инактивации фруктозо-1,6-бисфосфатазы и снижения количества фосфоенолпируваткарбокскиназы — ключевых ферментов глюконеогенеза. Повышение концентрации глюкозо-6-фосфата в гепатоцитах в абсорбтивном периоде, сочетается с активным использованием NADPH для синтеза жирных кислот, что способствует стимуляции пентозофосфатного пути. Ускорение синтеза жирных кислот обеспечивается доступностью субстратов (ацетил-КоА и NADPH), образующихся при метаболизме глюкозы, а также активацией и индукцией ключевых ферментов синтеза жирных кислот. В абсорбтивном периоде в печени ускоряется синтез белков. Однако количество аминокислот, поступающих в печень из пищеварительного тракта, превышает возможности их использования для синтеза белков и других азотсодержащих соединений. Излишек аминокислот либо поступает в кровь и транспортируется в другие ткани, либо дезаминируется с последующим включением безазотистых остатков в общий путь катаболизма.

Изменения метаболизма в адипоцитах. Основная функция жировой ткани — запасание энергоносителей в форме триацилглицеролов. Под влиянием инсулина ускоряется транспорт глюкозы в адипоциты. Повышение внутриклеточной концентрации глюкозы и активация ключевых ферментов гликолиза обеспечивают образование ацетил-КоА и глицерол-3-фосфата, необходимых для синтеза ТАГ. Стимуляция пентозофосфатного пути обеспечивает образование NADPH, необходимого для синтеза жирных кислот. Однако биосинтез жирных кислот *de novo* в жировой ткани человека протекает с высокой скоростью только после предшествующего голодания. При нормальном ритме питания для синтеза ТАГ используются в основном жирные кислоты, поступающие из ХМ и ЛПОНП под действием ЛП-липазы. Вместе с тем при увеличении отношения инсулин/глюкагон гормончувствительная ТАГ-липаза находится в дефосфорилированной неактивной форме, и процесс липолиза тормозится.

Изменение метаболизма в мышцах в абсорбтивном периоде. В абсорбтивном периоде под влиянием инсулина ускоряется транспорт глюкозы в клетки мышечной ткани. Глюкоза фосфорилируется и окисляется для обеспечения клетки энергией, а также используется для синтеза гликогена. Жирные кислоты, поступающие из ХМ и ЛПОНП, в этот период играют незначительную роль в энергетическом обмене мышц. Поток аминокислот в мышцы и биосинтез белков также увеличиваются под влиянием инсулина, особенно после приема белковой пищи.

Использование основных энергоносителей в постабсорбтивный период [10]. Постабсорбтивным состоянием называют период после завершения пищеварения до следующего приема пищи.

Если пища не принимается в течение суток и более, то это состояние определяют как голодание. В начале постабсорбтивного периода концентрация глюкозы в крови снижается, вследствие чего снижается секреция инсулина и повышается концентрация глюкагона. При снижении индекса инсулин/глюкагон ускоряются процессы мобилизации депонированных энергоносителей.

В постабсорбтивном периоде изменения метаболизма направлены, главным образом, на поддержание уровня глюкозы в крови, которая служит основным энергетическим субстратом для мозга и единственным источником энергии для эритроцитов. Основные изменения метаболизма в этот период происходят в печени и жировой ткани.

Изменения метаболизма в печени. В печени ускоряется мобилизация гликогена, запасы которого истощаются в течение 18–24 ч голодания. Главным источником глюкозы по мере истощения запасов гликогена становится глюконеогенез, который начинает ускоряться через 4–6 ч после последнего приема пищи. Субстратами для синтеза глюкозы служат глицерол, аминокислоты и лактат. При высокой концентрации глюкагона скорость синтеза жирных кислот снижается вследствие фосфорилирования и инактивации ацетил-КоА-карбоксилазы, а скорость β -окисления возрастает. Вместе с тем увеличивается снабжение печени жирными кислотами, которые транспортируются из жировых депо. Ацетил-КоА, образующийся при окислении жирных кислот, используется в печени для синтеза кетонных тел.

Изменения метаболизма в жировой ткани. В жировой ткани при повышении концентрации глюкагона снижается скорость синтеза ТАГ и стимулируется липолиз (активация гормоночувствительной ТАГ-липазы адипоцитов под влиянием глюкагона). Жирные кислоты становятся важными источниками энергии в печени, мышцах и жировой ткани.

Изменение метаболизма при голодании [9, 10]. Голодание может быть кратковременным, в течение суток (I фаза), продолжаться в течение недели (II фаза) или нескольких недель (III фаза). В отсутствие пищи в крови снижается уровень глюкозы, аминокислот и триацилглицеролов. Инсулин/глюкагоновый индекс снижается, и повышается концентрация контринсулярных гормонов, в первую очередь кортизола. В этих условиях возникает состояние, для которого характерно преобладание процессов катаболизма жиров, гликогена и белков на фоне общего снижения скорости метаболизма. Под влиянием контринсулярных гормонов в этот период происходит обмен субстратами между печенью, жировой тканью, мышцами и мозгом. Этот обмен служит двум целям: 1) поддержанию концентрации глюкозы в крови для обеспечения глюкозозависимых тканей (мозга, эритроцитов); 2) мобилизации других источников энергии, в первую очередь жиров, для обеспечения энергией всех других тканей.

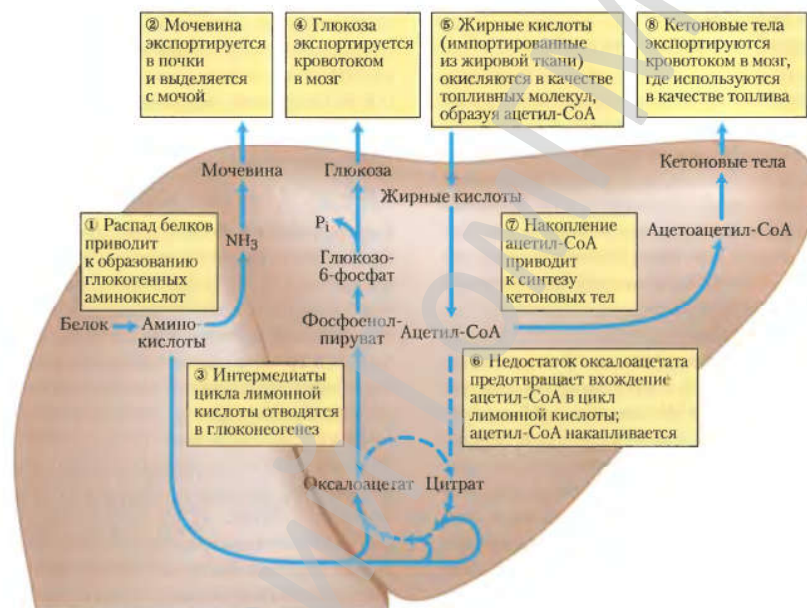


Рисунок 7.5 — Схема энергетического метаболизма при длительном голодании [9]

Первая фаза голодания:

1. Гормональный статус: мало инсулина, много глюкагона.
2. Углеводы: распад гликогена при участии глюкагона и освобождение глюкозы как источника энергии.

Вторая фаза голодания:

1. Гормональный статус: мало инсулина, много кортизола и глюкагона.
2. Углеводы: гликоген израсходован; главный источник глюкозы для обеспечения мозга и эритроцитов — ГНГ.
3. Липиды: начинается липолиз (глюкагон), освобождается глицерол и ЖК, которые после полного окисления дают АТФ; β -окисление ЖК (глюкагон) обеспечивает выход ацетил-КоА как предшественника кетоновых тел, являющихся источником энергии для мозга, мышц и других органов. Липиды частично заменяют глюкозу.
4. Белки: распад и освобождение АКК (кортизол) для синтеза эндогенной глюкозы (кортизол, глюкагон).
5. Отрицательный азотистый баланс.

Третья фаза голодания:

1. Продолжается доминирование кортизола и глюкогона.
2. Главные энергетические источники: для мозга — кетоновые тела, для мышц — жирные кислоты.
3. Распад белков и ГНГ из АМК замедляются в связи с истощением запаса белка в организме.
4. Выраженный отрицательный азотистый баланс.
5. Смерть голодающего человека наступает после катаболизма 30–50 % белков или при снижении концентрации глюкозы в крови до 20 мг/дл.

Особенности энергообеспечения мышц при физических нагрузках. Обе фазы мышечной деятельности – сокращение и расслабление — протекают при обязательном использовании энергии, которая выделяется при гидролизе АТФ [10–11]. Однако запасы аденозинтрифосфорной кислоты в мышечных клетках ограничены (в покое концентрации АТФ в мышцах около 5 ммоль/л) и их достаточно для мышечной работы в течение 1–2 с. Следовательно, для обеспечения более продолжительной мышечной работы в мышцах должно происходить пополнение запасов АТФ (ресинтез). Для количественной характеристики различных путей ресинтеза АТФ обычно используют следующие критерии (таблица 7.2):

1. *Максимальная мощность*, или *максимальная скорость* — это наибольшее количество АТФ, которое может образовываться в единицу времени за счет данного пути ресинтеза. Данный критерий имеет размерность ккал/мин × кг мышечной ткани или Дж/мин × кг мышечной ткани.

2. *Время развертывания* — минимальное время, необходимое для выхода ресинтеза АТФ на свою наибольшую скорость, т. е. для достижения максимальной мощности. Критерий измеряется в единицах времени (с, мин).

3. *Время сохранения максимальной мощности* — это наибольшее время функционирования данного пути ресинтеза АТФ с максимальной мощностью. Единицы измерения — с, мин, ч.

4. *Метаболическая емкость* — это общее количество АТФ, которое может образоваться во время мышечной работы за счет данного метаболического пути ресинтеза АТФ.

В зависимости от потребления кислорода пути ресинтеза делятся на аэробные (тканевое дыхание) и анаэробные (креатинфосфатный, гликолитический).

Для мышечных клеток характерно образование АТФ при помощи аденилаткиназной (миокиназной) реакции в условиях значительного накопления в них АДФ, что обычно наблюдается при наступлении утомления.

Таблица 7.2 — Количественные критерии основных путей ресинтеза АТФ [11]

Критерии	Пути ресинтеза		
	креатин-фосфатный	гликолитический	аэробный
Максимальная мощность, кал/мин × кг	900–1100	750–850	350–450
Время разворачивания	1–2 с	20–30 с	3–4 мин
Время сохранения максимальной мощности	8–10 с	2–3 мин	Десятки минут

При любом виде мышечной работы функционируют все пути ресинтеза АТФ, но включаются они последовательно (рисунок 7.6).

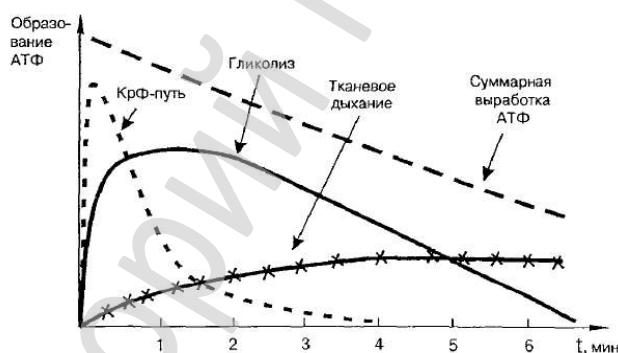


Рисунок 7.9 — Включение путей ресинтеза аденозинтрифосфата при выполнении физической работы [11]

В первые секунды работы ресинтез АТФ идет за счет креатин-фосфатной реакции, затем включается гликолиз и, наконец, по мере продолжения работы на смену гликолизу приходит тканевое дыхание [11–12].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мартинчик, А. Н. Общая нутрициология: учеб. пособие / А. Н. Мартинчик, И. В. Маев, О. О. Янушкевич. — М.: МЕДпресс-информ, 2005.— 392 с.
2. Жминченко, В. М. Современные тенденции исследований в нутрициологии и гигиене питания / В. М. Жминченко, М. М. Гаптаров // Вопросы питания. — 2015. — Т. 84, № 1. — С. 4-14.
3. Лобашова, В. Л. Грелин: синтез, структура, физиологическая роль в организме / В. Л. Лобашова, А. П. Шепелькевич // Медицинский журнал. — 2018. — № 1. — С. 16-22.
4. Ghrelin, a gastrointestinal hormone, regulate energy balance and lipid metabolism / Lv. You [et al.] // Bioscience Report. — 2018. — Vol. 38. — P. 1-13.
5. Münzberg, H. Structure, production and signaling of leptin / H. Münzberg, C. D. Morrison // Metabolism. — 2015. — Vol. 64 (1). — P. 13-23.
6. Izquierdo, A. G. Leptin, obesity, and leptin resistance: where are we 25 years later? / A. G. Izquierdo, A. B. Crujeiras, F. Felip // Nutrients. — 2019. — Vol. 11. — P. 1-11.
7. Dufresne, M. Cholecystokinin and gastrin receptors / M. Dufresne, C. Seva, D. Fourmy // Physiol. Rev. — 2006. — Vol. 86. — P. 805-847.
8. Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3-36): Secretory controls and physiological roles in eating and glycemia in health, obesity, and after RYGB / R. E. Steinert [et al.] // Physiol. Rev. — 2017. — Vol. 97 (1). — P. 411-463.
9. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кохс; пер. с англ. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. — Т.2: Биоэнергетика и метаболизм— 636 с.
10. Северин, Е. С. Биохимия: учебник / под ред. Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 768 с.
11. Михайлов, С. С. Биохимия двигательной деятельности: учебник / С. С. Михайлов. — 6-е изд., доп. — М.: Спорт, 2016. — 296 с.

Занятие № 8 ОСНОВЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОХИМИИ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИНКОРПОРИРОВАННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ. КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Цель занятия: сформировать представление о молекулярных механизмах действия ионизирующих излучений исходя из современных взглядов об активации перекисных процессов и нарушениях энергетического гомеостаза с концептуальным подходом к проблеме канцерогенеза.

Требования к исходному уровню знаний

Студент должен знать:

1. Понятие о мутациях и молекулярных механизмах мутагенеза.
2. Пути метаболизма углеводов, липидов, аминокислот, пуриновых и пиримидиновых оснований, гема в норме.

Учебные вопросы по теме занятия

1. Инкорпорированные радионуклиды. Органы-мишени радиационного повреждения.
2. Механизмы повреждающего действия основного дозообразующего радионуклида ^{137}Cs на органы и ткани.
3. Механизмы канцерогенеза (радиационный, химический, вирусный).
4. Факторы риска развития опухоли: возраст, наследственная предрасположенность, факторы окружающей среды.
5. Биохимия канцерогенеза. Особенности метаболизма злокачественных клеток.

1. Инкорпорированные радионуклиды.

Органы-мишени радиационного повреждения

В результате аварии на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС) 26 апреля 1986 г. в атмосферу было выброшено около 8000 ПБк смеси радионуклидов, в том числе, ^{131}I — 1200–1700 ПБк, ^{137}Cs — 74–85 ПБк. Выпадения основной массы радионуклидов (^{90}Sr и ^{239}Pu) зафиксированы в ближней 30-километровой зоне (зона радиусом 30 км вокруг реактора).

Площадь загрязнения на территории 5 областей Беларуси с плотностью выпадения ^{137}Cs составляет 46500 км². Для населения загрязненных районов определяющий вклад в дозы внутреннего об-

лучения дают ^{137}Cs и ^{131}I , выпавшие на поверхность земли. В первые месяцы после аварии самому сильному воздействию подверглась щитовидная железа за счет накопления короткоживущего радионуклида ^{131}I с периодом полураспада около 8 дней. В последующие годы дозы, полученные населением загрязненных территорий, формировались в основном за счет внешнего облучения от ^{134}Cs и ^{137}Cs , выпавших на поверхность земли, и внутреннего облучения за счет употребления загрязненных продуктов питания (в основном молоко и картофель). Наибольшее накопление радионуклидов отмечалось в лесных грибах и ягодах [1].

Радиочувствительность — это чувствительность биологических объектов к действию ионизирующего излучения. Чем сложнее организм, тем он чувствительнее: вирусы → амеба → черви → человек. На тканевом уровне выполняется правило Бергонье и Трибондо: радиочувствительность ткани прямо пропорциональна пролиферативной активности и обратно пропорциональна степени дифференцировки составляющих ее клеток. Следовательно, наиболее радиочувствительные в организме — это интенсивно делящиеся, быстро растущие и мало специализированные ткани (костный мозг, эпителий тонкого кишечника). Наименее радиочувствительные — специализированные и слабо обновляющиеся ткани (мышечная, нервная).

Внешнее облучение — влияние космических лучей, воздействие природных или искусственных излучателей.

Внутреннее (инкорпорированное) — излучение от радиоактивных веществ, попадающих внутрь человека с вдыхаемым воздухом, продуктами питания, водой.

Тропность радионуклидов — способность преимущественно накапливаться в тех или иных органах.

2. Механизмы повреждающего действия основного дозообразующего радионуклида (^{137}Cs) на органы и ткани

Основным дозообразующим радионуклидом в зонах периодического радиационного контроля (пострадавших от аварии на Чернобыльской АЭС региона) является ^{137}Cs , интенсивно накапливающийся в цитозольном и особенно в митохондриальном компартментах клетки. Цезий является аналогом калия и, следовательно, может осуществлять транспорт по K^+ каналам, равномерно распределяться в организме (преимущественно в мышечной ткани), депонироваться в клетках и митохондриях (создавать концентрационный градиент). Следовательно, для ^{137}Cs митохондрии являются внутриклеточными мишенями; возбудимые ткани (миокард, мышцы, нервная система

и др.) содержат много митохондрий, а, следовательно, накапливают цезий-137, что является причиной патологии этих тканей у лиц, проживающих на загрязненной территории (рисунок 8.1) [2].



Рисунок 8.1 — Внутриклеточные эффекты инкорпорации ^{137}Cs [2]

3. Механизмы канцерогенеза (радиационный, химический, вирусный)

1. Излучение: УФО, R- и g-лучи оказывают мутагенное и канцерогенное действие. Интенсивное УФО, проживание на территориях, зараженных радионуклидами, увеличивает риск появления меланом и карцином кожи, лейкозов.

Механизм действия:

- удаление азотистых оснований и образование апуринизированных и апириимидинизированных участков;
- одно- и двунитевые разрывы или сшивки;
- УФО вызывает образование тиминовых димеров (рисунок 8.2);

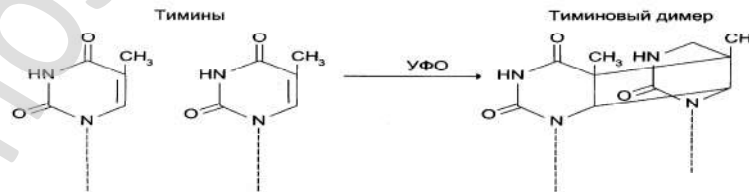


Рисунок 8.2 — Образование тиминовых димеров

г) R- и g-излучение индуцирует образование в тканях АФК ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , H_2O_2 и др.) (рисунок 8.3) [3].



Рисунок 8.3 — Источники образования активных форм кислорода (солнечная радиация, радионуклиды и проживание на загрязненной территории, курение, загрязнение окружающей среды, функционирование естественных метаболических путей) [3]

2. Химический канцерогенез. Огромное количество веществ обладают мутагенным и канцерогенным действием. Большинство канцерогенов существует в форме проканцерогенов, которые в печени превращаются в активные формы, реагирующие с нуклеиновыми кислотами и белками (детальный синтез).

Ферменты детоксикации (микросомальное окисление) обладают выраженным полиморфизмом, при их низкой активности проканцерогены выводятся из организма не успев превратиться в канцерогены (различная чувствительность людей к канцерогенам табачного дыма).

Все химические канцерогены (органические и неорганические), обычно электрофилы, реагируют с нуклеофильными группами ДНК и белков.

Примеры некоторых химических канцерогенов:

а) ПАУ (полициклические ароматические углеводы) — продукты неполного сгорания угля, нефти, табака, пиролиза масел, органических компонентов пищи и др. Вызывают рак «трубочиста».

б) Афлатоксины (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) — микотоксины, вторичные метаболиты *Asp. Flavus* и др. (плесень). После ферментативной акти-

вазии цит P450 и образования эпоксидов, реагируют с пуринами (особенно с G). Вызывают рак печени.

в) Ароматические амины — анилиновые красители и вещества, используемые в резиновой промышленности. У рабочих вызывает рак мочевого пузыря (рисунок 8.4) [4].

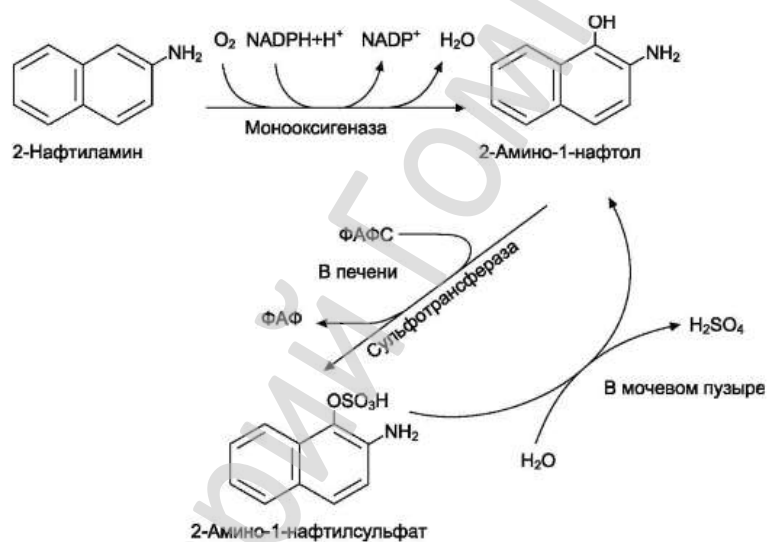


Рисунок 8.4 — Метаболизм 2-нафтиламина в организме человека [4]

г) Нитрозамины — образуются в организме при взаимодействии NO_2 и вторичных алифатических аминов, постоянных компонентов пищи, образующихся при запекании мяса и рыбы. NO_2 широко используются как консервант. Нитрозамины метилируют ДНК, индуцируя рак легких, желудка, пищевода, печени и почек.

д) Алкилирующие и ацилирующие агенты, повреждающие структуру ДНК и индуцирующие опухоли — винилхлорид (упаковочный материал, пластмасса) — как факторы риска.

3. Вирусный канцерогенез — ДНК- и РНК-содержащие вирусы. Опухолевые клетки могут возникать в результате действия конкретных опухолевых вирусов двух разных типов:

1. ДНК-содержащих (например, папиллома и аденовирусы);
2. РНК-содержащих (ретровирусы).

РНК-содержащие опухолевые вирусы распространены у цыплят, мышей и кошек, но редко встречаются у людей. Единственными известными человеческими ретровирусами являются Т-клеточные

вирусы лейкоза человека (HTLV) и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Ретровирусы могут индуцировать трансформированное состояние в клетках, которые они заражают, двумя механизмами. При заражении клетки ретровирусом, РНК-геном вируса превращается в ДНК с помощью вирусного фермента РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза). Затем эта ДНК встраивается в геном клетки-хозяина, где она остается и копируется, поскольку геном клетки-хозяина дублируется во время процесса клеточного деления. Внутри последовательностей на концах ретровирусного генома содержатся мощные транскрипционные промоторные последовательности, называемые *длинными концевыми повторами (long terminal repeats — LTR)*. Вследствие изменения гена клетки-хозяина во время процесса трансдукции, а также для транскрипции гена с более высокой скоростью из-за его связи с ретровирусными LTR, трансдуцированный ген дает преимущество роста инфицированной клетке (рисунок 8.5).

Нормальный клеточный ген в его немодифицированной, не трансдуцированной форме называется *протоонкогеном*, поскольку он способен трансформировать клетки, будучи каким-то образом измененным, либо в результате неконтролируемой экспрессии.

Показано, что клеточная трансформация вирусами ДНК-опухолей в большинстве случаев является результатом белок-белкового взаимодействия.

Белки, кодируемые вирусными опухолями ДНК, называются опухолевыми антигенами или Т-антигенами и могут взаимодействовать с клеточными белками.

Этапы вирусного канцерогенеза



Рисунок 8.5 — Этапы вирусного канцерогенеза [5]

Генетическое повреждение, присутствующее в родительской опухолеговой клетке, сохраняется. Таким образом, оно является наследственной чертой всех клеток последующих поколений. Различие

между терминами протоонкоген и онкоген связано с активностью белкового продукта гена.

Протоонкоген представляет собой ген, белковый продукт которого способен индуцировать клеточную трансформацию, поскольку он поддерживает генетические нарушения.

Онкогеном является ген, который обладает некоторым генетическим повреждением и, следовательно, продуцирует белок, способствующий клеточной трансформации (мутантный вариант протоонкогена).

Номенклатура онкогенов. Онкогены записываются 3-значным кодом из строчных латинских букв, которые означают объект, из которого данный онкоген был впервые выделен (ras — саркома крыс, rat — sarcoma). Если онкоген выделен не один, то после букв ставят цифры (bcl-1, bcl-2), если вирусный или клеточный — v-onc (virus), c-onc (cell). Белковые продукты генов обозначают также, но с заглавной буквы (ген — ras, белок — Ras), для генов-супрессоров опухолей указывают размер белкового продукта (ген p53, белок P53 с молекулярной массой 53 кД).

Учитывая сложность индуцирования и регулирования клеточного роста, пролиферации и дифференцировки, многие годы предполагалось, что повреждение генов, кодирующих факторы роста, рецепторы факторов роста и (или) белки различных каскадов передачи сигнала приводит к клеточной трансформации.

4. Наследственная предрасположенность. У детей предрасположенность к Rb (ретинобластоме) наследуется как аутосомно-доминантный признак. В последнее время изучаются фрагменты генома (SNP single nucleotide polymorphism) однонуклеотидные вариации, приходящиеся ~ на каждые 1000 нуклеотидов и характеризующие индивидуальные особенности генома, ответственные за наследственную предрасположенность к развитию опухолей (в российской популяции до 50 % предрасположены к раку легкого).

Нестабильность генома приводит к дефектам системы репарации ДНК. Нестабильность генома — эпигенетический феномен — может быть вызвана длительными изменениями экспрессии генов и передается через много поколений выживших клеток. Его основные механизмы — метилирование ДНК и модификация гистонов. Свой вклад в эпигенетические и повреждающие ДНК механизмы возникновения рака вносят микроРНК. Известно более 2000 микроРНК (регулируют пролиферацию клеток, могут быть онкогенами или клеточными супрессорами, экспрессия микроРНК специфична для каждого типа рака и каждой опухоли, могут использоваться как ранние диагностические маркеры или прогностические маркеры).

4. Факторы риска развития опухоли: возраст, наследственная предрасположенность, факторы окружающей среды

Опухоли занимают второе место в рейтинге причин смерти людей после сердечно-сосудистых заболеваний в развитых странах. Так же устойчиво они занимают первое место по ужасу, который они вызывают, когда ставится этот диагноз у человека. Это связано со сложившимся мнением о неизлечимости опухолевых заболеваний. Однако последние двадцать лет внесли много нового в представления о причинах возникновения и развития рака, а успехи этих исследований вселяют уверенность в возможность отступления этой сложной патологии.

Установлено, что в Европе 70 % случаев рака связано с питанием и образом жизни. Это нехватка ряда питательных веществ, содержащихся в плодах и овощах. Они выполняют защитную роль, предотвращая развитие рака.

Повреждение ДНК — это не только действие физических и химических факторов. Опухоль может возникнуть без видимых причин, ввиду спонтанного повреждения ДНК.

Спонтанные мутации ДНК являются результатом ошибок ДНК-полимеразы во время репликации или при копировании поврежденной ДНК. Благодаря системе репарации частота ошибок при нормальной репликации ДНК имеет величину порядка $1,3 \times 10^{-10}$ мутаций/пара оснований клеточного деления. В геноме человека около 3×10^9 пар азотистых оснований. В отдельной клетке одна ошибка, нарушающая кодирование, приходится на каждые 10 делений.

Вследствие избыточности генетического материала, 97 % ДНК не кодирует информацию о белках и пептидах поэтому многие изменения азотистых оснований не влияют на последовательности аминокислот в структуре белков и пептидов, поэтому функциональная частота мутаций должна быть на несколько порядков ниже фактической. Однако химическое повреждение ДНК может увеличить скорость мутаций за счет повреждения генов, отвечающих за точность копирования ДНК (мутаторный фенотип). Это депуринизация с частотой 10^4 /клетка/сутки. Апуриновые сайты могут при репликации давать случайные вставки азотистых оснований. Самым частым спонтанным мутагенным повреждением ДНК является дезаминирование метилцитозина с образованием цитозина, когда происходит транзиция Ц→Т. Такая мутация наблюдается при раке [5].

Кроме спонтанных замен в ДНК повреждения вызывают активные продукты окисления. Такие как 8-гидроксидезоксигуанозин, наиболее опасный из мутагенов встречается с частотой до 2×10^4 – 2×10^5 /клеток/сутки. Таким повреждениям противостоит

система ферментов репарации. Индукция повреждений ДНК может быть вызвана экзогенными агентами типа диметилнитрозамина (химический растворитель), который вызывает рак печени, или N-нитрозамины, содержащиеся в пиве и табачном дыме, косметических препаратах. В процессе метаболических превращений из диметилнитрозамина образуется активный электрофил, ион метилкарбония, который реагирует с ДНК. Продукт реакции O⁶-метилгуанин, при условии нарушения репарации ДНК, способствует образованию потенциально канцерогенных точечных мутаций.

Особое место среди химических канцерогенов занимают противоопухолевые химиотерапевтические препараты. Многие из них взаимодействуют с ДНК (алкилирующие вещества типа циклофосфамида или антибиотики). Риск заболеть любым вторичным раком после лечения злокачественного новообразования составляет 17,6 %, против 2,6 % в общей популяции. Наиболее быстро развиваются лейкозы, причем заболевания отмечается примерно через 8 лет. Солидные опухоли образуются через 10 лет. Риск их развития со временем увеличивается.

Большинство повреждений ДНК подвергается репарации. Генном человека в процессе эволюции подвергался воздействию эндо- и экзогенных факторов, поэтому образовались специальные гены, единственной целью которых являлось отслеживание состояния генома и сигнализация о его повреждении. Так возникли специальные гены, основной функцией которых являлось устранение ошибок, возникающих при репликации. Механизмы репарации различны и зависят от типа повреждения. Разрывы одной из цепей восстанавливаются, тогда как двухцепочечные не репарируются, так как не имеют матрицы.

Врожденные нарушения ферментов репарации повышают вероятность развития опухолей при таких наследственных заболеваниях, как атаксия-телеангиэктазия и пигментная ксеродермия. Контрольные пункты клеточного цикла ограничивают репарацию ДНК. Любое повреждение ДНК не является мутацией до тех пор, пока не пройдет этап репликации. Поэтому так важно не допустить вступления поврежденной ДНК в процесс репликации без исправления повреждения. Эволюцией создан жесткий механизм контроля деления клетки.

Митотический цикл деления — это циклический процесс, включающий фазы: G₁ (подготовки к синтезу), фазы S (репликации ДНК), фазы G₂ (подготовки к митозу), и митоз — процесс деления клетки на две новые. Образовавшиеся дочерние клетки могут войти в новый цикл или выйти из него в стадию покоя G₀. Цикл работает под влиянием специфических ферментов — циклинзависимых протеиназ. Циклинзависимая киназа включает две субъединицы Cdk — каталитическую и регуляторную — циклин. Уровень экспрессии каждого из циклинов направленно изменяется (рисунок 8.6).

Активность Cdk регулируется:

1) путем ковалентной модификации их аминокислотного остатка, с участием Cdk-активирующих киназ — САК (Cdk-activating kinase), Wee1 (серин-треониновая киназа Cdk1 и Cdk2; от англ. “wee” — «крошечный, маленький»; так как при мутации гена у дрожжей наблюдается нарушения митоза, вследствие чего размер клеток уменьшается), фосфорилирующих ферменты;

2) путем связывания ингибиторов циклиновых киназ — СКІ (cycline kinase inhibitors). Последние представляют группу белков из двух семейств Cip/Kip (p21, p27, p57), ингибируют различные комплексы Cdk2, ответственные за фазу S. Они подавляют активность комплексов циклин В-Cdk2, ответственных за вход в стадию митоза. В то время они активируют комплексы циклин D-Cdk4(6), оперирующие в ранней G₁ фазе.

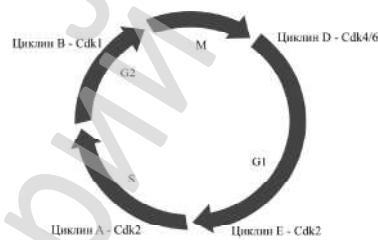


Рисунок 8.6 — Участие циклинов и циклинзависимых киназ в регуляции клеточного цикла [5]

Выход покоящейся клетки из фазы G₀ и вступление ее в митотический цикл инициируется цитокинами из группы факторов роста. Необходимо также взаимодействие специфических рецепторов клетки интегринов с белками внеклеточного матрикса (фибронектином, коллагеном). Это индуцирует аутофосфорилирование внутриклеточных доменов рецепторов и дальнейшее их взаимодействие со многими сигнальными белками. В результате происходит стимуляция пересекающихся сигнальных путей и активация MAP (Mitogen Activated Protein) киназных каскадов. Конечными продуктами этих каскадов являются серин-треониновые киназы — ERK1/2, JNK и p38, которые из цитоплазмы направляются в ядро, где фосфорилируют множество субстратов, что приводит к активации циклинзависимых киназ, инициирующих вход в фазу S.

Действие ростиингибирующих факторов (цитокинов типа ФНО-β, фактор контактного торможения), основано на активации ингиби-

торов циклинзависимых киназ (СКІ) семейств Ink4 и Cip/Kip, остановке клеточного цикла в контрольных точках (checkpoints). Остановка клеточного цикла происходит в G_1 , S, G_2 фазах и в митозе, что зависит от типа рестингирующих молекул (рисунок 8.7).

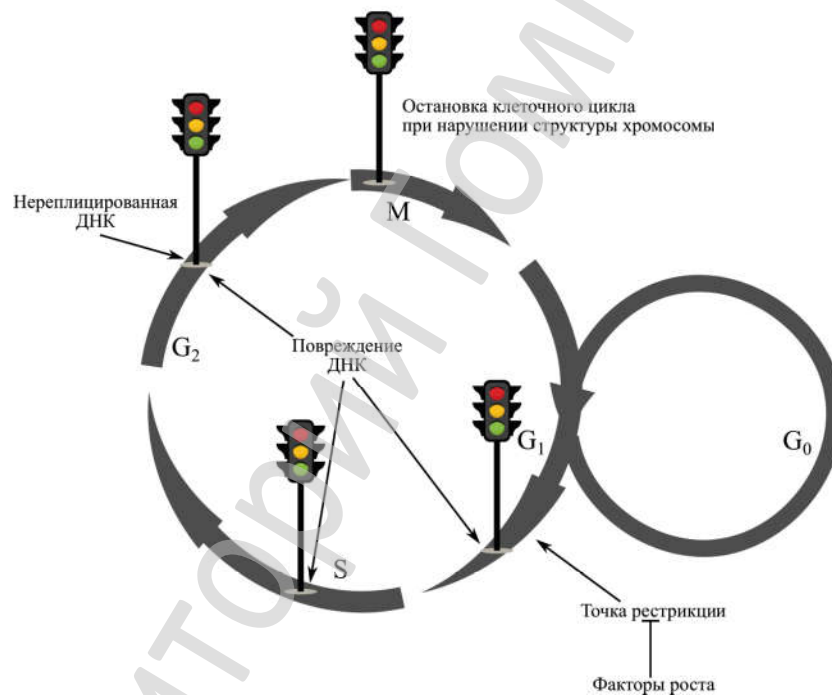


Рисунок 8.7 — Контрольные пункты в клеточном цикле [5]

Важнейший пункт контроля расположен в поздней фазе G_1 . От него зависит вход в фазу S, что является «посвящением» клетки в деление. При отсутствии факторов роста, деление клетки останавливается в этом пункте. Для перехода в фазу S, необходим активный G_1 -комплекс, который состоит из Cdk-4, PCNA (ядерный антиген пролиферирующей клетки) и циклин D. Cdk-4 в составе этого комплекса фосфорилирует белок, названный pRb, последний прочно связан с фактором транскрипции E2F. После диссоциации комплекса pRb-E2F, свободный E2F инициирует транскрипцию двух классов генов. К ним относят гены, кодирующие тимидинкиназу, дигидрофолатредуктазу, тимидилатсинтазу и ДНК-полимеразу (не-

обходимые для синтеза ДНК). А также гены, кодирующие циклин E и Cdk-2, которые поддерживают фосфорилированную форму pRb и независимый от митогенов переход через фазу S цикла. Фосфорилированная форма — это молекулярная основа контрольного пункта этой фазы.

При повреждении ДНК в действие вступает независимый путь, ингибирующий переход в фазу S. Ведущим на этом пути является ген p53. В ответе на повреждение ДНК ген p53 инициирует экспрессию фактора транскрипции. Последний индуцирует экспрессию ряда ингибиторов Cdk- p21, p27, p57. Эти ингибиторы тормозят фосфорилирование pRb даже в случае действия митогенных сигналов. Задержка входа в фазу S обеспечивает время для репарации. Как только клетка восстановит свою поврежденную ДНК, включается механизм репликации. При невозможности репарации включается механизм апоптоза.

Выделяют шесть основных отличий опухолевых клеток от нормальных: независимость от ростстимулирующих сигналов; невосприимчивость к ростингибирующим сигналам; отклонение от апоптоза; безграничная пролиферация, «иммортализация»; способность формировать кровеносные сосуды и капилляры; инвазивный рост и метастазирование.

Сложная смесь гормонов — «факторы роста» — регулирует пролиферацию клеток. При отсутствии факторов роста останавливается клеточный цикл, и клетка не вступает в фазу S. Добавление факторов роста стимулирует ряд событий, которые завершаются репликацией.

Факторы роста делят на семейства, ввиду отличия их собственной структуры, клеточной специфичности и структуры их рецепторов.

Класс IA: ЭФР (EGF) — эпидермальный фактор роста, стимулирует эпителиальные, мезенхимальные и глиальные клетки.

Класс IB: ФРФ — фактор роста фибробластов: существуют кислый и основной, оба идентичны по составу аминокислот на 55 %. Белки ФРФ стимулируют пролиферацию эпителиальных, эндотелиальных, мезенхимальных и нервных клеток.

Класс II: ИФР — инсулиноподобный фактор роста. Белки по структуре похожие на проинсулин. В высокой концентрации активируют инсулиновый рецептор. ИФР-1 образуется в печени. ИФР-2 синтезируется многими клетками, включая опухолевые. Они стимулируют пролиферацию и ингибируют апоптоз.

Класс IIIA: ФРТ — фактор роста тромбоцитов. Это митогенные факторы роста: гетеродимер (AB) и гомодимер (AA, BB) имеют разную биологическую активность. Образуются тромбоцитами и эндотелием. Стимулируют пролиферацию мезенхимальных, глиальных, и гладкомышечных клеток.

Класс IIIВ: цитокины/гормон роста. Интерлейкины (IL-1-IL-16), эритропоэтин и гормон роста не являются классическими ФР. Они более известны как цитокины и регулируют дифференцировку. Факторы роста обладают тирозинкиназной активностью — РТК. Установлено три семейства РТК, активных в виде димеров. Димеризация необходима для активации рецептора и приводит к перекрестному фосфорилированию одного мономера другим.

Таблица 8.1 — Классы онкогенов

Класс	Тип	Примеры онкогенов (в скобках даны проонкогены)
1	Факторы роста	Sis (ФРТ-В), ТФР α (ЭФР), int-2 (ФРФ), hst (ФРФ)
2	Рецепторы факторов роста	erb-B (ЭФР), fms (CSF-1R), trk (ФРН-R), kit (рецептор стволовых клеток), HER-2/neu, (ЭФР-R подтип-2)
3	Цитоплазматические тирокиназы	src, fes, abl, yes, fgr, lck
4	G-белки	ras, gsp(Gs), gip(Gi), rab
5	Растворимые серинтреониновые тирокиназы	mos (цитостатический фактор), raf, pim-1
6	Ядерные факторы транскрипции	myc, myb, lyl-1, fos, jun

Онкогены присутствуют во всех раковых клетках и представляют собой измененные (мутировавшие) протоонкогены — гены, регулирующие нормальное поведение клетки, контролирующие ее ответ на ростовые факторы, гормоны, митотическую активность. Классы основных представителей онкогенов представлены в таблице 8.1 [5].

Раковые клетки характеризуются неадекватным синтезом факторов роста вследствие появления онкогенов (таблица 8.2) [5]. В мезенхимальных клетках регулятором пролиферации является фактор роста тромбоцитов, хотя сами клетки его не производят. При их малигнизации возникают саркомы, менингиомы, глиомы и другие опухоли соединительной ткани, с активной экспрессией онкогена sis (гомолога фактора роста тромбоцитов и трансформирующего фактора роста α , ТФР α (гомолог ЭФР)). Sis выделяется клетками только группы сарком, он стимулирует и поддерживает пролиферацию опухолевых клеток.

Таблица 8.2 — Онкогены человека и связанные с ними опухоли

Онкоген	Орган-мишень, тип опухоли
ERBB-2 (Her-2/neu)	Мозг, молочная железа, легкие, яичники, желудок
KRAS	Толстый кишечник, легкие, поджелудочная железа
HRAS	Мочевой пузырь, почки, щитовидная железа
BRAF	Толстый кишечник, яичники, щит. железа, меланома
SRC	Толстый кишечник
BCR-ABL	Хронический миелоидный лейкоз
C-MYC	Молочная железа, легкие, лимфома Беркитта
L-MYC	Мелкоклеточный рак легкого
N-MYC	Легкие, нейробластома
CYCD1	Молочная железа, лимфомы
CDK4	Глиобластомы, меланома, саркома
BCL2	Лимфомы
MDM2	Саркома

Онкоген **erb-B** обозначается как **erb-B/her2-neu** и является аналогом ЭФР. Его обнаруживают в 30 % случаев рака молочной железы (РМЖ), что указывает на плохой клинический прогноз. Повышенная экспрессия этого онкогена есть результат усиленной амплификации (увеличения числа копий) за счет многократной репликации этого гена в одном и том же месте хромосомы. erb-B — это активная тирозинкиназа, она включает передачу сигнала, который завершается митозом. Кроме того, erb-B вызывает повышение секреции сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), который стимулирует ангиогенез, необходимый для роста опухоли. Клинические испытания показывают эффективность герцептина (моноклональные антитела против erb-B), как средства для лечения РМЖ.

Ген **Abl** в норме кодирует цитоплазматическую тирозинкиназу. При транслокации участка гена *abl* хромосомы 9, с участком гена *bcr* 22 хромосомы развивается хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ). Объединение генов усиливает митогенный и апоптотический сигналы, опосредуемые *gas*-белками, увеличивают синтез интегринов, лучшее связывание с внеклеточным матриксом и торможение апоптоза. Это происходит и во многих случаях острого лимфоцитарного лейкоза (ОЛЛ). Поэтому транскрипт *bcr-abl* является индикатором тяжести заболевания. Центральная роль тирозинкиназы *abl* активировала исследователей к поиску ее ингибиторов.

Ген **ras** кодирует семейство белков, которые находятся в начале каскадных механизмов внутриклеточной передачи сигналов и обладают многочисленными функциями, в т. ч. стимуляцией пролифе-

рации. Это белок с ГТФ-азными свойствами. Он связан с мембраной клетки фарнезилем (производное изопрена). После реакции с рецепторами и обмена ГДФ на ГТФ, *ras* начинает активировать белки нисходящих сигнальных путей. После гидролиза ГТФ эта способность исчезает, что указывает на его способность выключать передачу сигналов. Мутация гена *ras* ингибирует ГТФ-азную активность, и он становится постоянным инициатором сигналов. Это первый обнаруженный в опухолях онкоген (90 % случаев рака поджелудочной железы, 50 % случаев рака ободочной, 30 % случаев рака легкого и большинстве других солидных опухолях). Мутации гена *ras* встречались в 12, 13 и 61 кодонах. Установлено, что аминокислоты, кодируемые 12 и 13 триплетами, влияют на связывание ГТФ с *ras*-белком, тогда как аминокислота, кодируемая 61 триплетом, включается в гидролиз ГТФ. Либо связывание, либо гидролиз ГТФ — таков результат мутации. В кодоне 12 чаще идет трансверсия Г/Т, которая вызывает замену в белке глицина на валин. Это начало канцерогенного процесса. Кроме того, *ras* связывается с другой ГТФ-азой, под названием p120GAP, и третьего белка — Rho. Семейство Rho регулирует актин цитоскелета, каскады киназ и генную экспрессию в клетке.

В связи с установленными особенностями этого гена, наиболее перспективным является поиск средств, тормозящих связывание *ras* с клеточной мембраной.

Все указанные выше онкогены — участники сигнальных путей, ведущих к активированию факторов транскрипции типа D-циклина, путем фосфорилирования или увеличением его синтеза.

c-myc — участник многих функций клеток, включая репликацию, рост, метаболизм и дифференцировку. Он является фактором транскрипции, экспрессия которого идет только в фазу S клеточного цикла и четко регулируется в нормальных клетках. Во многих типах опухолей у человека этот ритм нарушается и синтез *c-myc* бесконтрольно увеличивается на всем протяжении цикла, вызывая непрерывную пролиферацию. Если это происходит в эпителиоцитах и является единственным генетическим дефектом, то при участии генов-супрессоров идет ограничение пролиферации и клетки вступают в апоптоз. Если мутация идет в генах-супрессорах, то пролиферация продолжается. При некоторых опухолях происходит повышенная продукция других факторов транскрипции этого семейства: в нейробластоме — *n-myc*. При мелкоклеточном раке легкого *l-myc*.

Лимфома Беркита — пример нарушения регуляции экспрессии *c-myc*. За счет хромосомной транслокации ген *c-myc* на хромосоме 8q24 сливается с определенными локусами генов иммуноглобулинов на хромосомах 14q23, 2q12, 22q11, поэтому экспрессия *c-myc* выходит из-под контроля обычных регуляторов клеточного цикла. Экспрессия *c-myc* начинает регулироваться генами, транскрипция

которых зависит от вирусной инфекции. Установлена связь между инфицированием вирусом Эпштейна — Барр (EBV) и лимфомой Беркита. Белки EBV увеличивают транслокацию с-тус и транскрипцию сайтов иммуноглобулинов.

Малопонятная особенность с-тус — это чрезмерная экспрессия во многих клетках, что связано с усилением апоптоза. Предполагается, что при этом увеличивается транскрипция циклинзависимой киназы cdc25A, которая и способствует апоптозу. Опухолевые клетки преодолевают это действие с-тус, благодаря другим мутациям, в большинстве случаев РМЖ клетки усиленно производят с-тус, а это повышает способность erb-B стимулировать пролиферацию. Предполагают, что стимулирующее действие эстрогенов на опухоли молочной железы связано со способностью эстрогенов вызывать усиленную транскрипцию с-тус, а также теломеразы.

Мутации ядерного рецептора гормонов приводит к блокаде дифференцировки. Так при транслокации ядерного рецептора для all-транс-ретиноевой кислоты (RAR- α) — синтезируется химерный белок с измененными свойствами. Это рецептор с измененными сигнальными свойствами. Его активность как репрессора транскрипции возрастает, и это останавливает дифференцировку. Ретиноиды были использованы в модельной системе дифференцировки промиелотической линии лейкозных клеток (HL-60), что позволило китайским врачам использовать трансретиноевую кислоту для индукции ремиссии у больных промиелолейкозом (ПМЛ). Молекулярными и цитогенетическими исследованиями установлено, что в основе ПМЛ лежит хромосомная транслокация, при которой фрагмент ДНК, кодирующий рецептор ретиноевой кислоты (RAR) является главным участником событий. Транслокация этого участка с другой хромосомой приводила к образованию химерных белков: PML-RAR. и PLZL-RAR. Клетки с такими химерами были неспособны усваивать фармакологические дозы ретиноевой кислоты.

Гены-супрессоры опухолей. Первым установленным геном-супрессором был **ген Rb**, врожденные мутации которого вызывали развитие ретинобластомы. Около 40 % ретинобластом возникает в младенческом возрасте (14 мес.). Опухоли поражают сетчатку обоих глаз и часто бывают множественными. После излечения у таких пациентов развивались остеосаркомы, а в зрелом возрасте — меланомы кожи. Если дети наследовали мутантную копию аллеля гена Rb, то вторая мутация этого же гена, происходящая уже в сетчатке глаза, приводила к развитию опухоли. Дети, у которых ретинобластомы возникали в более позднем возрасте, не наследовали мутантного гена Rb. У них происходили две независимые мутации обоих аллелей одного этого гена в одном из ретинобластов, что приводило к развитию опухоли. Ген предрасположенности к ретинобластоме (Rb) локализу-

ется на длинном плече хромосомы 13 (13q14). Мутации гена Rb были обнаружены не только в ретинобластомах, но и некоторых других не наследуемых новообразованиях: во всех случаях мелкоклеточного рака легкого, при остром лейкозе (от 20–40 %), остеосаркоме, раке простаты, мочевого пузыря и др. Восстановление экспрессии этого гена в культивируемых *in vitro* клетках ретинобластомы и остеосаркомы приводило к торможению роста опухоли. В связи с этим ген Rb стал использоваться в качестве критерия при поиске и идентификации других опухолевых супрессоров. Ген Rb задерживает вступление в фазу S. Ген Rb кодирует ядерный белок pRb, который контролирует вступление клетки в клеточный цикл. pRb обычно не фосфорилирован и связан с фактором транскрипции E2F. Этот комплекс поддерживает основные гистоны в деацетилованном состоянии и ограничивает доступ к ДНК факторов транскрипции. После митогенной стимуляции циклин D/cdk4 фосфорилирует pRb в C-концевой области, что вызывает диссоциацию комплекса и освобождение его компонентов. pRb становится доступным для комплекса E/cdk2, который дополнительно его фосфорилирует и тем самым ингибирует связывание с E2F. Последний стимулирует транскрипцию генов, обеспечивающих синтез ДНК в фазе S. После завершения S-фазы pRb переходит в дефосфорилированное состояние, в котором он блокирует активность E2F и вход в следующую S-фазу (для ее инициации требуется новый митогенный стимул, способный активировать комплекс циклин D/cdk4). Таким образом, модулируя активность E2F и регулируемых им генов, pRb играет ключевую роль в контроле последовательности событий, которые обеспечивают переход клетки из G₀/G₁ в S-фазу и ее успешное завершение.

Значительная часть мутаций гена pRb, обнаруживаемых в различных опухолях, заключается либо в делеции гена, либо в сдвиге рамки считывания, либо в ее преждевременной терминации, либо в нарушении сплайсинга мРНК. Это приводит или к полной потере экспрессии белкового продукта, или к экспрессии неполноценных и нестабильных белков pRb. Кроме того, потеря функции pRb, нарушает процессы клеточной дифференцировки. Это увеличивает вероятность появления постоянно пролиферирующих клонов клеток, в которых накапливаются и другие онкогенные мутации, ведущие к злокачественной трансформации.

Ген p53 занимает важное место в регуляции деления клеток в стрессовых состояниях. Он активируется при гипоксии, недостатке нуклеотидов для синтеза ДНК, при нарушении структуры ДНК и обеспечивает остановку деления для проведения репарации или включает механизм апоптоза. В последнее время показана роль этого гена в контроле длины теломеров, а значит и старения клетки (рисунок 8.8). Центральная роль этого «опекуна генома» подтверждается его участием в онкогенезе.



Рисунок 8.8 — Роль гена p53 в механизме контроля состояния генома [4]

При опухоли у человека более, чем в 70 % случаев найдены дефекты в этом гене и почти в 100 % случаев — в путях передачи сигнала с участием p53. Как и в случае с геном Rb, даже при изменении одного из аллелей, вероятность возникновения опухоли составляет 100 % (синдром Li-Fraumeni). Анализ мутаций гена p53 выявил «горячие» точки в его структуре. Мутации затрагивают места связывания этого белка с ДНК или другими факторами транскрипции. Высокая частота обнаружения мутаций гена p53, позволила проанализировать их в идентичных опухолях, возникших при разных обстоятельствах. Так возникла молекулярная эпидемиология рака. Установлено, что опухоли рака печени в Китае отличаются своим спектром мутаций p53 от от таких опухолей в Японии или странах Западной Европы. Возможные причины связывают с действием афлатоксина пищи (в Китае) или контактом с канцерогенным производством (в Европе).

Ген p53 также активирует экспрессию p21, который связывается со множеством cyclin/Cdk-киназ, замедляя их фосфорилирование белком Rb и таким образом замедляя переход из G₁ в S фазу. Активирование p53 индуцирует гены, которые вызывают остановку цикла клетки и модифицируют состояние хроматина (рисунок 8.9).

Благодаря апоптозу обеспечивается регуляция численности клеток и устанавливаются определенные взаимоотношения между отдельными клетками на уровне целого организма. Апоптоз играет важную роль в процессах эмбрионального и онтогенетического развития, протекает при различных морфогенетических процессах, так при развитии глаза, сердца, нервной системы.

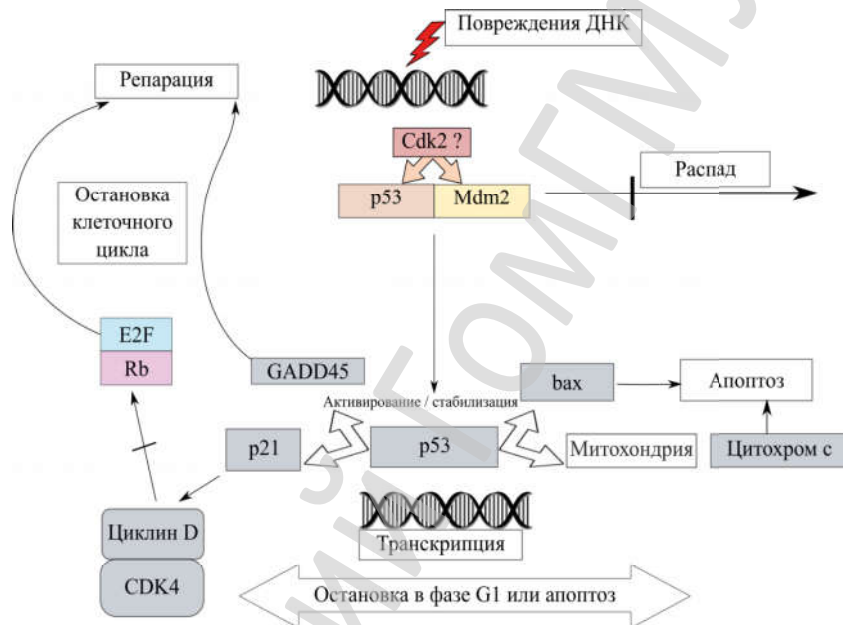


Рисунок 8.9 — Пути остановки геномом p53 клеточного цикла или апоптоза [5]

Во взрослом организме апоптоз встречается как в медленно пролиферирующей популяции клеток (гепатоциты, клетки эпителия коры надпочечников), так и в быстро пролиферирующих. В первом случае апоптоз регулирует объем ткани, во втором роль апоптоза связана с дифференцировкой. Но при патологии действие апоптоза является результатом действия различных факторов. Это неспецифическое действие температуры, токсических агентов, свободных радикалов, гамма и УФ-излучение, бактериальные токсины и т. д.

Независимо от начального стимула, все пути апоптоза приводят к активированию семейства внутриклеточных протеаз, или каспаз, функцией которых является разрушение органелл и хроматина. Важный участник — цитохром с, выход которого из митохондрий необходим для изменения их структуры (рисунок 8.10).

Клетки защищаются от апоптоза специальными факторами, и к ним относят белки семейства Bcl-2, которые тормозят выход цитохрома С из митохондрий: это белки теплового шока, типа hsp70, которые связывают белок Araf1 — основной компонент апоптосомы; ингибитор белков апоптоза (IAP), непосредственно ингибирующий каспазы. Чрезмерная экспрессия Bcl-2 защищает клетки лимфомы от апоптоза.

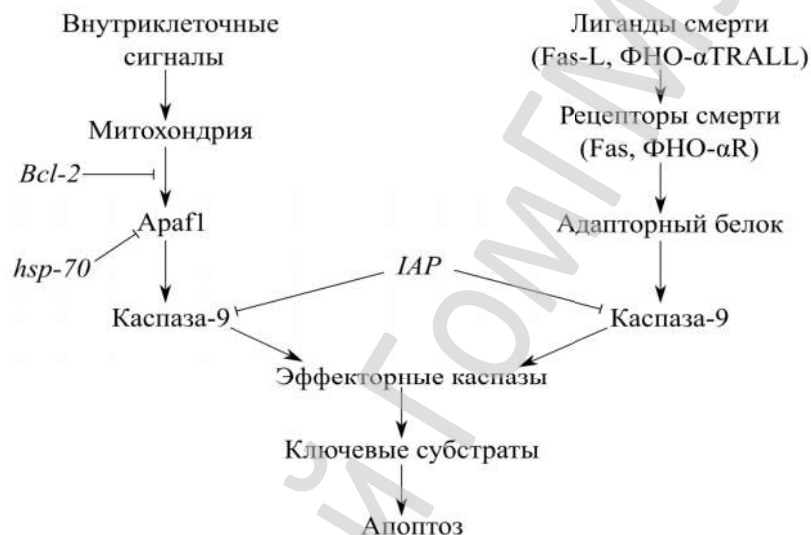


Рисунок 8.10 — Пути, ведущие к апоптозу [5]

При фолликулярной лимфоме, как и при лимфоме Беркитта, возникает транслокация участка хромосомы, содержащего информацию о структуре тяжелой цепи иммуноглобулина, но не к участку с-трус (как в лимфоме Беркитта), а к гену хромосомы 18, обозначенному как *Bcl-2*. Экспрессия такого химерного гена активно протекала в клетках В-лимфоцитарного ряда и они выживали, тогда как нормальные клетки разрушались путем апоптоза.

Опухолевые клетки уклоняются от апоптоза модификацией реакции взаимодействия. Среди внешних сигналов, вызывающих апоптоз, особое место занимают цитокины. Это обширная группа белков, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток при связывании со специфическими рецепторами на клетках-мишенях. В отличие от гормонов, цитокины действуют в основном на пара- и аутокринном уровнях. Цитокины подразделяются на три большие группы по структуре и функциям: колонийстимулирующие факторы, эпидермальные факторы роста, инсулиноподобный фактор и т. д.; семейство фактора некроза опухоли (ФНО), и специальные цитокины (интерлейкины и интерфероны). Эффект цитокинов на клетки неоднозначен. Могут быть как индуктором апоптоза (для одних клеток) и ингибитором для других. При этом имеет значение тип клетки, стадия дифференцировки и функциональное состояние.

Цитокины влияют на клетки через специальные рецепторы — «рецепторы смерти». Они принадлежат к суперсемейству рецепторов фактора некроза опухолей (ФНО-R)/ рецептора фактора роста нервов (ФРН-R). Члены этого суперсемейства имеют одно отличие — содержат внеклеточный домен, включающий повторы, с избытком цистеина 1 CRD (cystein rich domain). Этот домен образует поверхность, к которой присоединяется лиганд. Цитоплазматическая часть рецепторов смерти содержит домен (70–80 аминокислот), который и отвечает за взаимодействие с внутриклеточной системой передачи сигналов, индуцирующих апоптоз. Это DD — death domain — домен смерти. Наиболее изучены рецепторы смерти — CD95 (он же Apo1 и Fas) и фактор некроза опухолей 1 (ФНО-R1 он же p55). К рецепторам смерти относят также рецептор смерти 3 (DR3, он же Apo3, рецептор смерти 5 (DR5, он же Apo2), рецепторы смерти 4 и 6 (DR 4 и DR6).

Взаимодействие Fas с Fas-L (лиганд) или с моноклональными антителами приводит к апоптозу клетки. На поверхности клеток многих типов (тимоцитов, лимфобластоидных клеточных линий, активированных Т и В-лимфоцитов, фибробластов, гепатоцитов, кератиноцитов, миелоидных клеток) идет постоянная экспрессия Fas.

У человека Fas представляет собой 1ТМС-рецептор (325 аминокислотных остатков), в структуре которого есть внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический домены. Ген локализован в длинном плече хромосомы 10 и состоит из 9 экзонов.

Fas-L является цитокином и относится к семейству ФНО. Его экспрессия идет в активированных Т-лимфоцитах и натуральных киллерах, в клетках Сертоли и паренхимных клетках передней камеры глаза. Такие клетки способны убивать любую клетку, в которой синтезируется Fas, в том числе активированный Т-лимфоцит.

Мутации в гене Fas или в гене Fas-L приводят к развитию аутоиммунных заболеваний. По данному механизму действуют и другие системы с участием рецепторов смерти.

Основным событием, ограничивающим продолжительность жизни нормальных клеток, является прогрессирующее укорочение концов хромосом, которые обычно заканчиваются теломерами, повторяющимися последовательностями в шесть пар азотистых оснований (у млекопитающих — ТTAGGG). Укорочение концов — следствие однонаправленной 5'→3' репликации ДНК. Участок ДНК, занятый РНК-затравкой, необходимой для инициации синтеза ДНК, на 5'-конце отстающей цепи не может копироваться, и дочерняя молекула ДНК постоянно укорачивается при каждом репликационном цикле. В половых клетках (они сохраняют свои репликационные способности) и в определенных стволовых клетках, особенно кроветворной системы, происходит синтез фермента — теломеразы,

который поддерживает нормальную длину молекул ДНК. Однако в большинстве соматических клеток теломераза не синтезируется, что приводит к постепенной потере теломеров. Длину теломера проверяет p53. При достижении критической степени укорочения этот белок вызывает остановку цикла клетки или апоптоз.

Теломераза — это необычный фермент, обратная транскриптаза, содержит отрезок РНК, используемый в качестве матрицы для синтеза теломеров в молекуле ДНК.

Многие опухолевые клетки реактивируют теломеразу. Клетки опухоли нуждаются в дополнительном прогрессировании, и опухоли необходима постоянная пролиферация клеток, которая обеспечивает накопление мутаций. Кроме того, после терапии цитостатическими препаратами, оставшиеся клетки опухоли нуждаются в продолжительной пролиферации, чтобы вновь стать опасными для жизни. Выполнение этого условия невозможно без механизма восстановления теломеров. Эту функцию выполняет активная теломераза, которая образуется в клетках большинства злокачественных опухолей человека. Она и поддерживает длину теломеров.

В 98 % случаев мелкоклеточного рака легкого клетки способны синтезировать теломеразу. Экспрессия теломеразы наблюдалась в 100 % случаев рака ткани молочной железы и только в 70 % случаев протоков железы.

Таким образом, в процессе эволюции раковая клетка приобрела способность к пролиферации, устойчивость к действию регуляторов пролиферации, способность избегать апоптоз и бессмертие. Но не менее важной задачей этой клетки является обеспечение достаточным количеством питательных веществ, непрерывного роста, возможности удалять токсические продукты метаболизма, которые для нее смертельны.

Одним из направлений выживания такой клетки является рост во взвешенном состоянии, подобно клеткам крови или клеткам асцитической жидкости в брюшной полости. Другим способом пользуется большинство клеток — это самообеспечение себя сетью сосудов и капилляров и приспособление метаболических путей к новым условиям. Сеть сосудов должна быть обширной, так как уже на расстоянии 150 мкм от капилляра возникает гипоксия и недостаток глюкозы, несовместимый с жизнью клетки.

В здоровых клетках ответом на гипоксию является синтез фактора транскрипции, индуцируемый гипоксией — hif-1. Белок состоит из двух субъединиц, а домен белка, создающий взаимодействие с ДНК, устроен по типу «спираль-петля-спираль». hif-1 известен под названием «углеводородный рецептор ядерного транслокатора» — ARNT. Он связан с последовательностью 5'-RCGTD-3' (рисунок 8.11).

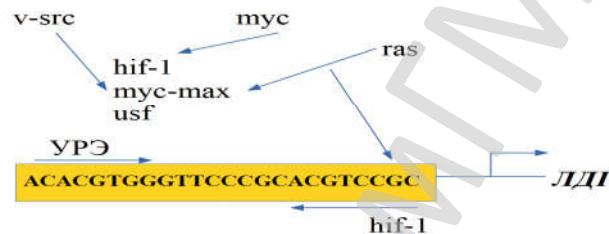


Рисунок 8.11 — Места связывания факторов транскрипции с проксимальной частью промотора ЛДГ (лактатдегидрогеназы) [5]

Участок 5'-CACGTG-3' — это основная часть углеводного респонсивного элемента (УРЭ), перекрывающегося с местами связывания фактора, индуцируемого гипоксией (hif 1), myc-max и usf. myc и hif-1 связываются непосредственно, тогда как v-src и активный ras повышают активность hif 1 и других факторов, которые связываются с УРЭ и стимулируют гликолиз. Эта последовательность является частью промотора генов, кодирующих гликолитические ферменты (альдолазу, лактатдегидрогеназу, фосфофруктокиназу, фосфоглицераткиназу, пируваткиназу) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). Последний обеспечивает образование сосудов и важен для регенерации тканей. Изменение концентрации глюкозы также активирует многие гены гликолитических ферментов. Это возможно при участии углеводного респонсивного элемента на молекуле яДНК (УРЭ). Он имеет консенсусную последовательность 5'-CACGTD-3', совпадающую с последовательностями участков связывания белков myc и hif-1. С этим участком связывается и фактор транскрипции usf-2. Его домен имеет структуру «застежки-молнии». Предполагается, что активирование путей, опосредованных hif-1 или USF, является частью адаптивных реакций на гипоксию и гипогликемию в опухолевых клетках (рисунок 8.12).

Равновероятным является и другой механизм, при котором активация онкогенов или потеря супрессоров за счет соматической мутации в опухоли приводит к изменениям клеточного метаболизма.

Многие онкогены и супрессоры опухолей являются ответственными за перестройку метаболических путей опухолевой клетки. Она направлена на выживание клетки в неблагоприятных условиях (рисунок 8.13, таблица 8.3).

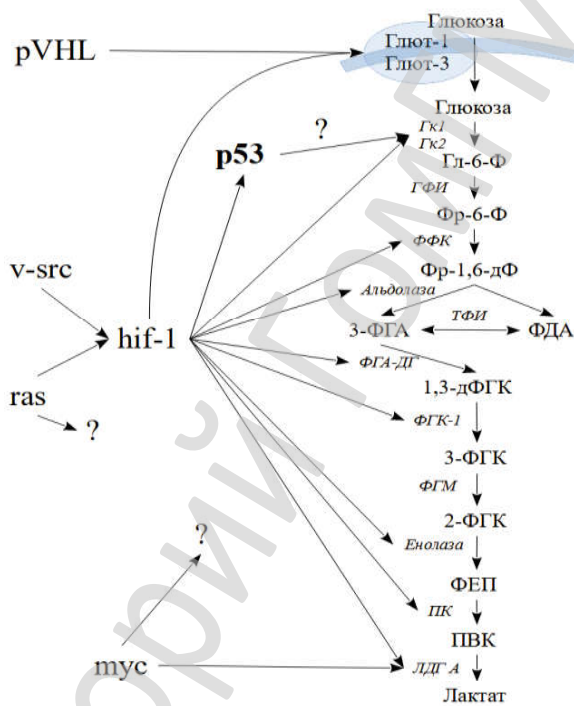


Рисунок 8.12 — Регуляция транскрипции ферментов гликолиза и ее модуляция онкогенами и генами-супрессорами опухоли [5]

Гипоксия и недостаточность глюкозы стимулируют образование факторов, способствующих ангиогенезу. Внеклеточные сигнальные молекулы, среди которых наиболее известны сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и фактор роста фибробластов (FGF-1 и FGF-2), вызывают размножение и инвазию эндотелиальных клеток сосудов. Активность этих факторов сдерживается ингибиторами ангиогенеза, например, тромбоспондином. Опухолевые клетки приобрели способность усиливать экспрессию проангиогенных факторов и сдерживать негативные регуляторы. Онкогены и гены — супрессоры опухоли являются участниками обоих этих процессов.

Таблица 8.3 — Предполагаемые эффекторы аэробного гликолиза в опухолевых клетках

Молекула	Функция	Активность при раке	Эффект
hif-1	Фактор транскрипции, индуцируемый гипоксией	Адаптивная или конститутивная экспрессия	Увеличивает экспрессию генов, кодирующих ферменты гликолиза. Фактор роста сосудов и др. белки адаптации к гипоксии
myc	Онкогенный фактор транскрипции	Конститутивная экспрессия, усиление функции	Усиливает экспрессию АДГ-1, гликолиз и образование лактата
ras	Онкогенный ГТФ-связывающий белок	Активация в результате мутаций, усиление функции	Усиливает гликолиз и экспрессию VEGF
v-src	Онкогенная нерецепторная тирокиназа	Трансдуцированный ген ретровируса. Онкоген, усиление функции	Усиливает гликолиз, индуцирует енлазу и экспрессию и РНК для VEGF при участии HIF-1
p53	Фактор транскрипции. Супрессор опухоли	Мутант, потеря функции	Стабилизирует HIF-1a, активирует гексокиназу II, индуцирует апоптоз при гипоксии и ацидозе
pVHL	Модулятор стабильности иРНК, супрессор опухоли	Мутант, потеря функции	Дестабилизирует иРНК для VEGF и ГЛЮТ-1, образование которых обусловлено гипоксией.

При сравнительном анализе экспрессии генов в опухолевых и здоровых клетках было выявлено более 80 различий. Схожие процессы имеют место и при обычном заживлении раны. Это свидетельствует о том, что до полного осмысления механизмов канцерогенеза еще далеко.

5. Биохимия канцерогенеза.

Особенности метаболизма злокачественных клеток

Метаболизм опухолевых клеток тесно связан с их долгосрочным ростом, способностью к выживанию, пролиферацией.

Особенности углеводного обмена в опухолевой клетке:

а) активный анаэробный гликолиз — основной источник энергии в опухолевых клетках (эффект Варбурга). Происходит изоферментный сдвиг — активная фосфофруктокиназа, активная гексокиназа и очень активная лактат дегидрогеназа — что способствует повышению сродства раковой клетки к глюкозе. Одновременно усиливается экспрессия ГЛЮТ 1 и ГЛЮТ 2;

б) угнетение окислительного фосфорилирования (мало ТПФ, NS-CoA, мало митохондрий). Чем менее дифференцирована опухоль и чем выше скорость ее роста, тем интенсивнее анаэробный гликолиз и слабее окислительное фосфорилирование;

в) содержание гликогена в опухолевых тканях быстро падает;

г) скорость ГНГ (из аминокислот, реже из лактата) отстает от скорости гликолиза;

д) активный ПФ.

Особенности белкового обмена в опухолевой клетке:

а) синтез Б усиливается;

б) опухоль извлекает из крови все аминокислоты, следовательно, угнетается синтез белка в других тканях, наблюдается отрицательный азотистый баланс, потеря массы тела и кахексия.

В связи с этим опухоль:

а) является ловушкой глюкозы, аминокислот, жирных кислот, азотистых оснований и др.;

б) ведет «крупноблочное строительство» — для синтеза РНК и ДНК использует целые блоки нуклеотидов;

в) синтезирует эмбриональные белки и ферменты (α -ФП (α -фето-протеин), РЭА (раково-эмбриональный антиген), теломераза)

г) изменяется структура плазматических мембран — снижен синтез интегринов, адгезивных молекул;

д) усиливается биосинтез протеаз, коллагеназ, гликозидаз, обеспечивающих инвазивный рост опухоли;

е) усиливается биосинтез ангиогенина — цитокина активирующего рост сосудов.

Межорганный метаболизм кахектичного ракового пациента:

а) рост опухоли сопровождается потреблением большого количества глюкозы и глутамина с секрецией лактата, аланина и аммиака;

б) часть лактата окисляется в хорошо оксигенируемых областях опухоли и используется как дыхательное топливо;

в) другая часть лактата и аланина в печени используется в ГНГ и возвращается в опухоль в виде глюкозы (цикл Кори). Аммиак поступает в ЦСМ или для синтеза новых молекул глутамина, образуемого при протеолизе и метаболизме глюкозы;

г) цикл Кори и глюкозо-аммонийный цикл поставляют энергию опухоли, но в других органах формируется раковая кахексия (рисунок 8.13) [6].

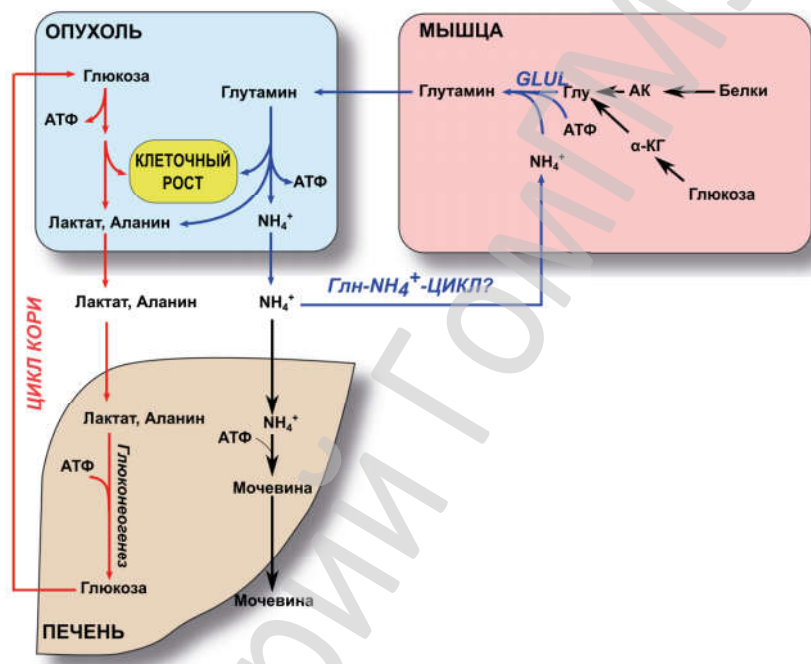


Рисунок 8.13 — Межорганный метаболизм опухоленосителя. GLUL — глутамин-лигаза (глутамин-синтетаза) [6]

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Иванов, В. К.* Медицинские радиологические последствия Чернобыля для населения России: оценка радиационных рисков // В. К. Иванов, А. Ф. Цыб. — М.: Медицина, 2002. — 392 с.

2. Возможные механизмы действия инкорпорированного ^{137}Cs на митохондриальное окисление в мышечной ткани / А. И. Грицук [и др.] // В материалах II Белорусского биохимического конгресса «Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии» Сборник научн. статей, Гродно, 17–18 мая 2018 г. — Минск, 2018. — С. 107–111.

3. *Баджиян, С. А.* Свободные радикалы и проблема здоровья [Электронный ресурс] / С. А. Баджиян // Armenian Innovation Center. — Дата публикации: 28.09.2011. — Режим доступа: http://www.armic.am/modules.php?name=News&file=view&news_id=285 — Дата доступа: 16.09.2020.

4. *Северин, Е. С.* Биохимия [Электронный ресурс] : учебник / под ред. Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 768 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970437629.html>. — Дата доступа: 16.09.2020.

5. *Таганович, А. Д.* Патологическая биохимия / А. Д. Таганович, Э. И. Олецкий, И. А. Котович; под ред. А. Д. Тагановича. — М.: Издательство БИНОМ, 2014. — 448 с.

6. *DeBerardinis, R. J.* Q's next: the diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer / R. J. DeBerardinis, T. Cheng // *Oncogene*. — 2010. — Vol. 29. — P. 313–324.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная литература

1. Биологическая химия: учебник / под ред. А. Д. Тагановича; А. Д. Таганович [и др.]. — 2-е изд., испр. — Минск: Выш. шк., 2016. — 670 с.
2. Схемы и реакции основных метаболических путей: учеб.-метод. пособие / А. И. Грицук [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2018. — 127 с.
3. *Baynes, J. W. Medical biochemistry* / J. W. Baynes, M. H. Dominiczak; ELSEVIER, 2019. — 682 p.

Дополнительная литература

1. Биологическая химия: учеб. пособие / В. В. Лелевич [и др.]; под общ. ред. В. В. Лелевич. — Минск: Выш. шк., 2015. — 380 с.
2. Биологическая химия. Ситуационные задачи и тесты [Электронный ресурс]: учеб. пособие / А. Е. Губарева [и др.]; под ред. А. Е. Губаревой. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 528 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970435618.html>. — Дата доступа: 28.08.2020.
3. Биохимия [Электронный ресурс]: учебник / под ред. Е. С. Северина. — 5-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 768 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970437629.html>. — Дата доступа: 28.08.2020.
4. *Маршалл, В. Дж. Клиническая биохимия* / В. Дж. Маршалл, С. Бангерг. — М.: Бином. Диалект, 2016. — 408 с.
5. Сборник тестовых заданий по биологической химии: учеб.-метод. пособие: в 2 ч. / А. И. Грицук [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2017. — Ч. 1. — 87 с.
6. Сборник тестовых заданий по биологической химии: учеб.-метод. пособие: в 2 ч. / А. И. Грицук [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2019. — Ч. 2. — 76 с.
7. *Солвей, Дж. Г. Наглядная медицинская биохимия* / Дж. Г. Солвей; пер. с англ. А. П. Вабищевский, О. Г. Терещенко; под общ. ред. чл.-кор РАН Е. С. Северина. — 3-е изд. — М.: Гэотар-Медиа, 2017. — 130 с.
8. *Таганович, А. Д. Патологическая биохимия* / А. Д. Таганович, Э. И. Олецкий, И. А. Котович; под общ. ред. А. Д. Тагановича. — М.: БИНОМ, 2016. — 447 с.
9. *Meisenberg, G. Principles of Medical Biochemistry*, 4th ed / G. Meisenberg, W. H. Simmons. — Elsevier, 2017. — 617 с. — Режим доступа: <https://studentconsult.inkling.com/read/meisenberg-principles-medical-biochemistry-4e/principles-of-medical>. — Дата доступа: 28.08.2020.
10. *King, M. W. The Medical Biochemistry Page* / M. W. King. — 2019. — Режим доступа: <https://themedicalbiochemistrypage.org>. — Дата доступа: 28.08.2020.
11. Фармацевтическая химия: учебник / П. А. Безуглый [и др.]; под общ. ред. П. А. Безуголого. — Винница: Нова Книга, 2017. — 465 с.

Электронные базы данных

1. Консультант врача. Электронная медицинская библиотека = Consultant of the doctor. Electronic medical library [Электронный ресурс] / Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», ООО «ИПУЗ». — Режим доступа: <http://www.rosmedlib.ru/>. — Дата доступа: 28.08.2020.
2. Консультант студента. Электронная библиотека медицинского вуза = Student consultant. Electronic library of medical high school [Электронный ресурс] / Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», ООО «ИПУЗ». — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru>. — Дата доступа: 28.08.2020.
3. Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU = Scientific electronic library eLIBRARY.RU [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://elibrary.ru/>. — Дата доступа: 28.08.2020.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список условных обозначений	3
Введение	6
Занятие 1. Предмет и задачи медицинской биохимии. Белки. Нарушение пространственной структуры белка как основа конформационных заболеваний	7
Занятие 2. Патологические состояния, обусловленные нарушением активности ферментов — энзимопатии	27
Занятие 3. Биоэнергетика. Митохондриальная патология. Митохондриальная медицина	43
Занятие 4. Патология углеводного обмена	59
Занятие 5. Биохимические и молекулярные основы развития сахарного диабета	70
Занятие 6. Патология липидного обмена. Понятие о метаболическом синдроме	77
Занятие 7. Биохимия питания. Основы нутрициологии	91
Занятие 8. Основы радиационной биохимии. Биологические эффекты инкорпорированных радионуклидов. Канцерогенез	110
Список рекомендованной литературы	138

Учебное издание

Логвинович Ольга Степановна
Коваль Александр Николаевич
Никитина Ирина Александровна и др.

ОСНОВЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ

Учебно-методическое пособие

Редактор **Т. Ф. Рулинская**
Компьютерная верстка **Ж. И. Цырыкова**

Подписано в печать 05.10.2021.

Формат 60×84¹/₁₆. Бумага офсетная 80 г/м². Гарнитура «Bookman Old Style».
Усл. печ. л. 8,14. Уч.-изд. л. 8,9. Тираж 140 экз. Заказ № 457.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/46 от 03.10.2013.
ул. Ланге, 5, 246000, Гомель.