

Міністерство освіти і науки України  
Вінницький національний технічний університет

**Конспект лекцій  
з дисципліни  
«Біохімія»  
для здобувачів вищої освіти за спеціальністю  
163 – Біомедична інженерія**



Co-funded by the  
Erasmus+ Programme  
of the European Union



Розроблено в рамках проекту “Erasmus+ (CBHE) BioArt “Інноваційна мультидисциплінарна освітня програма зі штучних імплантів для біоінженерії для бакалаврів та магістрів”

Developed in the frame of project “Erasmus+ (CBHE) BioArt “Innovative Multidisciplinary Curriculum in Artificial Implants for Bio-Engineering BSc / MSc Degrees” (586114-EPP- 1-2017-1-ES- EPPKA2-CBHE- JP).

Вінниця  
ВНТУ  
2020

Рекомендовано - кафедрою біомедичної інженерії Вінницького національного технічного університету Міністерства освіти і науки України (протокол засідання кафедри БМІ № 2 від 10.09.2019 р., оновлено, розглянуто зі змінами на засіданні кафедри БМІ № 2 від 09.09.2020 р)

Конспект лекцій з вивчення дисципліни «Біохімія» для студентів спеціальності спеціальності 163 - Біомедична інженерія освітня програма Біомедична інженерія / Уклад. Д. Х. Штофель. – Вінниця : ВНТУ, 2020.

Конспект лекцій призначений для студентів, які навчаються за рівнем бакалавра зі спеціальності 163 - Біомедична інженерія, освітня програма - Біомедична інженерія.

## Лекція №1. Фізико-хімічні основи біохімії

### План:

1. Предмет і основні поняття хімічної термодинаміки.
2. Перший закон термодинаміки. Ентальпія. Екзотермічні і ендотермічні процеси.
3. Закон Гесса – основний закон термохімії. Термохімічні розрахунки для оцінки калорійності продуктів.
4. Другий закон термодинаміки. Ентропія. Термодинамічні потенціали: енергія Гіббса, енергія Гельмгольца. Критерії направленості процесів.
5. Застосування законів термодинаміки до живих систем. Енергетичні супряження в живих системах. Ендергонічні та екзергонічні процеси.

### Конспект лекції

#### 1. Предмет і основні поняття хімічної термодинаміки

*Термодинаміка* – наука про перетворення енергії. Суть термодинамічного підходу – у розгляді лише початкового та кінцевого стану тіл, що взаємодіють, не беручи до уваги шлях, по якому протікає процес і час перетворення.

Термінологія, що використовується в термодинаміці.

*Система* – будь-яка сукупність тіл, відділена від зовнішнього середовища поверхнею розділу (реальною або уявною), всередині якої можливий масо- та теплообмін.

*Ізольованою системою*, називається система, що не обмінюється з навколишнім середовищем ні масою, ні енергією ( $\Delta m = 0$ ,  $\Delta U = 0$ ).

*Закрита система* — обмінюється з навколишнім середовищем тільки енергією ( $\Delta m = 0$ ,  $\Delta U \neq 0$ ).

*Відкрита система* - обмінюється з навколишнім середовищем і масою, і енергією ( $\Delta m \neq 0$ ,  $\Delta U \neq 0$ ). З погляду термодинаміки живий організм

відноситься до відкритих систем.

Стан системи – це сукупність її фізичних і хімічних властивостей; він характеризується *термодинамічними параметрами*. Основні з них: температура  $T$ , тиск  $P$ , об'єм системи  $V$ , загальна маса системи  $m$ , маси хімічних речовин (компонент)  $m_k$ , з яких складається система, або концентрація цих речовин  $C_k$ .

## 2. Перший закон термодинаміки. Ентальпія. Екзотермічні і ендотермічні процеси

Якщо відсутній теплообмін системи із зовнішнім середовищем, то величина внутрішньої енергії залишається постійною. По суті — це закон збереження енергії – *перший закон термодинаміки*. Іншими словами, *енергія не може ні створюватися, ні зникати, вона може тільки переходити з однієї форми в іншу*. Це фундаментальний закон природи.

Теплота, підведена до системи, витрачається на збільшення внутрішньої енергії  $\Delta U$  і здійснення роботи проти зовнішніх сил  $A$ :

$$Q = \Delta U + A$$

– це математичний вираз першого закону термодинаміки. Під внутрішньою енергією мають на увазі загальний її запас. Сюди відносять енергію поступального руху атомів, молекул, іонів, енергію внутрішньо-молекулярних коливань атомів, енергію руху електронів в атомах, внутрішньоядерну енергію й т.д. але без кінетичної й потенційної енергії системи в цілому. Визначити абсолютну величину внутрішньої енергії не представляється можливим. Однак, її зміну при переході з одного стану в інший визначити можна й це є цілком достатнім для вирішення багатьох питань.

В термодинаміці розрізняють *ізохорні* (що протікають при  $V = \text{const}$ ) та *ізобарні* (що протікають при  $P = \text{const}$ ) процеси.

У хімічній практиці частіше використовують ізобарні процеси, коли об'єм системи може збільшитися на  $\Delta V$ , у результаті чого вона виконає роботу,

рівню  $p\Delta V$ . У цьому випадку процес характеризується *ентальпією*, величиною, обумовленою рівнянням  $H = U + p\Delta V$ . Зміна ентальпії дорівнює:  $\Delta H = \Delta U + p\Delta V$ , тобто зміна ентальпії продуктів реакції в порівнянні з ентальпією вихідних речовин в ізобарному процесі чисельно дорівнює підведеному або кількості, що виділилось, теплу:

$$Q_p = H_2 - H_1 = \Delta H.$$

Часто ентальпію називають *теплоємністю системи*.

Ентальпія як і внутрішня енергія характеризує енергетичний стан речовини, але відрізняється від внутрішньої енергії на величину енергії, що затрачена на подолання сил зовнішнього тиску. Вона також визначається станом системи й не залежить від того, яким чином цей стан досягнутий. У газів розходження між  $\Delta H$  і  $\Delta U$  у ході того або іншого процесу може бути досить значним. Це обумовлено тим, що для хімічного процесу, що протікає при постійному тиску, зміна об'єму пов'язане зі зміною числа молей газоподібних речовин:

$$PV = nRT$$

Якщо в реакції витрачається  $n_1$  моль газоподібних речовин і утвориться  $n_2$  моль газоподібних продуктів, то:

$$\Delta(p) = (n_2 - n_1)RT = \Delta nRT$$

Отже,

$$Q_p = \Delta H = \Delta U + \Delta nRT, \quad Q_p = Q_v + \Delta nRT$$

Зіставляючи значення  $Q_p$  і  $Q_v$  неважко помітити, що тепловий ефект реакції, що протікає при постійному тиску, відрізняється від такого при постійному об'ємі на величину роботи розширення. У тому випадку, коли реакція відбувається в конденсованих фазах (твердому або рідкому стані), розходження між  $Q_p$  і  $Q_v$  і, отже, між  $\Delta H$  і  $\Delta U$  незначне.

Рівняння реакцій, для яких крім формул речовин вказуються їхні агрегатні стани й значення будь-якої термодинамічної функції стану,

називаються *термохімічними*. Ентальпію реакції в цьому випадку називають *тепловим ефектом реакції*. Його характеризують не тільки абсолютною величиною, але й знаком. Прийнято вважати, що тепло, поглинене системою (*ендотермічні реакції*) – позитивне ( $\Delta H > 0$ ), а тепло, віддане системою в навколишнє середовище (*екзотермічні реакції*) – негативне ( $\Delta H < 0$ ), тому:  $Q = -\Delta H$ .

Термохімія дозволяє визначати теплові ефекти різних реакцій – *теплоти утворення* хімічних речовин, *теплоти згоряння* речовин, *розчинення*, *плавлення*, *нейтралізації*, *іонізації*, *атомізації* й т.п. Теплові ефекти, віднесені до 1 моля речовини в стандартних умовах (температура 298 К и тиск 101,3 кПа), називаються стандартними. Стандартним станом речовини буде: для твердих речовин – стійка при стандартній температурі поліморфна форма (графіт для вуглецю, ромбічна сірка, білий фосфор і т.п.), для газів – стан ідеального газу при тиску 1 атм, для речовин у розчинах – приймають концентрацію, рівну 1 моль, маючи на увазі при цьому, що розчин має властивості, при його безкінечному розведенні.

### **3. Закон Гесса – основний закон термохімії. Термохімічні розрахунки для оцінки калорійності продуктів**

Наслідком першого закону термодинаміки є *закон Гесса* (основний закон термохімії): *Тепловий ефект хімічних реакцій, що протікають при постійному об'ємі або тиску, не залежить від числа проміжних стадій і визначається тільки початковим і кінцевим станом системи*. Закон Гесса дозволяє обчислити теплові ефекти таких реакцій, які або взагалі не протікають в умовах досліду, або для них неможливе визначення теплового ефекту (у випадку нестабільних сполук).

Із закону Гесса витікає: *тепловий ефект реакції (ентальпія) дорівнює алгебраїчній сумі ентальпій утворення продуктів реакції за винятком алгебраїчної суми ентальпій утворення вихідних речовин враховуючи стехіометричні коефіцієнти (перший наслідок)*.

З теплотами згоряння (мова йде про реакції окислювання киснем) зв'язаний *другий наслідок* із закону Гесса: *Тепловий ефект реакції дорівнює різниці сум стандартної ентальпії згоряння вихідних речовин і стандартних ентальпії згоряння продуктів реакції, взятих у відповідності зі стехіометричними коефіцієнтами.*

Стосовно до живих систем перший закон термодинаміки можна сформулювати так: *всі види робіт в організмі відбуваються за рахунок еквівалентної кількості енергії, що виділяється при окисненні поживних речовин.*

Енергетичний баланс організму вивчається методами *прямої і непрямой калориметрії*. У першому випадку людину поміщають в ізольовану камеру, в якій визначають кількість теплоти, що випромінюється живим організмом при різних процесах нормальної фізіологічної діяльності. Непряма калориметрія заснована на розрахункових методах з використанням дихальних коефіцієнтів і калоричного еквіваленту кисню.

*Дихальний коефіцієнт* – це співвідношення між об'ємом вуглекислого газу, що виділився і об'ємом кисню, що поглинувся. Для вуглеводів він дорівнює 1,0, білків – 0,8, жирів – 0,7.

*Калоричний еквівалент кисню* дорівнює кількості теплоти, що виділяється при витраті 1 л кисню. Для вуглеводів він дорівнює 21,2 кДж, білків – 20,09 кДж, жирів – 19,6 кДж.

Калорійність харчових продуктів також визначається на підставі методів термохімії. У середньому цінність фізіологічного пального – харчових продуктів – трьох основних класів така: вуглеводів – 19,8 кДж/грам, білків – 16,8 кДж/грам, жирів – 37,8 кДж/грам. На підставі даних про калорійність харчових продуктів складаються науково обґрунтовані норми потреб у їжі для окремих груп населення з урахуванням енергетичних витрат. Норми враховують вік, стать людини, характер її праці й побуту, а також кліматичні особливості.

## 4. Другий закон термодинаміки. Ентропія.

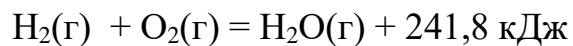
### Термодинамічні потенціали: енергія Гіббса, енергія Гельмгольца.

#### Критерії направленості процесів

Перший закон термодинаміки показує, що при будь-яких процесах енергія не виникає й не зникає, енергетичний баланс хімічного процесу можна розрахувати. Однак, він не дає відповіді на дуже важливе питання: можливий або не можливий самовільний (без дії зовнішніх сил) процес за даних умов, і в якому напрямку він буде протікати.

Тривалий час вважалось, що самовільно протікають тільки процеси, які супроводжуються зменшенням енергії системи (екзотермічні). Однак, відомо багато ендотермічних процесів (наприклад, розчинення деяких солей, розкладання вугільної кислоти й ін.), при яких теплота поглинається.

При невисоких температурах самовільно протікають, в основному, екзотермічні реакції:



Але при високих температурах ця реакція починає йти у зворотній бік: вода розкладається на водень і кисень. Більше того, принцип направленості всіх процесів в бік мінімуму внутрішньої енергії виключає можливість зворотних реакцій, однак такі реакції протікають.

У чому причина певної направленості хімічних процесів? Які фактори визначають той або інший стан хімічної рівноваги?

Відомо, що в механічних системах стійкий стан відповідає мінімуму потенційної енергії. Звідси зрозуміло, чому вода тече зверху вниз, а не навпаки. У той же час, молекули речовин, що входять до складу повітря, розподіляються навколо Землі у вигляді атмосфери багатокілометрової товщини, але не падають на Землю, хоча мінімуму потенційної енергії відповідає найбільш низьке їхнє положення. Розгляньте явище - приклад прояву принципу направленості процесу у бік найбільш ймовірного стану, стану, якому відповідає максимальний безпорядок розподілу часток. Так,

тенденція до мінімуму потенційної енергії змушує молекули повітря падати на Землю, а тенденція до максимальної ймовірності змушує їх безладно розподілятися в просторі. У результаті створюється деякий рівноважний розподіл молекул, що характеризується більш високою їхньою концентрацією біля поверхні Землі й більшим розрідженням по мірі віддалення від неї.

У системі сіль-вода мінімум енергії відповідає кристалічному стану солі. Однак більш ймовірний стан досягається при безладному розподілі солі в рідкій воді. При хімічних реакціях під дією того ж принципу атоми прагнуть з'єднатися в такі молекули, утворення яких приводить до виділення енергії (реакція сполучення). Але більш ймовірними є ті реакції, внаслідок яких зростає число часток (реакції розкладання).

Таким чином, самовільні процеси, що відбуваються без зміни енергетичного стану, відбуваються тільки в напрямку, при якому безпорядок в системі зростає й вона переходить у більш ймовірний стан.

*Мірою невпорядкованості системи або ймовірності є ентропія (S), що представляє собою функцію стану й, отже, її зміна залежить тільки від початкового й кінцевого стану системи, вимірюється в кДж/мол·К. Ентропія S пов'язана з числом рівно вірогідних мікростанів W, якими можна реалізувати даний макростан системи, рівнянням:*

$$S = R/N \ln W,$$

де  $R$  – універсальна газова постійна,  $N$  – число Авогадро.

Найменшу ентропію має ідеально побудована кристалічна речовина при абсолютному нулі. При нагріванні речовини ентропія завжди зростає, зростає вона при переході речовини із кристалічного стану у рідкий й далі в газоподібний. При хімічних процесах ентропія особливо різко змінюється у випадку реакцій, що йдуть зі зміною числа молекул газів: при збільшенні числа газових молекул вона зростає, при зменшенні – падає.

*Суть другого закону термодинаміки: різні види енергії прагнуть перетворитися в теплоту, а теплота, у свою чергу, прагне розсіятися, тобто теплоту не можна повністю перетворити в роботу. Або: усякий самовільний*

процес в ізольованій системі йде зі зростанням ентропії.

Виникає питання, чи можна повернути самовільний процес? Другий закон термодинаміки відповідає, що це можливо шляхом створення еквівалентної або ще більшої неупорядкованості десь в іншому місці. Наочним прикладом є фотосинтез. Двоокис вуглецю, вода й інші поживні речовини поглинаються рослинами, і за їх рахунок синтезуються складні молекули вуглеводів. Цей процес супроводжується зниженням ентропії. Фотосинтез без сонячного світла неможливий. Тому зменшення ентропії при синтезі вуглеводів у рослинах компенсується зростанням ентропії на Сонці.

Багато інших важливих біохімічних процесів також здійснюються зі зменшенням ентропії - утворення біополімерів (білків, нуклеїнових кислот і ін.), активний транспорт іонів через клітинні мембрани й т.п. Але живий організм - відкрита система, а в ній ентропія може зростати, залишатися незмінною або зменшуватися залежно від кількості ентропії, утвореної всередині системи, її притоку ззовні або відтоку в зовнішнє середовище.

Наш Всесвіт теж не є ізольованою системою і тому йому «теплова смерть» – стан максимальної ентропії – не загрожує.

Стійкість будь-якої ізольованої системи визначається співвідношенням ентальпійного й ентропійного факторів. Перший характеризує прагнення системи до впорядкування, тому що цей процес супроводжується зменшенням внутрішньої енергії, другий — показує тенденцію до розвпорядкованості, оскільки такий стан найбільш ймовірний. Так, якщо в процесі  $\Delta S = 0$  – ступінь безпорядку не змінюється, то процес іде у бік зменшення ентальпії, тобто  $\Delta H < 0$ . Якщо ж у процесі не відбувається енергетичних змін ( $\Delta H = 0$ ), то процес іде у бік збільшення ентропії, тобто  $\Delta S > 0$ .

Як критерій самовільності в неізольованих системах була введена нова функція стану, що враховує обидва ці фактори. Ця функція стану для ізобарних процесів називається *енергією Гіббса* (на честь американського фізика Д. У. Гіббса), або *ізобарно-ізотермічний потенціал*,  $G$ :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Для ізохорних процесів вводиться аналогічна *енергія Гельмгольца* або *ізохорно-ізотермічний потенціал, F*:

$$\Delta F = \Delta U - T\Delta S$$

При постійній температурі й тиску самовільно можуть протікати тільки ті процеси для яких зміна енергії Гіббса (або Гельмгольца) негативна. Це одне з формулювань другого закону термодинаміки.

За допомогою довідкових стандартних значень розглянутих вище термодинамічних функцій (ентальпії, ентропії, енергії Гіббса - див. таблицю) на основі закону Гесса можна проводити біоенергетичні розрахунки для великої кількості біохімічних реакцій і прогнозувати їх протікання.

## **5. Застосування законів термодинаміки до живих систем. Енергетичні супряження в живих системах. Ендергонічні та екзергонічні процеси**

Біохімічні реакції, що супроводжуються зменшенням енергії Гіббса ( $\Delta G_{\text{реакції}} < 0$ ), називаються *екзергонічними* й, відповідно, *ендергонічними* при  $\Delta G_{\text{реакції}} > 0$ .

Класична термодинаміка має ряд рис, які вимагають дотримуватись обережності в остаточних висновках стосовно біохімічних систем.

По-перше, класична термодинаміка вивчає ізольовані системи, а в живій природі таких систем немає. По-друге, вона розглядає *рівноважні стани*, для живих організмів же їх стан визначається як *нерівноважний стаціонарний*. Стаціонарний стан зовні схожий на рівноважний тим, що в ньому зберігається сталість тиску, об'єму, температури, концентрації часток. Однак ця сталість забезпечується безперервним, що йде з постійною швидкістю, відтоком речовини із системи й надходженням поживних речовин в неї ззовні.

*Властивість живих систем підтримувати сталість параметрів і незмінність у часі швидкостей надходження й видалення речовин і енергії, що забезпечує стійкість фізіологічних функцій, називається гомеостазом* (із грецького — «залишатися тим самим»). Механізм гомеостазу діє на всіх рівнях

організації живих систем – молекулярному, клітинному, на рівні всього організму й навіть на популяційному рівні.

Стаціонарний стан необхідний біосистемам, тому що в цьому стані вони набувають здатності до *саморегуляції*. Якщо стаціонарний стан досить стійкий, то після відхилення від нього, викликаного зовнішнім впливом, система здатна повернутися у вихідний стан.

Енергетичний обмін у живих системах організований так, що в ньому паралельно йдуть можливі з термодинамічної точки зору реакції (наприклад, розпад вуглеводів до води й вуглекислого газу) і неможливі (біосинтез складних молекул, активний транспорт через клітинні мембрани й т.п.) Це досягається за рахунок енергетичного супряження, переходу процесу в багатостадійний режим і функціонуванням мультиферментних систем.

Механізм *енергетичного супряження* має місце коли можлива з погляду ентропійного критерію реакція поєднується з реакцією, термодинамічно неможливою, і дає для неї енергію. При цьому вільна енергія першої повинна перевищувати споживану енергію другої. Реакції, що спрягаються, повинні мати спільний компонент - фактор, що з'єднує, яким звичайно є *фосфат-іон*.

Переведення біохімічного процесу в *багатостадійний режим* дозволяє живому організму легко регулювати синтез тих або інших речовин у необхідних кількостях. Це пояснюється тим, що різниця вільних енергій початкового й кінцевого стану для кожної з окремих стадій звичайно невелика, а тому ймовірність досягнення рівноваги для неї більше, ніж для процесу в цілому.

Багатостадійність проходження хімічних перетворень у живих системах забезпечується функціонуванням мультиферментних систем, що працює за принципом молекулярного конвеєру – продукт однієї ферментативної реакції служить субстратом для наступного перетворення.

## **Контрольні питання**

1. Наведіть перший закон термодинаміки.

2. Як формулюється перший закон термодинаміки для біологічних систем?
3. Що таке ентальпія? Як вона обчислюється?
4. Наведіть закон Гесса і його наслідки.
5. Що таке калорійність продуктів?
6. Які існують види калориметрії?
7. Наведіть другий закон термодинаміки.
8. Чому ентропія біологічних систем може зменшуватись?
9. Як діють енергетичні супряження в живих системах?
10. Які особливості ендергонічних та екзергонічних процесів?

## Лекція № 2. Хімічні елементи та вода в живому організмі.

### План:

6. Визначення життя. Основні властивості живого та рівні його організації.
7. Хімічний склад живих організмів
8. Вода як універсальний розчинник. Розчини в організмі. Процес розчинення.
9. Розчинність речовин.
10. Кількісні характеристики розчинів.

### Конспект лекції

#### 1. Визначення життя. Основні властивості живого та рівні його організації

Згідно визначення, яке дав вчений-біолог М. В. Волькенштейн (1965 р.), *«живі організми — це відкриті, саморегульовані системи, здатні до самовідтворення, побудовані з біополімерів — білків і нуклеїнових кислот»*. В живих відкритих системах відбувається обмін потоками енергії, інформації, речовини як всередині, так і з зовнішнім середовищем.

Живі організми відрізняються від неживих ознаками, сукупність яких визначає їх життєві прояви.

До основних властивостей живого можна віднести:

1. Хімічний склад. Живі істоти складаються з тих же хімічних елементів, що і неживі, але в організмах є молекули речовин, характерних тільки для живого (нуклеїнові кислоти, білки, ліпіди).

2. Дискретність і цілісність. Будь-яка біологічна система (клітина організм, вид і т. д.) складається з окремих частин, тобто дискретна. Взаємодія цих частин утворює цілісну систему (наприклад, до складу організму входять окремі органи, зв'язані структурно і функціонально в єдине ціле).

3. Структурна організація. Живі системи здатні створювати порядок

хаотичного руху молекул, утворюючи певні структури. Для живого характерна впорядкованість у просторі та часі. Це комплекс складних саморегульованих процесів обміну речовин, що протікають в строго певному порядку, направленому на підтримку постійності внутрішнього середовища — гомеостазу.

4. Обмін речовин і енергії. Живі організми — відкриті системи, в яких відбувається постійний обмін речовиною і енергією з навколишнім середовищем. При зміні умов середовища відбувається саморегуляція життєвих процесів за принципом зворотного зв'язку, направлена на відновлення постійності внутрішньої середовища — гомеостазу. Наприклад, продукти життєдіяльності можуть чинити сильну і строго специфічну гальмуючу дію на ті ферменти, які склали початкову ланку в довгому ланцюзі реакцій.

5. Самовідтворення. Самооновлення. Час існування будь-якої біологічної системи обмежений. Для підтримки життя відбувається процес самовідтворення, пов'язаний з утворенням нових молекул і структур, які несуть генетичну інформацію, що знаходиться в молекулах ДНК.

6. Спадковість. Молекула ДНК здатна зберігати, передавати спадкову інформацію, завдяки матричному принципу реплікації забезпечуючи матеріальну спадкоємність між поколіннями.

7. Мінливість. При передачі спадкової інформації іноді виникають різні відхилення, що приводять до зміни ознак і властивостей у нащадків. Якщо ці зміни сприяють життю, вони можуть закріпитися відбором.

8. Ріст і розвиток. Організми успадковують визначену генетичну інформацію про можливість розвитку тих або інших ознак. Реалізація інформації відбувається під час індивідуального розвитку — онтогенезу. На певному етапі онтогенезу відбувається ріст організму, пов'язаний з репродукцією молекул, клітин та інших біологічних структур. Ріст супроводжується розвитком.

9. Подразнення і рух. Все живе вибірково реагує на зовнішні дії

специфічними реакціями завдяки властивості подразливості. Організми відповідають на впливи рухом. Прояв форми руху залежить від структури організму.

Рівні організації живих систем:

- молекулярно-генетичний рівень;
- клітинний рівень; (тканинний, органний)
- організменний рівень;
- популяційно-видовий рівень;
- біоценотичний рівень;
- біосферний рівень.

## 2. Хімічний склад живих організмів

В живих організмах зустрічається в – основному 40 (з них 27 — важливі) легких хімічних елементів з 92 природних. Органогенні елементи C+O+N+H в сукупності складають до 98 % маси організму. Макроелементи: K, S, P, Cl, Mg, Na, Ca, Fe (0,01—0,1 %); мікроелементи: Zn, Cu, I, F, Mn, B, Br, Co, Mo, Si, Ba, Se, V, Cr, Ni (<0,01 %). Всі вони дуже важливі для функціонування організму. Цікавий факт: якщо видалити весь простір між атомами, з яких побудоване людське тіло, то воно зможе пройти крізь вушко голки.

До складу живих організмів входять такі сполуки:

**Білки** — високомолекулярні полімерні видоспецифічні орг. сполуки, які визначають структуру та життєдіяльність клітини та організму в цілому. Складаються з амінокислот. Виконують різні функції: ферментативну, структурну, рецепторну, транспортну, захисну, рухову, сигнальну (гормональну), енергетичну (1 г білка — 17,2 кДж енергії).

**Жири (ліпіди)** — орг. сполуки гліцерину (триатомний спирт) і високомолекулярних жирних кислот. Нерозчинні у воді. Функції: структурна, енергетична (1 г жиру — 9,2 ккал, або 39 кДж енергії), захисна, термоізолююча, накопичувальна (джерело води: 1 г жиру — 11 г води), регулююча (гормони).

**Вуглеводи** — орг. сполуки Карбону і води: формула  $C_n(H_2O)_n$ . Моносахариди, олігосахариди (від 2 до 10 залишків моносахаридів), полісахариди (глікоген, крохмаль). Функції: сировинна (первинні моносахариди є основою для побудови інших орг. сполук), енергетична (вигідніше за жири в рівному об'ємі кисню, 17,2 кДж з 1 г), захисна (слиз), структурна (опорна).

**Нуклеїнові кислоти** — ДНК і РНК. Мономери — нуклеотиди. Носії генетичної інформації, забезпечують синтез білка. ДНК всіх нині живучих людей умістилося б в одній чайній ложці і буде важити 1,2 г.

**Аденозинтрифосфорна кислота (АТФ)** — молекула з двома макроергічними зв'язками, яка зберігає і переносить енергію в необхідне місце. Вона складається з азотистої основи — аденіну, цукру рибози і трьох залишків фосфорної кислоти. Молекула АТФ дуже нестійка і здатна відщеплювати одну або дві молекули фосфату з виділенням великої кількості енергії (40 кДж), яка витрачається на забезпечення всіх життєвих функцій клітини (біосинтез, трансмембранне перенесення, рух, утворення електричного імпульсу тощо). Синтез АТФ відбувається в мітохондріях. АТФ міститься у всіх РНК.

Неорганічні сполуки: вода (полярна молекула, універсальний розчинник, середовище, властивості клітини, хім. реактив, тепловий режим, транспорт); неорганічні іони беруть участь у обміні речовин, генерації та передачі нервових імпульсів; карбонат кальцію — кістки. Важливість води: втрата 20 % рідини організму викликає смерть., в той час як без 80 % кишківника, 75 % печінки, селезінки, однієї нирки, будь-якого органу з області тазу можна жити.

### **3. Вода як універсальний розчинник. Розчини в організмі. Процес розчинення**

Багато біологічних процесів у живому організмі протікають у розчинах. Розчинником є вода, що складає значну частину маси тіла 60—80 % (45—50

л на 70 кг маси тіла). Особливо багаті водою найбільш інтенсивно функціонуючі органи (легені, нирки, мозок, серце, селезінка й ін.). Вода — обов'язковий компонент життя важливих біохімічних процесів: обмін вуглеводів, ліпідів, білків, біосинтез вищих жирних кислот, перенос живильних речовин і продуктів обміну, підтримка сталості концентрації  $H^+$  середовища, осмотичного тиску, іонної сполуки солей і т.ін.

*Розчини* — однорідні (гомогенні) системи, що складаються із двох і більше компонентів й продуктів їхньої взаємодії. Ці системи можуть бути твердими, рідкими й газоподібними. Для медиків найбільше значення мають рідкі розчини, до яких відноситься плазма крові, сеча, лімфа й інші біологічні рідини, які уявляють собою складні суміші біологічно активних речовин (білків, вуглеводів, солей і т. ін.). У розчинах речовини можуть перебувати в різних ступенях дисперсності. Величина частинок є дуже важливою ознакою, яка обумовлює багато фізико-хімічних властивостей розчинів. За величиною частинок розчини поділяють на:

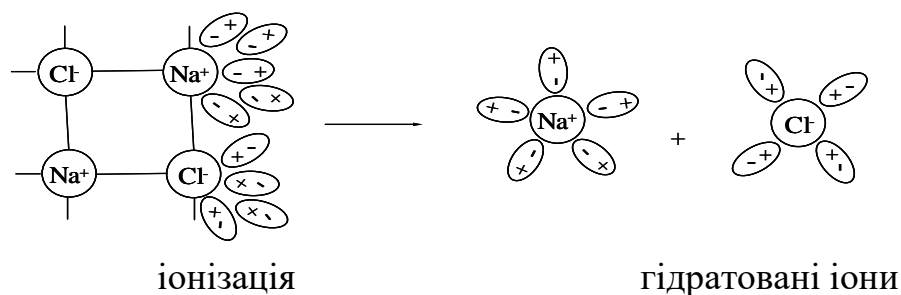
а) істинні розчини (розмір частинок менше  $10^{-9}$  м), які можуть бути іонними або молекулярними залежно від того, дисоціює розчинена речовина на іони чи залишається у вигляді молекул;

б) колоїдні розчини (розмір частинок від  $10^{-7}$  -  $10^{-9}$  м), які є гетерогенними, мають поверхню розподілу між фазами — розчиненою речовиною (дисперсною фазою) і розчинником (дисперсійним середовищем).

Розчини високомолекулярних сполук (ВМС), мають властивості як істинних, так і колоїдних розчинів (розмір частинок більше  $10^{-9}$  м).

В області будови розчинів існує дві теорії: фізична й хімічна. Відповідно до фізичної теорії розчинник (вода) розглядався як індиферентне середовище, в якому рівномірно розподіляються молекули розчиненої речовини. При цьому ніякої взаємодії між розчинником і розчиненою речовиною не відбувається, що характерно для ідеальних розчинів, які нескінченно розведені. Ця теорія відносила розчини до механічних сумішей.

У реальних розчинах між розчиненою речовиною й розчинником має місце взаємодія, про що свідчать теплові ефекти й зміни (звичайне зменшення) об'єму. Це мало відображення в хімічній теорії (сольватної теорії) розчинів, розробленої Д. І. Менделєєвим (1887 рік). Відповідно до цієї теорії в процесі розчинення істотну роль відіграють як хімічні процеси, пов'язані із взаємодією розчиненої речовини з розчинником, так і фізичні, пов'язані з дифузією й рівномірним розподілом однієї речовини в середовищі іншої. У результаті взаємодії розчинника з розчиненою речовиною утворюються нестійкі сполуки, які називають сольватами (якщо розчинником є вода, то сполуки називають гідратами), що знаходяться в стані рівноваги. Розпад речовини на гідратовані іони пов'язаний з явищем іонізації (народженням іонів). Розглянемо схему механізму розчинення твердих речовин на прикладі розчинення хлориду натрію у воді. Хлорид натрію утворений іонним зв'язком. При його розчиненні диполі води орієнтуються навколо молекул солі в такий спосіб: негативні полюси диполів води повертаються убік позитивного центра молекули NaCl, а позитивні полюси — убік негативного центра молекули й притягують їх до себе. За рахунок цього хімічний зв'язок слабшає між іонами в молекулі, а потім розривається — утворюються позитивно й негативно заряджені іони. З останніми молекули води вступають в іон-дипольну взаємодію, утворюючи гідратовані іони (гідрати). Схему механізму розчинення можна представити так:



Таким чином, розчинення — це сукупність двох процесів: сольватації (гідратації) і іонізації.

З погляду термодинаміки процес розчинення твердих речовин у воді може бути представлений рівнянням:

$$\Delta H_{\text{розч.}} = \Delta U_{\text{кр.р.}} + \Delta H_{\text{гідр.}},$$

де  $\Delta H_{\text{розч.}}$  — молярна ентальпія розчинення;  $\Delta U_{\text{кр.р.}}$  — енергія кристалічної решітки;  $\Delta H_{\text{гідр.}}$  — ентальпія гідратації.

Залежно від співвідношення величин  $\Delta U_{\text{кр.р.}}$  і  $\Delta H_{\text{гідр.}}$  процес розчинення може бути ендотермічним або екзотермічним. Руйнування структури розчиненої речовини, який супроводжується розривом хімічних зв'язків, вимагає витрат енергії. Утворення сольватованих (гідратованих) іонів супроводжується виділенням енергії. Загальний енергетичний ефект залежить від співвідношення виділеної й поглинутої енергії. Якщо витрати енергії на руйнування розчиненої речовини ( $\Delta U_{\text{кр.р.}}$ ) більші за енергію, що виділилася при гідратації ( $\Delta H_{\text{гідр.}}$ ), то процес протікає ендотермічно. Якщо навпаки ( $\Delta U_{\text{кр.р.}} < \Delta H_{\text{гідр.}}$ ), то процес протікає екзотермічно.

#### 4. Розчинність речовин

*Розчинність* — це мимовільний процес, що відбувається за рахунок дифузії молекул або іонів із області з більшою концентрацією в область із меншою концентрацією, у результаті чого речовина рівномірно розподіляється в повному обсязі розчину.

Розчинність — двунаправлений процес: тверда речовина переходить у розчин, а розчинена речовина — у тверду фазу. Отже, одночасно відбувається й розчинення, і кристалізація. Ці процеси із часом протікають із однаковими швидкостями — настає динамічна рівновага. При цьому концентрація розчиненої речовини при незмінних умовах залишається постійною. Такий стан називається станом насичення, а розчин — насиченим.

Здатність різних речовин розчинятися в тім або іншому розчиннику називається розчинністю. Мірою розчинності слугує концентрація насиченого розчину за даною температурою та тиском. До процесу розчинення застосуємо принцип рухливої рівноваги Ле-Шательє.

Розчинність залежить від температури, зовнішнього тиску, природи речовини, що розчиняється, і розчинника.

Процес розчинення газу у воді, будучи мимовільним, завжди екзотермічний. Для зсуву рівноваги у бік екзотермічного процесу відповідно до принципу Ле-Шательє температуру необхідно знизити. Отже, розчинність газу у воді зі зниженням температури збільшується.

На розчинність газів у рідині впливає тиск, тому що утворення розчину супроводжується значним зменшенням об'єму системи. Відповідно до цього розчинність газів у рідинах помітно зростає по мірі збільшення тиску. Кількісна залежність встановлена **законом У. Генрі:**

*Маса газу, що розчинився при постійній температурі в даному об'ємі рідини, прямо пропорційна його парціальному тиску над розчином:*

$$m = K \cdot p$$

Чисельне значення коефіцієнта  $K$  відображає залежність розчинності від природи газу, розчинника й температури. Закон дійсний за умов відносно невеликого парціального тиску і у випадку розведених розчинів, тобто коли й газ, і розчин за властивостями наближаються до ідеального.

Парціальним тиском ( $p$ ) називається частина загального тиску, що доводиться на частку кожного газу в газовій суміші. Відповідно до *закону парціальних тисків Дальтона*, загальний тиск газової суміші дорівнює сумі парціальних тисків. Із закону Генрі витікає, що якщо підтримуючи постійну температуру, підвищити парціальний тиск, то буде відбуватися поглинання (абсорбція) газу доти, доки не буде отриманий розчин із більш високою концентрацією газу в рідині. Якщо над розчином пропускати газову суміш із більш низьким парціальним тиском, то буде відбуватися виділення частини газу з рідини доти, доки його концентрація в розчині не буде відповідати наявному більш низькому парціальному тиску газу. Кожній температурі відповідає певна розчинність у даній рідині й відповідний їй парціальний тиск газу над розчином, що відповідає умовам рівноваги газ — насичений розчин.

Знання законів Генрі й Дальтона дозволяє правильно аналізувати газообмін в організмі людини, який відбувається в основному в легенях. Парціальний тиск кисню й диоксида карбону у вдихуваному повітрі становлять відповідно в середньому 212,2 і 0,3 ГПа. У видихуваному повітрі вміст кисню нижче ( $P_{O_2} = 162,5$  ГПа), а диоксида карбону — вище ( $P_{CO_2} = 40,5$  ГПа) — це розходження й спричиняє газообмін у легенях, який полягає в наступному. У процесі зовнішнього подиху кисень зв'язується з гемоглобіном і у формі оксигемоглобіну доставляється з потоком крові до капілярів клітини, де відбувається його поглинання й використання для окислювання низькомолекулярних продуктів. Одночасно утворюється диоксид карбону і з потоком крові направляється в легені й там, дифундує через стінки альвеол, надходить до складу видихуваного повітря. Дифундування кисню в зазначеному напрямку можливо за рахунок того, що його парціальний тиск в альвеолярному повітрі (143,9 ГПа) вище, ніж його рівноважний парціальний тиск над венозною кров'ю (80-87 ГПа).

Перехід диоксида карбону із венозної крові в газовий простір альвеол можливий завдяки тому, що його рівноважний парціальний тиск над венозною кров'ю (61 ГПа) вище, ніж парціальний тиск цього газу в альвеолярному повітрі (52,7 ГПа).

Закон Генрі дозволяє розкрити причини так званих декомпресійних захворювань, наприклад, (кесонної хвороби) у водолазів, льотчиків та інших.

*Кесонна хвороба* — це патологія, яка пов'язана з порушенням вмісту розчинних газів у крові.

На великих глибинах, де зовнішній тиск зростає, збільшується розчинність газів у крові. За умов швидкого підйому із глибини тиск різко падає й розчинність газів різко зменшується. Вони виділяються у вигляді пухирців і закупорюють судини. Особливо важкі наслідки спостерігаються при закупорці судин мозку.

Розчинність газів у рідині залежить як від природи газу, так і від природи розчинника, підкоряючись емпіричному правилу «подібне розчиняється в подібному».

Розчинність газів у рідині відбувається внаслідок або ван-дер-ваальсової, або хімічної рівноваги. Перший випадок характеризується незначною розчинністю (наприклад, азот, кисень у воді), тому що молекули газу не мають властивість полярності, а вода є диполем. Другий випадок характеризується високою розчинністю. З водою взаємодіють такі газоподібні речовини, як  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  і т.ін., ці молекули мають властивість полярності. Продукт реакції з водою зазначених речовин є електролітом, що потім піддається у воді електролітичній дисоціації. Розчинність газів у розчинах електролітів менша, ніж у чистому розчиннику.

Відомий російський фармаколог Іван Михайлович Сеченов (1859 р.) встановив взаємозв'язок між розчинністю газу в чистій воді ( $S_0$ ) і в розчині електроліту ( $S$ ) й концентрацією речовини в електроліті ( $z$ ):

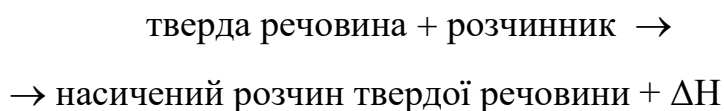
$$S = S_0 e^{-kc} \quad (\text{закон Сеченова})$$

де  $e$  — основа натурального логарифму,  $K$  — константа, значення якої залежить від природи електроліту й розчиненого газу та температури.

Виходячи з математичного вираження закону Сеченова можна зробити висновок, що розчинність газів у водяних розчинах електролітів тим менша в порівнянні з розчинністю в чистій воді, чим більша концентрація розчинених у ній солей.

Закон І.М. Сеченова дозволяє пояснити, чому розчинність  $\text{CO}_2$  і  $\text{O}_2$  у плазмі крові менша, ніж у воді. У плазмі крові міститься велика кількість компонентів, у тому числі й іонів солей, на гідратацію яких витрачається частина води плазми крові, тому об'єм води в плазмі, у якій можуть розчинитися зазначені гази, як би зменшується. Тому розчинність кисню й диоксиду карбону в плазмі крові менша, ніж у воді. Вміст компонентів у плазмі крові у відомих межах може змінюватися, що також впливає на розчинність у ньому  $\text{O}_2$  і  $\text{CO}_2$ .

Розчинність твердих речовин істотно залежить від температури. Як було зазначено вище, процес розчинення більшості твердих речовин ендотермічний. У стані насичення (динамічній рівновазі) процес розчинення твердої речовини у воді можна представити наступним рівнянням:



До цієї рівноважної системи застосуємо принцип Ле-Шательє, відповідно до якого за умов підвищення температури рівновага зсувається у бік ендотермічної реакції, тобто у бік утворення насиченого розчину. Отже, розчинність більшості твердих солей з підвищенням температури зростає, а зі зниженням температури — зменшується.

Розчинність твердих речовин практично не залежить від тиску, оскільки об'єм системи при розчиненні змінюється незначно. Відповідно до принципу Ле-Шательє, якщо об'єми вихідних речовин дорівнюють об'ємам продуктів реакції, то зміна тиску не впливає на рівновагу системи.

Таким чином, розчинність більшості твердих речовин залежить від температури й не залежить практично від тиску.

Розчинність твердих речовин також підкоряється правилу «подібне розчиняється в подібному». Для процесів розчинення багатьох твердих речовин велике значення має полярність молекул. Всі молекули, утворені іонним зв'язком ( $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і ін.), є полярними (диполями). Полярними є також молекули, що утворені неметалами з різною електронегативністю й що мають асиметричну будову. При цьому слід зазначити, що полярність молекул, утворених ковалентним зв'язком, виражена в порівнянні з іонними зв'язками менше. Для оцінки ступеня полярності молекул використовують величину діелектричної проникності. Чим полярність молекул більша, тим менша енергія витрачається на руйнування структури розчиненої речовини, й тим розчинність більша.

Розчинність залежить від природи розчинника: чим вище діелектрична проникність рідин, тим кращим розчинником вона є. Наприклад, сеча, біла речовина мозку, кров мають діелектричну проникність більшу, ніж вода. Отже, біологічні рідини й тканини є гарними розчинниками для біологічно активних сполук, молекули яких полярні.

Здатність твердих речовин розчинятися залежить від полярності їхніх власних молекул. Гарна розчинність, наприклад, у глюкози, що не утворює іонів, обумовлена наявністю в її молекулах великої кількості полярних спиртових груп. Рідини різної природи змішуються одна з одною у різних співвідношеннях: практично не розчинні (вода й масло), обмежена розчинність (вода й фенол), необмежена розчинність (вода й спирт).

Розчинення рідини в рідині залежить насамперед від природи розчинника й речовини, що розчиняється.

Так, необмежена розчинність спирту у воді пояснюється тим, що молекули спирту й води перебувають у вигляді асоціатів. При розчиненні відбувається руйнування асоціатів як спирту, так і води. У розчині, що утворюється, виникають нові асоціати, які складаються з молекул спирту й води.

Молекули, що містять велику кількість неполярних вуглеводневих угруповань, наприклад жирні кислоти, фенол і ін. не здатні «притягувати» до себе значну кількість молекул води й руйнувати її асоціати. За рахунок цього взаємна розчинність малополярних молекул, наприклад фенолу у воді обмежена, й відбувається розшарування розчиненої речовини і розчинника відповідно до їх питомої ваги. При цьому в шарі фенолу міститься небагато води, а в шарі води — деяка кількість фенолу, пропорційна їхній взаємній розчинності за даною температурою.

Малополярні, неполярні молекули розчиненої речовини добре розчиняються в розчинниках, молекули яких малополяризовані або неполярні. Наприклад, жирні кислоти краще розчиняються в ефірі або бензолі.

При додаванні до системи розчинна рідина, що є розчинником третьої речовини, яка розчинна в обох рідинах, розподіляється між ними й характеризується константою (коефіцієнтом) розподілу в системі певних двох рідин:

$$K_{розч.} = C_{розч.рід.} / C_{розч-ка.} ,$$

де  $C_{розч.рід.}$  — концентрація розчинної рідини, що у шарі (моль/л);  $C_{розч-ка.}$  — концентрація розчинника в шарі (моль/л).

У розведених багатокомпонентних розчинах розподіл кожної розчиненої речовини між двома фазами визначається індивідуальним коефіцієнтом розподілу, величина якого не залежить від наявності інших речовин. Це положення сформульоване Нернстом і називається законом.

Закон розподілу дотримується за умов проникнення речовин через клітинні мембрани, що може здійснюватися за двома механізмами:

- 1) шляхом розчинення в ліпідному шарі мембрани;
- 2) через пори мембрани.

За першим механізмом йде проникнення водонерозчинних неполярних сполук — ліпідів, жирних кислот і т.ін. Ці речовини добре розчинні в подібному собі неполярному середовищі — ліпідах — і погано розчинні у водному середовищі. Їхнє нагромадження в ліпідному шарі мембрани підкоряється закону розподілу. Розчинення рідин одна в одній звичайно супроводжується поглинанням енергії, тому найчастіше з підвищенням температури взаємна розчинність зростає.

За умов розчинення рідини в рідині об'єм змінюється незначно (найчастіше убик скорочення). Тому відповідно до принципу Ле-Шательє тиск незначно впливає на величину взаємної розчинності.

## 5. Кількісні характеристики розчинів

Кількісний склад розчинів виражається різними способами.

*Масова частка* (масова відсоткова концентрація) — відношення маси розчиненої речовини до загальної маси розчину.

$$\omega(x) = \frac{m(x)}{m(p\text{-ну})} \cdot 100\% , \quad \text{або} \quad \omega(x) = \frac{m(x)}{m(x) + m(p\text{-ка})} \cdot 100\% ,$$

де  $m(x)$  — маса розчиненої речовини  $x$ , г, кг;  $m(p\text{-ну})$  — маса розчину, тобто сума маси розчиненої речовини й розчинника – г, кг.

*Молярна концентрація* — число молів розчиненої речовини в одиниці об'єму, моль/л,

$$C(x) = \frac{m(x)}{M(x) \cdot V(p\text{-ну})} , \quad m(x) = C(x) \cdot M(x) \cdot V(p\text{-ну}) ,$$

де  $M(x)$  — молярна маса розчиненої речовини, г/моль;  $V(p\text{-ну})$  — об'єм розчину, л, дм<sup>3</sup>.

*Молярна концентрація (моляльність)* — відношення молів розчиненої речовини до маси розчинника, моль/кг,

$$b(x) = \frac{m(x)}{M(x) \cdot m(p\text{-ка})} , \quad m(p\text{-ка}) = m(p\text{-ну}) - m(x) ,$$

*Молярна частка* — відношення кількості молів даного компоненту системи до загальної кількості молів всіх компонентів розчину

$$N(x) = \frac{\nu(x)}{\sum \nu(X_i)} , \quad \nu(x) = \frac{m(x)}{M(x)}$$

для двохкомпонентної системи:

$$N(x) = \frac{\nu(x)}{\nu(x) + \nu(p\text{-ка})} ,$$

де  $\nu(x)$  — кількість речовини  $x$ , моль;  $\nu(p\text{-ка})$  — кількість речовини розчинника, моль.

*Молярна концентрація еквівалента* — кількість речовини еквівалента в одиниці об'єму розчину, моль/л,

$$C(e) = \frac{m(x)}{M(e) \cdot V(p-ny)}$$

де  $M(e)$  — молярна маса еквівалента розчиненої речовини, г/моль.

*Закон еквівалентів*: маси реагуючих одна з однією речовин ( $m_1, m_2, \dots$ ) пропорційні їхнім еквівалентам (екв<sub>1</sub>, екв<sub>2</sub>, ...):

$$m_1/m_2 = \text{екв}_1/\text{екв}_2$$

*Еквівалент* — це якась реальна або умовна частка речовини, що у даній кислотно-основній реакції еквівалентна одному іону гідрогену або одному електрону в окисно-відновних реакціях.

При цьому під реальною часткою розуміються молекули, іони, вільні радикали й т.ін.

Одиницею хімічного еквівалента є моль.

Молярна маса еквівалента розчиненої речовини

$$M(e) = M(x) \cdot f(x),$$

де  $f(x)$  — фактор еквівалентності.

*Фактор еквівалентності* — число, що позначає яка частка реальної частини речовини  $x$  еквівалентна одному іону гідрогену в даній кислотно-основній реакції або одному електрону в даній окисно-відновній реакції.

При нейтралізації (кисотно-основної реакції):

$$f_{e(k-mu)} = 1/n(H^+)$$

де  $n(H^+)$  — кількість іонів гідрогену в кислоті;  $f_e$  — фактор еквівалентності кислоти.

Наприклад,

$$f_e(H_2SO_4) = \frac{1}{2}.$$

$$f_{e(осн.)} = 1/n(OH^-)$$

де  $f_e(осн.)$  — фактор еквівалентності основи,  $n(OH^-)$  — кількість гідроксильних груп основи.

Наприклад,

$$f_e(NaOH) = \frac{1}{1} = 1.$$

$$f_{e(солі.)} = 1/B_{Me} \cdot n_{ат. Me},$$

де  $f_e(солі.)$  — фактор еквівалентності солі,  $B_{Me}$  — валентність металу,  $n_{ат. Me}$  — кількість атомів металу.

Наприклад,

$$f_e(Fe_2(SO_4)_3) = \frac{1}{3} \cdot 2 = \frac{1}{6}$$

*Титр розчину* — маса розчиненої речовини в одному мілілітрі розчину, г/мл.

$$T(x) = m(x)/1000;$$

$$T(x) = C_e(x)M_e(x)/1000$$

Формули для перерахунку:

– масової відсоткової концентрації в молярну концентрацію моль/л,

$$C(x) = \frac{10 \cdot \omega(x) \cdot \rho(p - \text{ну})}{M(x)}$$

де  $\omega(x)$  — масова відсоткова концентрація, %;  $\rho(p - \text{ну})$  — густина розчину, г/мл

– масової відсоткової концентрації в молярну концентрацію еквівалента

$$C_e(x) = \frac{10 \cdot \omega(x) \cdot \rho(p - \text{ну})}{M_e(x)}$$

– молярної концентрації в молярну концентрацію еквівалента

$$C_e(x) = C(x)/f_e(x).$$

### Контрольні питання

1. Як відрізнити живу систему від неживої?
2. Наведіть рівні організації живого.
3. Яких хімічних елементів найбільше в організмі?
4. Які класи речовин характерні для живих організмів?
5. Наведіть функції води в живих організмах.
6. Поясніть процес розчинення речовин.
7. Які величини характеризують розчини?.

## **Лекція № 3. Будова біоорганічних речовин та взаємодія між ними.**

### **План:**

11. Теорія будови органічних сполук.
12. Класифікація органічних сполук
13. Перебіг біохімічних реакцій.
14. Основні поняття хімічної кінетики.
15. Залежність швидкості хімічної реакції від концентрації. Молекулярність і порядок реакції. Кінетичні рівняння реакцій.
16. Залежність швидкості реакції від температури. Правило Вант-Гоффа. Рівняння Арреніуса.
17. Вплив природи хімічних сполук на швидкість їх перетворення. Поняття про кінетику складних реакцій.
18. Каталізатори та механізм їх дії. Ферментативний каталіз.

### **Конспект лекції**

#### **1. Теорія будови органічних сполук**

Основні положення теорії будови органічних речовин:

1. У молекулах атоми сполучені один з одним у певній послідовності відповідно до їх валентності. Порядок зв'язку атомів називається хімічною будовою.

2. Властивості речовини залежать не лише від того, які атоми і в якій кількості входять до складу її молекули, а й від того, в якому порядку вони сполучені між собою, тобто від хімічної будови молекули.

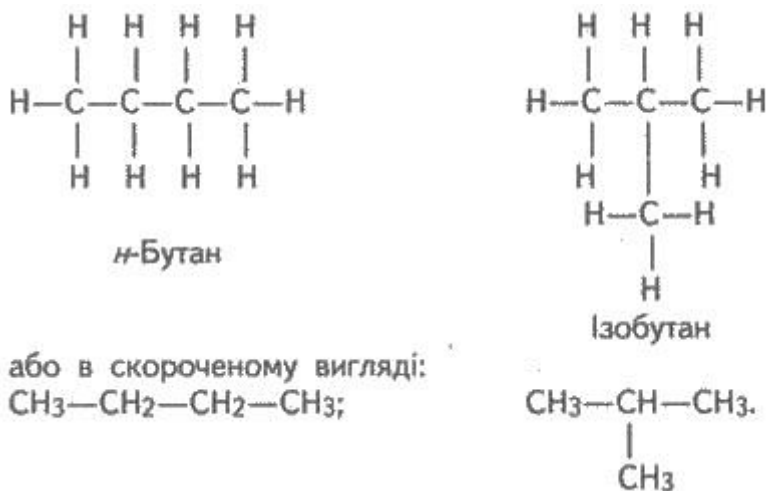
3. Атоми або групи атомів, що утворили молекулу, взаємно впливають один на одного, від чого залежить реакційна здатність молекули.

Пояснимо ці положення. До О. М. Бутлерова вважалось неможливим пізнати будову молекули, тобто порядок хімічного зв'язку між атомами. Багато вчених навіть заперечували реальність атомів і молекул. Бутлеров спростував ці погляди. Він виходив з правильних матеріалістичних та

філософських уявлень про реальність існування атомів і молекул, про можливість пізнання хімічного зв'язку атомів у молекулі. Він показав, що будову молекули можна встановити експериментально, вивчаючи хімічні перетворення речовини. І навпаки, знаючи будову молекули, можна вивести хімічні властивості сполуки.

Теорія хімічної будови враховує особливості елемента карбону. Вивчення будови органічних сполук залишається основним завданням органічної хімії і у наш час. Для цього крім хімічних широко застосовуються фізичні методи дослідження, такі, як спектроскопія, ядерний магнітний резонанс, мас-спектрометрія, визначення електричних моментів диполів, рентгено- та електроннографія.

Наявність ізомерів впливає з основних положень теорії будови органічних сполук. Великим успіхом О. М. Бутлерова було передбачення двох ізомерів бутану на основі теорії будови (у вуглеводнях, починаючи з бутану, можливий різний порядок сполучення атомів у молекулах). Наприклад, був добутий ізобутан, який від нормального бутану відрізняється будовою молекули, хоча обидва мають емпіричну формулу  $C_4H_{10}$



Отже, теорія хімічної будови пояснює різноманітність органічних сполук. Вона зумовлена здатністю чотиривалентного вуглецю утворювати вуглецеві ланцюги та кільця, сполучатися з атомами інших елементів, а також наявністю ізомерії.

В теорії хімічної будови велика увага приділяється Взаємному впливу атомів та груп атомів у молекулі. Він спостерігається у молекулі будь-якої речовини (органічної чи неорганічної). Пояснимо це на прикладі таких сполук:  $\text{NaOH}$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ,  $\text{NO}_2\text{—OH}$  (нітратна кислота),  $\text{SO}_2(\text{OH})_2$  (сульфатна кислота). Всі вони містять гідроксильну групу (гідроксо- або оксигрупу)  $\text{OH}$ . А втім, у водному розчині властивості речовин послідовно змінюються:  $\text{NaOH}$  — сильна основа,  $\text{Al}(\text{OH})_3$  — амфотерний гідроксид,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  — практично нейтральна речовина, нітратна і сульфатна кислоти утворюють іони  $\text{H}^+$ . Причина різного хімічного характеру групи  $\text{OH}$  зумовлена впливом сполучених з нею атомів і груп. Зі зростанням неметалічних властивостей центрального атома послаблюється дисоціація за типом основи і зростає дисоціація за типом кислоти (в ряду  $\text{Na}$ ,  $\text{Al}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ).

Взаємно впливати один на одного можуть і атоми, безпосередньо не зв'язані між собою. Наприклад, різна реакційна здатність хлору в хлоретані  $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{Cl}$  і хлоретилені  $\text{CH}_2=\text{CH—Cl}$  зумовлена різним впливом на атом хлору етильної ( $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—}$ ) та вінільної ( $\text{CH}_2=\text{CH—}$ ) груп. У молекулі хлоретану хлор досить реакційноздатний, у молекулі хлоретилену — інертний.

Велика заслуга у встановленні закономірностей взаємного впливу атомів у молекулі належить учню О. М. Бутлерова В. В. Марковникову.

Із сучасного погляду основні положення теорії будови потребують деякого доповнення — вказівок щодо просторової та електронної будови. Тоді у пункті 2 основних положень теорії будови слід підкреслити, що властивості органічних сполук визначаються складом їх молекул, а також їх хімічною, просторовою та електронною будовою.

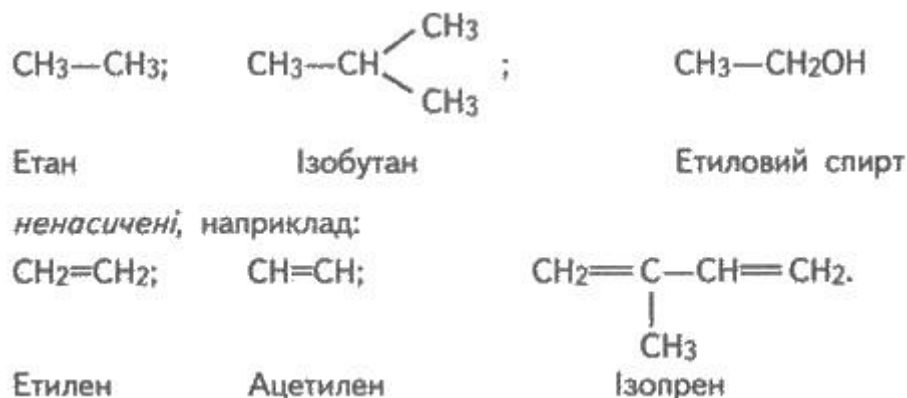
Теорія хімічної будови О. М. Бутлерова є найважливішою частиною теоретичного фундаменту органічної хімії. За значенням її можна порівняти з періодичною системою елементів Д. І. Менделєєва. Подібно до останньої, вона дала змогу систематизувати величезний практичний матеріал, заздалегідь передбачити існування нових речовин, а також вказати шляхи їх добування.

Це забезпечило небачені успіхи органічного синтезу. І у наш час теорія хімічної будови є керівною основою всіх досліджень з органічної хімії.

## 2. Класифікація органічних сполук

Усі органічні сполуки залежно від природи вуглецевого скелета можна розділити на ациклічні та циклічні.

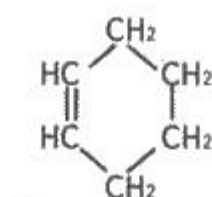
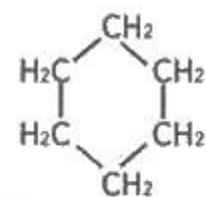
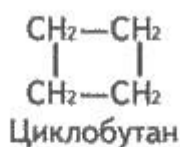
Ациклічні (нециклічні, ланцюгові) сполуки називають також жирними, або аліфатичними. Ці назви пов'язані з тим, що одними з перших добре вивчених сполук такого типу були природні жири. Серед ациклічних сполук розрізняють насичені, наприклад:



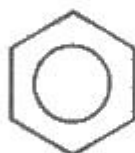
Серед циклічних сполук звичайно виділяють карбоциклічні, молекули яких містять кільця з атомів карбону, і гетероциклічні, кільця яких містять крім карбону атоми інших елементів (оксигену, сульфуру, нітрогену та ін.).

Карбоциклічні сполуки поділяються на аліциклічні (насичені і ненасичені), подібні за властивостями до аліфатичних, і ароматичні, які містять бензольні кільця.

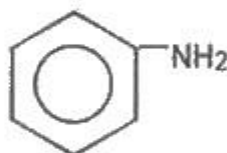
Приклади сполук:  
аліциклічних:



ароматичних:



Бензол

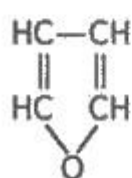


Анілін



Нафталін

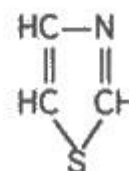
гетероциклічних:



Фуран



Піридин



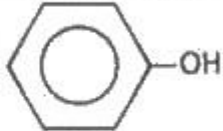
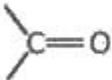
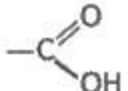
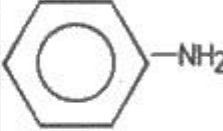
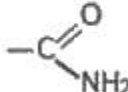
Тіазол

Розглянуту класифікацію органічних сполук можна представити у вигляді короткої схеми:

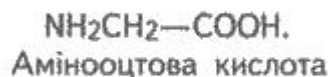
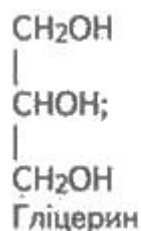


До складу багатьох органічних сполук крім вуглецю та водню входять і інші елементи, причому у вигляді функціональних груп — груп атомів, які визначають хімічні властивості даного класу сполук. Наявність цих груп дає змогу поділити зазначені вище типи органічних сполук на класи і полегшити їх вивчення. Деякі найбільш характерні функціональні групи і відповідні їм класи сполук наведено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Класи органічних сполук

Функціональна група	Назва групи	Клас сполук	Приклад
—OH	Гідроксил	Спирти	$C_2H_5OH$ Етиловий спирт
		Феноли	 Фенол
	Карбоніл	Альдегіди	$CH_3-C(=O)H$ Оцтовий альдегід
		Кетони	$CH_3-C(=O)-CH_3$ Ацетон
	Карбоксил	Карбонові кислоти	$CH_3-C(=O)OH$ Оцтова кислота
—NO <sub>2</sub>	Нітрогрупа	Нітросполуки	$CH_3NO_2$ Нітрометан
—NH <sub>2</sub>	Аміногрупа	Первинні аміни	 Анілін
	Амідогрупа	Аміди кислот	$CH_3-C(=O)NH_2$ Амід оцтової кислоти
—F, —Cl, —Br, —I	Галогени	Галогенопохідні	$CH_3Cl$ Хлористий метил

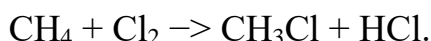
До складу молекул органічних сполук можуть входити дві чи більше однакових або різних функціональних груп, наприклад:



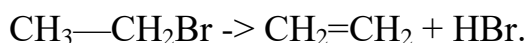
### 3. Перебіг біохімічних реакцій

Розглянемо види органічних реакцій. Ці реакції, як і неорганічні, звичайно поділяють на три основних типи.

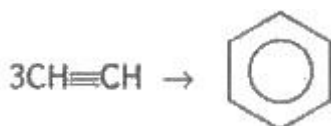
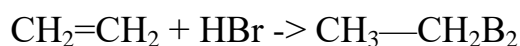
1. Реакції заміщення, наприклад:



2. Реакції відщеплення, наприклад:



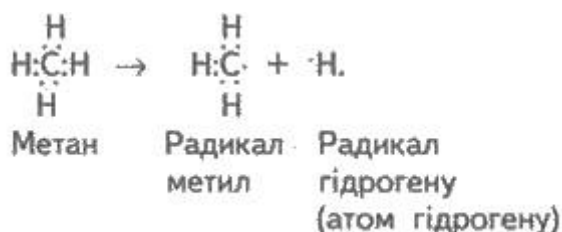
3. Реакції приєднання, наприклад:



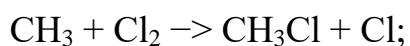
До реакцій приєднання належать реакції полімеризації. Особливим типом органічних реакцій є реакції поліконденсації.

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

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

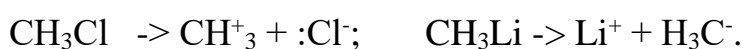


Радикали, що утворюються, взаємодіють з молекулами, які містяться в реакційній суміші, або один з одним:



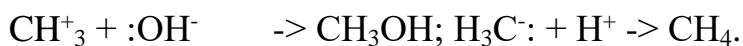
За радикальним механізмом відбуваються реакції, у яких розриву підлягають зв'язки малої полярності (C—C, C—H, N—N) при високій температурі, під дією світла або радіоактивного випромінювання.

2. Якщо під час розриву зв'язку спільна електронна пара залишається біля одного атома, то утворюються іони — катіон та аніон. Такий механізм називається іонним, або гетеролітичним. Він приводить до утворення органічних катіонів або аніонів:



Хлористий Метил- Хлорид- Метил- Літій- Метил-  
метил катіон аніон літій катіон аніон

Органічні іони вступають у подальші перетворення. При цьому катіони взаємодіють з нуклеофільними (“що люблять ядра”) частинками ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$  та інші аніони кислот тощо), а органічні аніони — з електрофільними (“що люблять електрони”) частинками ( $\text{H}^+$ , катіони металів, галогени тощо), наприклад:



Нуклео-	Електро-
фільна	фільна
частинка	частинка

Іонний механізм спостерігається, як правило, при розриві полярного ковалентного зв'язку (карбон — галоген, карбон — кисень та ін.).

Органічні іонні частинки подібні до іонів у неорганічній хімії — мають відповідні заряди. Проте вони і різко відрізняються: іони неорганічних сполук існують у водних розчинах постійно, а органічні іонні частинки виникають тільки у момент реакції. Тому в багатьох випадках правильніше говорити не про вільні органічні іони, а про сильно поляризовані молекули.

#### 4. Основні поняття хімічної кінетики

Процеси обміну речовин являють собою безліч біохімічних реакцій, що протікають із погодженими між собою швидкостями. Та сама реакція залежно від умов проведення процесу може протікати з різною швидкістю. Так, глюкоза повільно «згорає» в організмі в процесі біологічного окислення, зовсім не окислюється на повітрі й вибухає з рідким киснем при додаванні мікрокількостей деяких солей як каталізаторів.

Хімічна термодинаміка дозволяє визначити енергетику реакцій, у тому числі й біохімічних, дає можливість прогнозувати, чи можливо самовільний той або інший процес залежно від умов, якщо відома відповідна зміна енергії Гіббса. Однак, термодинаміка нічого не говорить про те, як швидко буде протікати та чи інша реакція. Для цього необхідно знати механізм даної хімічної реакції. *Вивчення механізмів реакцій і визначення їх швидкостей складає предмет* хімічної кінетики.

Закони хімічної кінетики універсальні, будь це явище осідання еритроцитів, чи процес засвоєння ліків.

Швидкістю хімічної реакції ( $v$ ) називають зміну кількості речовини за одиницю часу в одиниці об'єму для *гомогенних реакцій* і на одиницю поверхні для *гетерогенних реакцій*:

$$v = \Delta n / v\Delta n t, \text{ моль/м}^3\text{с}^{-1} \text{ гомогенні реакції,}$$

$$v = \Delta n / s\Delta n t, \text{ моль/м}^3\text{с}^{-1} \text{ гетерогенні реакції}$$

Зміна концентрації має позитивний знак для продуктів реакції й негативний — для вихідних реагентів. У практиці біохімічних досліджень поряд з молярною концентрацією (моль/л) застосовують мг/100мл, а для осілих еритроцитів — висоту стовпчика  $h$  (мм) осілих у капілярі еритроцитів.

## **5. Залежність швидкості хімічної реакції від концентрації.**

### **Молекулярність і порядок реакції. Кінетичні рівняння реакцій**

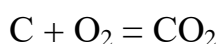
Основними факторами, що впливають на швидкість хімічної реакції є: *концентрація, температура, природа реагуючих речовин і наявність каталізатора.*

Вплив концентрації визначається законом діючих мас, сформульованим в 1867 році норвежцями До Гульбергом і П. Вааге: при постійній температурі швидкість хімічної реакції в кожний момент часу прямо пропорційна концентрації реагуючих речовин.

Для реакції ( $2A + B \rightarrow$  продукти) залежність швидкості гомогенної реакції від концентрації реагуючих речовин можна записати у вигляді:

$$v = k [A]^2 [B]$$

де  $k$  — константа швидкості хімічної реакції, яка чисельно дорівнює швидкості хімічної реакції при концентраціях всіх реагуючих речовин, рівних 1 моль/л. Це рівняння називають кінетичним. Варто пам'ятати, що в кінетичному рівнянні записуються тільки концентрації речовин, що перебувають у газовій фазі або рідкій, тому що концентрації твердих речовин постійні, отже, входять у константу швидкості реакції. Наприклад, для реакції:



кінетичне рівняння має відповідно вигляд:

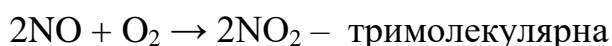
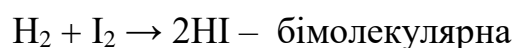
$$v = k [O_2]^2$$

Наведені кінетичні рівняння, як аналітичні вирази закону діючих мас, можуть застосовуватись тільки для ідеальних систем, у яких термохімічне рівняння відображає механізм реакції. При застосуванні закону діючих мас до реальних систем варто користуватися *активностями*, а не концентраціями, і показники ступенів у рівнянні знаходити дослідним шляхом.

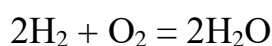
Для порівняльних характеристик хімічних реакцій значення швидкостей непридатні, тому що вони змінюються в часі. Реакції, що проходять при строго однакових умовах, можна порівнювати тільки за їх фундаментальному кінетичному параметру — *константі швидкості*.

Як показує практика, для багатьох реакцій термохімічне (стехіометричне) рівняння не відображає механізму реакції. Лише деякі

хімічні перетворення здійснюються в одну стадію. Більшість же процесів проходить кілька елементарних стадій, в яких можуть брати участь одна, дві, три молекули. Число молекул, одночасною взаємодією між якими в момент зіткнення здійснюється акт хімічної взаємодії, називається *молекулярністю реакції*.



Імовірність одночасного зіткнення трьох молекул у тисячі разів менша подвійного зіткнення. Звичайно, елементарні стадії будь-якої хімічної реакції можна звести до моно- або бімолекулярним взаємодіям. Швидкість багатостадійних реакцій визначається швидкістю її самої повільної стадії. Так, реальна швидкість реакції



не співпадає зі швидкістю, що розрахована за виразом:

$$v = k [\text{H}_2]^2 [\text{O}_2].$$

Експериментально доведено, що дана реакція досить складна, іде в кілька стадій, за ланцюговим механізмом.

Величини показників ступенів у кінетичному рівнянні визначають спеціальними методами й називаються порядками реакції за відповідною речовиною. Загальний порядок реакції дорівнює сумі показників ступенів у рівнянні швидкості хімічної реакції .

Слід зазначити, що поняття *порядку й молекулярності* не завжди збігаються. Так, в одностадійних процесах, що протікають у газовій фазі, порядок реакції, як правило збігається з його молекулярністю. У більшості ж випадків це не так. Порядок складних реакцій змінюється від 0 до 3, приймаючи в одних випадках ціле значення, в інших – дробове, тобто при зміні умов порядок реакції може мінятися. Молекулярність реакції залишається незмінною при всіх умовах і ніколи не буде мати дробове значення.

Часто бімолекулярні реакції підкоряються кінетиці реакцій першого порядку, якщо вони йдуть при значному надлишку одного з реагентів. У цьому випадку швидкість реакції залежить лише від концентрації того виду молекул, які перебувають у меншій кількості, тому що надлишок молекул другого виду не міняє істотно їх концентрацію, і отже, і швидкість реакції. До числа таких реакцій належать реакції гідролізу, кінцеві стадії ферментативних процесів, реакції антигенів з вітамінами й т.д.

Швидкість багатьох реакцій в організмі не залежить від концентрації реагуючих речовин і постійна, коли всі активні центри ферменту насичені, тобто реакція протікає за нульовим порядком. У біохімічних процесах реакції вище, ніж другий порядок, не зустрічаються.

Розглянемо, як практично, використовуючи дослідні дані, визначати основні кінетичні характеристики реакцій.

*Реакції першого порядку.* Рівняння кінетики швидкості реакції першого порядку в диференційному виді має вигляд:

$$v = - dc/d\tau = k_1 C,$$

в інтегральному:

$$k_1 = 1/\tau \cdot \ln(C_0/C) = 2,3 \cdot 1/\tau \lg (C_0/C) \text{ с}^{-1}$$

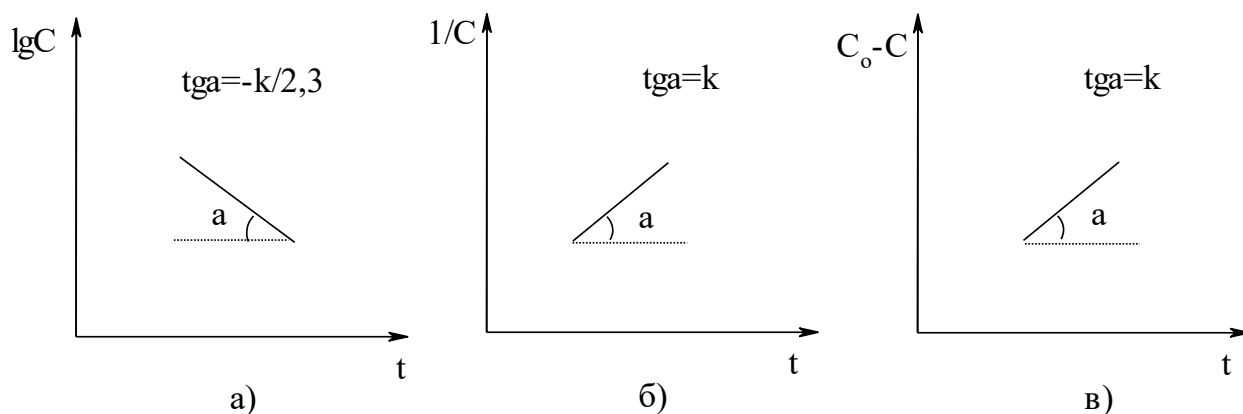
Поряд з константою швидкості для характеристики реакції часто користуються величиною, названою часом напівперетворення ( $\tau_{1/2}$ ) – час, протягом якого реагує половина вихідної кількості речовини.

Час напівперетворення для реакцій першого порядку дорівнює:

$$\tau_{1/2} = 0,69 / k_1$$

Фізичний зміст константи швидкості реакції першого порядку полягає в тому, що за однакові проміжки часу реагують однакові частини взятої кількості вихідної речовини.

Для реакцій першого порядку характерна лінійна залежність логарифму концентрації від часу.



Лінійні залежності  $\lg C = \varphi(\tau)$ ,  $1/C = \varphi(\tau)$ ,  $C_0 - C = \varphi(\tau)$  для реакцій порядку:  
 а) першого, б) другого, в) нульового.

*Реакції другого порядку.* Виведення рівняння залежності концентрації від часу для реакцій другого порядку розглядається тільки для найпростішого випадку, коли концентрації двох реагуючих речовин однакові:

$$v = -dc/dt = k_2c^2,$$

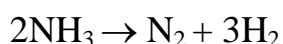
$$k_2 = 1/\tau \cdot (1/C_0 - 1/C), \text{ л/моль}\cdot\text{с} - \text{інтегральна форма.}$$

Час напівперетворення для реакцій другого порядку :

$$\tau_{1/2} = 1/k_2C_0$$

Лінійна залежність для реакцій другого порядку при рівності початкових концентрацій реагуючих речовин спостерігається для величини *оберненої концентрації* від часу (див. мал. 1в).

*Реакції нульового порядку.* У реакціях нульового порядку швидкість хімічної реакції не залежить від концентрації реагуючих речовин. До них відносяться в першу чергу багато каталітичних реакцій, коли поверхня каталізатора повністю покрита молекулами реагуючих речовин. Подальше підвищення концентрації реагентів в об'ємі не приводить до зміни швидкості реакції, тому що вона локалізована на поверхні каталізатора. Наприклад, багато фотохімічних реакцій (утворення HCl з H<sub>2</sub> і Cl<sub>2</sub>), реакція розкладання аміаку на платині:



У загальному вигляді:

$$v = k_0 \text{ або } C = C_0 - k_0\tau,$$

звідси

$$k = (C_0 - C) / \tau,$$

де  $C_0$  — початкова молярна концентрація,  $C$  — концентрація в момент часу  $\tau$ . Константа швидкості нульового порядку вимірюється в моль/л·с. Отже, в реакціях нульового порядку концентрація лінійно зменшується. Графічна залежність має вигляд (мал.1 с):

Для реакцій нульового порядку час напівперетворення пропорційний початковій концентрації вихідної речовини:

$$\tau_{1/2} = C_{0/2}/k_0$$

У загальному вигляді одиницю виміру константи швидкості реакції  $n$ -го порядку можна визначити з виразу:

$$v = k [A]^n$$

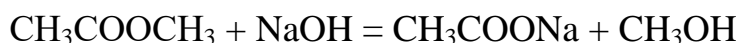
$$\text{моль/л с} = k [\text{моль/л}]^n \text{ або } k = (\text{моль/л})^{1-n} \text{ с}^{-1}$$

Практична значимість наведених рівнянь і графічних залежностей полягає у використанні їх для з'ясування істинного порядку будь-якої досліджуваної реакції. Для цього необхідно за експериментальними даними

побудувати графік залежності величини  $C_0 - C$ , або  $\lg C$ , або  $1/C$  від часу й подивитися, у якому випадку ця залежність буде мати вигляд прямої лінії. Тільки в тому випадку, коли графік прямолінійний, можна зробити висновок, що досліджувана реакція має відповідно нульовий, перший або другий порядок.

У методі підстановки за дослідними даними, користуючись значенням концентрації в різні моменти часу обчислюється константа швидкості реакції –  $k$ . Яке з рівнянь дає постійне значення  $k$ , до такого типу реакцій і відноситься досліджувана реакція.

Наприклад: омилення метилоцетового ефіру при 298K протікає за рівнянням:



Отримано наступні експериментальні дані:

$\tau, \text{с}$	180	300	420	600	900	1500
$C, \text{моль/л} \cdot 10^{-3}$	7,4	6,34	5,5	4,64	3,63	2,54

$$C_{\text{NaOH}} = C_{\text{CH}_3\text{COOCH}_3} = 0,01 \text{ моль/л}$$

Рішення: По черзі підставляємо дослідні дані, у рівняння першого й другого порядку, розуміючи, що реакцією нульового порядку може бути тільки каталітичний процес, яким дана реакція не є.

$$K^1_1 = 1/\tau \ln(C_0/C) = 1/180 \cdot 2,3 \lg(0,01/0,0074) \text{с}^{-1}$$

$$K^2_1 = 1/1500 \cdot 2,3 \lg(0,01/0,00245) \text{с}^{-1} = 0,0009 \text{с}^{-1}$$

$$K^1_2 = 1/\tau \ln(1/C - 1/C_0) = 1/180 \cdot 2,3 \lg(1/0,0074 - 1/0,01) = 0,196$$

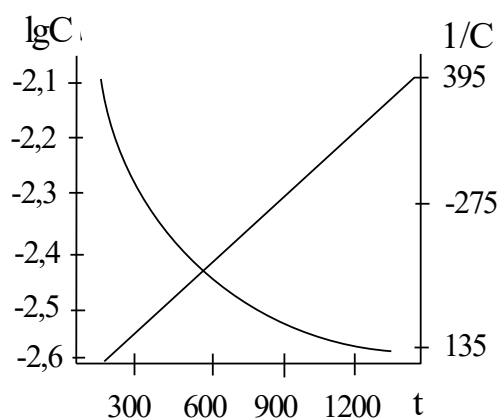
$$K^2_2 = 1/1500 (1/0,00245 - 1/C_{0,01}) = 0,196 \text{ л/мол} \cdot \text{с}.$$

Крім вище розглянутого аналітичного методу можна використати графічний метод. У цьому методі за експериментальним даними будують графічну залежність  $\lg C$  або  $1/C$  від часу й дивляться, у якому випадку ця

залежність буде мати вигляд прямої. Так, для реакції омилення метилоцетового ефіру розраховуємо значення  $\lg C$ .

$\tau, C$	180	300	420	...	1500
$\lg C$	-2,1308	-2,1974	-2,2596		-2,5952
$1/C$	135,1	157,7	181,8		393,2

Будуємо графіки:



Отже, можемо зробити висновок, що реакція омилення метилоцетового ефіру є реакцією другого порядку.

## 6. Залежність швидкості реакції від температури. Правило Вант-Гоффа.

### Рівняння Арреніуса

Підвищення температури значно збільшує швидкість хімічних реакцій. Це пояснюється збільшенням хаотичності руху молекул, що приводить до збільшення кількостей зіткнень. В 1879 році Вант-Гоффом було сформульовано емпіричне правило: при збільшенні температури на кожні 10 градусів швидкість хімічної реакції зростає в 2-4 рази:

$$v_{T2} = v_{T1} \gamma^{\Delta T/10},$$

де  $\gamma$  — температурний коефіцієнт, що показує в скільки разів зростає швидкість даної реакції при збільшенні температури на  $10^\circ$ .

У живому організмі більшість реакцій протікають за участю білкових каталізаторів — ферментів у дуже вузькому (оптимальному) діапазоні температур: 36—42 °С. Тому вплив температури для біохімічних процесів більш істотний і як наслідок –  $\gamma$  мають значення 7-10, і діють для більш вузького діапазону температур – 2, 3, 5 градусів.

Пояснення зростання швидкості реакції від температури полягає в тому, що не всяке зіткнення приводить до хімічної реакції. Для її здійснення необхідно, щоб молекули мали запас енергії, достатній для розпушення тих зв'язків, які перебудовуються в ході реакції, тобто могли перебороти деякий енергетичний бар'єр.

Енергія активації ( $E_a$ ) – надлишкова енергія, яка необхідна для вступу реагуючих речовин у реакцію при їх зіткненні, у порівнянні із середньою енергією, якою володіють молекули. Зазвичай, значення  $E_a$  становить від 40 до 200 кДж/моль.

Математична залежність швидкості хімічної реакції від температури виводиться з теорії активних зіткнень, вважаючи реакцію бімолекулярною, яка йде в газовій фазі. Частина молекул, що володіють необхідною для реакції  $E_a$  від їх загального числа, визначається тепловим розподілом Максвелла-Больцмана (експонентна залежність). Отже, справедливим буде вираз (рівняння Арреніуса):

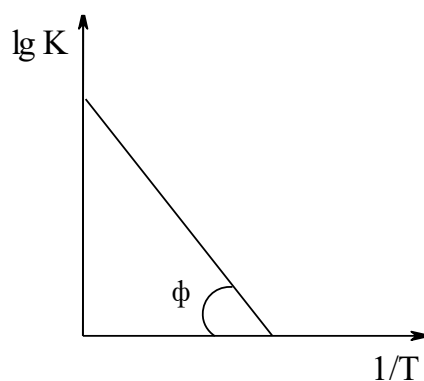
$$k = A e^{-E_a/RT}$$

де  $k$  – константа швидкості реакції;  $A$  – передекспоненційний множник, що відображає частку ефективних зіткнень, приймає значення від 0 до 1;  $E_a$  – енергія активації, Дж/моль;  $R$  – універсальна газова постійна, 8,314 Дж/моль·К;  $T$  – абсолютна температура;  $e$  – основа натурального логарифму.

Значення енергії активації реакції можна визначити, вимірявши константи швидкості цієї реакції при двох різних температурах по рівнянню:

$$E_a = 2,3RT_1T_2 / (T_2 - T_1) \lg k_1/k_2$$

Або графічно, попередньо прологарифмувавши рівняння Арреніуса:



$$\ln k = -E_a/RT + \ln A; \quad \operatorname{tg} \varphi = -E_a/2,3 \cdot R;$$

$$\lg k = \lg A - E_a/2,3RT; \quad E_a = -2,3 \cdot R \operatorname{tg} \varphi.$$

Наприклад: При  $380^\circ\text{C}$  період напіврозпаду пероксиду водню  $\text{H}_2\text{O}_2$ , що є реакцією першого порядку, дорівнює 360 хвилинам. Енергія активації даної реакції – 20 кДж/моль. Визначити час, протягом якого 75%  $\text{H}_2\text{O}_2$  при температурі  $450^\circ\text{C}$  розпадеться.

Розв'язання: Розраховуємо  $k$  при температурі  $380^\circ\text{C}$ :

$$k = 0,69 / \tau_{1/2} = 0,69 / 360 = 1,925 \cdot 10^{-3} \text{ хв}^{-1}$$

Розраховуємо  $k$  при температурі  $450^\circ\text{C}$  або 723 К:

$$\lg(kT_2/kT_1) = E_a / 2,3R(T_2 - T_1/T_2T_1)$$

$$T_1 = 653 \text{ К}, k_1 = 1,925 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}, T_2 = 723 \text{ К}, E_a = 200 \cdot 10^3 \text{ Дж}$$

$$\lg(k_2/1,925 \cdot 10^{-3}) = 200 \cdot 10^3 / 2,3 \cdot 8,314(723 - 653/723 \cdot 653)$$

$$\lg(k_2/1,925 \cdot 10^{-3}) = 1,5487; k_2/1,925 \cdot 10^{-3} = 35,375; k_2 = 6,81 \cdot 10^{-2}$$

Розраховуємо час для 75%-ного перетворення  $\text{H}_2\text{O}_2$ , при 723 К:

Припустимо  $C_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1$ , тоді, коли 75% прореагувало дорівнює:

$$6,81 \cdot 10^{-2} = 2,3 \cdot 1 / \tau \lg 1/0,25; \tau = 6,81 \cdot 10^{-2} / 2,3 \cdot 0,6 \approx 0,05 \text{ хв.}$$

## 7. Вплив природи хімічних сполук на швидкість їх перетворення.

### Поняття про кінетику складних реакцій.

Природа реагуючих речовин вважається також одним з важливих факторів, що визначають швидкість протікання реакцій. Вирішальну роль тут відіграє тип хімічного зв'язку. Для органічних речовин основними типами зв'язків є неполярні або малополярні ковалентні  $\sigma$ - і  $\pi$ -зв'язки.

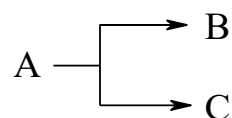
Реакції з речовинами, що мають  $\sigma$ -зв'язок ідуть повільніше, ніж реакції речовин з  $\pi$ -зв'язками. Неорганічні речовини, які мають іонний або полярний ковалентний зв'язок, реагують швидше.

Константа швидкості хімічної реакції й енергія активації ( $k$  і  $E_a$ ) є індивідуальними характеристиками реагуючих речовин і визначаються їх природою, типом хімічного зв'язку. Чим більше значення  $E_a$ , тим менша швидкість хімічної реакції. Енергія активації необхідна для розриву хімічних зв'язків.

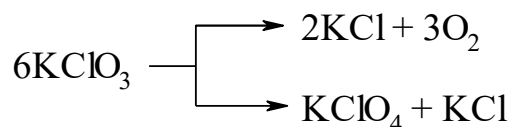
Хімічні й біохімічні перетворення, як правило здійснюються за складними механізмами, до окремих стадій яких можна застосувати розглянуті кінетичні закономірності. Складні процеси можуть мати *послідовний, паралельний, супряжений або ланцюговий* механізм.

Послідовні процеси протікають через ряд стадій:  $A \rightarrow B \rightarrow C \dots$ . Загальна швидкість такого процесу визначається найбільш повільною стадією. В організмі за послідовним механізмом протікають дуже багато процесів (гідроліз глікогену АТФ і ін.).

Паралельними називаються реакції, в результаті яких з вихідних речовин утворюються кілька кінцевих продуктів:



У неорганічній хімії прикладом може служити реакція розкладу бертолетової солі:



Глюкоза в організмі окислюється до пірвіноградної кислоти за гліколітичному шляху, а потім окислення може протікати двома паралельними шляхами – або в циклі Кребса, або в циклі гексозомонофосфату.

Супряжені реакції відповідають схемі:



При цьому перша реакція може протікати самостійно, тоді як друга тільки при наявності першої реакції. В організмі супряженому механізму підкоряються всі ендергонічні реакції (що протікають із позитивною зміною енергії Гіббса). Вони йдуть завдяки тому, що їх забезпечують енергією екзергонічні реакції, в яких  $G^{01} < 0$ .

Велике значення в процесі обміну речовин мають циклічні процеси, наприклад, цикл Кребса, цикл утворення сечовини, цикл окислення жирних кислот. В результаті циклічних процесів одні речовини повністю перетворюються в кінцеві продукти й виключаються із циклу, інші ж постійно обертаються в циклі. Типовим прикладом також є будь-яка ферментативна реакція, в якій фермент багаторазово проходить вільну й зв'язану форми.

Багато реакцій окислення, розкладу, галогенування, полімеризації протікають за ланцюговим механізмом, суть якого в ряді регулярно повторюваних елементарних актів з участю дуже активних часток – вільних радикалів. Вільні радикали можуть виникати в результаті впливу на молекулу температури, випромінювання й так званих ініціаторів зародження ланцюга.

У всякій ланцюговій реакції можна виділити три стадії: зародження ланцюга, розвиток ланцюга й обрив ланцюга. Досить докладно теорія ланцюгових реакцій розроблена лауреатами Нобелівської премії Н.Н. Семеновим і С.Н. Хіншелвудом.

Багато біологічних процесів протікають за ланцюговим механізмом. Основним джерелом вільних радикалів при обмінних процесах в організмі є одноелектронні процеси в окислювально-відновних реакціях. Вони також виникають при різного роду опроміненнях.

Ланцюговий характер носять багато патологічних явищ в організмі: руйнування клітинних мембран при променевої хворобі, розвиток пухлин, дія багатьох отруйних речовин і ін.

Різновидом ланцюгових реакцій є фотохімічні процеси, які протікають під впливом світла – синтез хлороводню, синтез озону у верхніх шарах атмосфери, процес розкладу солей срібла при фотографуванні, ізомеризація

при зоровій рецепції й наймасштабніша з біореацій – фотосинтез. Завдяки йому здійснюється кругообіг кисню й вуглецю в природі.

## 8. Каталізатори та механізм їх дії. Ферментативний каталіз

Найважливішими регуляторами хімічних перетворень є каталізатори. Це речовини, що змінюють швидкість хімічної реакції за рахунок утворення проміжної сполуки з низькою енергією активації. Важливою властивістю каталізатора є відсутність його впливу на величину константи рівноваги. Рівновага наступить швидше в присутності каталізатора, тому що прискорюються пряма й зворотна реакції. Змінити напрямок реакції каталізатор не може.

На сьогодні не існує єдиної теорії каталізу. Доповнюють одна одну й відображають суть вчення про каталіз наступні теорії:

*Теорія утворення проміжного комплексу:*  $A+K \rightarrow AK$ ,  $AK+B \rightarrow AB+K$ . Проміжні сполуки утворюються на поверхні каталізатора.

*Адсорбційна теорія.* Каталітична активність обумовлена здатністю каталізатора адсорбувати реагенти на активних центрах.

*Мультиплетна теорія.* Ця теорія передбачає утворення мультиплетного комплексу на активному центрі каталізатора, в результаті чого виділяється енергія, необхідна для розриву старих зв'язків.

Позитивним називається каталіз, в результаті якого відбувається прискорення хімічної реакції, негативним (інгібування) – уповільнення хімічної реакції. Якщо ж прискорення відбувається в результаті утворення каталізатора в процесі реакції, то така реакція називається автокаталітичною.

Каталіз буває: гомогенний, гетерогенний, мікрогетерогенний.

Практично всі біохімічні реакції як у простих одноклітинних, так і вищих є каталітичними. Роль каталізаторів виконують ферменти. Вони бувають прості й складні. Прості мають тільки білкову структуру, а складні

крім білкової частини мають небілкові компоненти, які називають простетичними групами або коферментами.

За своїми розмірами молекули ферментів близькі до колоїдних часток. Тому їх не можна віднести ні до гомогенних, які утворюють однорідну систему з реагуючими речовинами, ні до гетерогенних, які утворюють самостійну фазу, відділену від реагуючої системи межею розподілу. Ферментативний каталіз відносять до мікрогетерогенного каталізу. До особливостей ферментативного каталізу відносяться:

1) Висока ефективність. Енергія активації біохімічних процесів в 2–3 рази нижче, ніж  $E_a$  звичайних хімічних процесів, тому ферменти діють в  $10^3$ – $10^6$  разів швидше, ніж небіологічні каталізатори. Така ефективність пояснюється, по-перше, концентраційним фактором – активною сорбцією ферментом субстрату, що еквівалентно збільшенню його концентрації. Концентраційний фактор збільшує швидкість у тисячі разів. По-друге, ферменти проявляють орієнтаційний ефект, що також збільшує швидкість. Сутність його в наявності стереоспецифічного контакту активного центра ферменту із субстратом. Це різко збільшує ймовірність ефективного зіткнення, що спричиняє збільшення передекспоненційного множника  $A$  в рівнянні Арреніуса. І по-третє, ферменти мають поліфункціональний ефект – на молекулу субстрату одночасно діють кілька атакуючих груп ферменту.

2) Специфічність. Певний фермент у даних умовах каталізує тільки одну біологічну реакцію.

3) М'які умови протікання реакцій. Біохімічні процеси в живому організмі протікають при досить низьких температурах 36–42 °С, атмосферному тиску й в інтервалі  $pH$  живого організму.

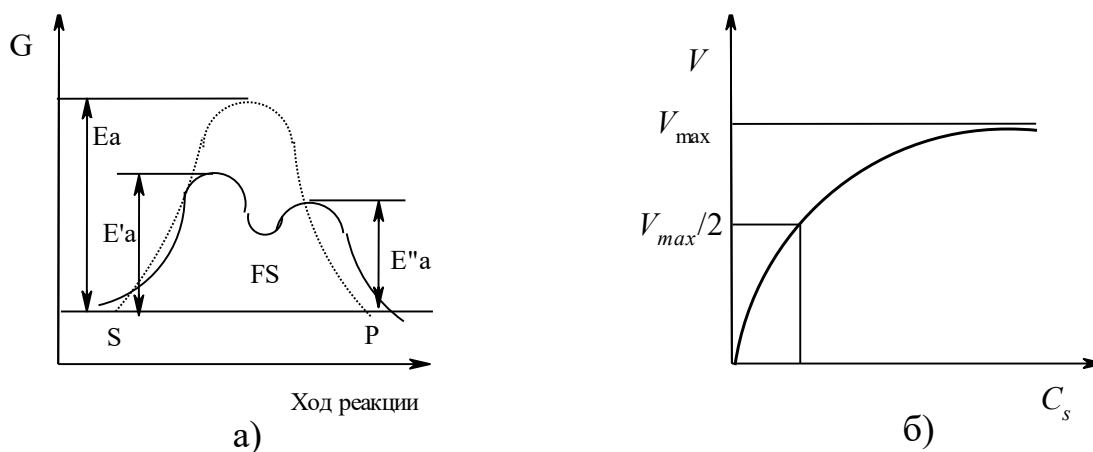
Дія ферментів, як було сказано вище, полягає в зниженні енергії активації реакції. Тут визначальну роль відіграє утворення проміжного продукту (інтермедіату) між метаболізуючою речовиною  $S$  (субстратом) і ферментом  $F$  – активованого комплексу (фермент-субстратного комплексу) :  $S + F > [FS]$

Цей комплекс не є хімічною сполукою як такою. У ньому ще не зникли існуючі в молекулах вихідних речовин зв'язки і не утворилися нові. Відбулася тільки деформація електронних хмар атомів, які взаємодіють у напрямку утворення нових зв'язків, а колишні внаслідок цього ослаблені. По суті, в результаті тісного контакту «фермент-субстрат» досягається необхідна орієнтація й зближення реагуючих груп в межах активного центра, що створюється певною конфігурацією білкової молекули. Згідно теорії Э.Фішера в цей активний центр, як «ключ у замок», входить реагуюча з ферментом молекула – субстрат. Реакція переходить із міжмолекулярного режиму у внутрішньомолекулярний, котрий виключає ентропійні втрати.

Високий енергетичний бар'єр некаталітичного процесу розбивається, як мінімум, на два менших, тому що в цьому випадку реагуючі частки виявляються зближеними й зорієнтованими ще до початку реакції. В результаті енергетична діаграма реакції складається із двох максимумів, що відповідають двом різним фермент-субстратним комплексам і трьох мінімумів, що відповідають субстрату, інтермедіату й продуктам.

Характерною рисою ферментативного каталізу є те, що швидкість ферментативної реакції збільшується до певної постійної величини ( $v_{max}$ ). Типова крива залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату  $C_s$  (при  $C_F = const$ ) представлена на малюнку 2б.

Причому, при низьких концентраціях субстрату реакція має по ньому перший порядок, а при високих – нульовий і швидкість стає максимальною.

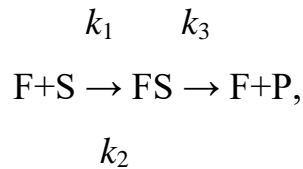


Ферментативна реакція:

а – енергетична діаграма ферментативної реакції;

б – залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрата.

В 1913 році Міхаелісом і Ментен була запропонована теорія, що пояснює цю залежність. Ферментативний процес можна представити схемою:



де F і S – фермент і субстрат, P – продукт реакції,  $k_1$  – константа швидкості утворення інтермедіату,  $k_2$  – константа швидкості його розпаду,  $k_3$  – константа швидкості переходу проміжного комплексу в продукт реакції й фермент.

Швидкості протікання всіх стадій можна записати в такий спосіб:

$$v_1 = k_1[F][S]; \quad v_2 = k_2[FS]; \quad v_3 = k_3[FS]$$

У стані рівноваги:

$$v_1 = v_2 + v_3; \quad k_1[F][S] = k_2[FS] + k_3[FS]$$

Розв'язуючи це рівняння відносно FS, і розуміючи, що початкова швидкість утворення продукту пропорційна концентрації проміжного комплексу ( $v_0 = k_3[FS]$ ), знайдемо вираз для швидкості ферментативної реакції:

$$v = k_3 ([F] \cdot [S]) / (k_m + [S])$$

Або, використовуючи величину максимальної швидкості, тобто швидкості, при якій фермент повністю існує у вигляді комплексу [FS]:  $[F]_0 = [FS]$ , одержуємо:

$$v_0 = (v_{\max} \cdot [S]) / (k_m + [S])$$

де  $k_m = (k_2 + k_3) / k_1$  – константа Міхаеліса. Її величина залежить від  $pH$ , температури й природи субстрату. У кінетичних дослідженнях вона знаходиться експериментально й дорівнює тій концентрації субстрату, при якій швидкість реакції дорівнює половині максимальної:

$$v = v_{\max} / 2 = k_m$$

Кінетична константа  $k_3$  у рівнянні  $v_{\max} = k_3[F]_0$  називається числом обертів ферменту, що показує кількість молекул субстрату, що перетворились у продукт реакції в одиницю часу (за секунду) в умовах, коли весь фермент перебуває у вигляді комплексу  $[FS]$ . Число обертів більшості ферментів становить  $0,5 \cdot 10^4 \text{с}^{-1}$ . Але, наприклад, для карбоангідрази, як одного з найактивніших ферментів, число обертів складає  $6 \cdot 10^5 \text{с}^{-1}$ . Це означає, що  $10^{-6}$  М розчин карбоангідрази може каталізувати утворення 0,6 моля  $\text{H}_2\text{CO}_3$  з  $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$  за секунду, тобто,  $v_{\max} = 0,6$  моль/л·с.

Як було зазначено раніше, при низьких концентраціях субстрату реакція має по субстрату перший порядок, а при високих – нульовий і швидкість стає максимальною. Отже, для двох граничних випадків можемо записати:

$$v = (v_{\max} / k_m)[S] \text{ – коли } [S] \ll K_m;$$

$$v = v_{\max} \text{ – коли } [S] \gg K_m$$

Значення константи Міхаеліса, величина максимальної швидкості й число обертів ферменту приводяться як кількісні характеристики ферментативної реакції конкретної фермент-субстратної системи в певних умовах.

### Контрольні питання

1. Наведіть положення теорії будови органічних сполук?

2. Чому органічні сполуки такі різноманітні?
3. Які є підходи до класифікації органічних та біохімічних речовин?
4. Наведіть основні поняття хімічної кінетики.
5. Від чого залежить швидкість хімічної реакції?
6. Про що говорить рівняння Арреніуса?
7. Проілюструйте правило Вант-Гоффа.
8. Що таке складна реакція?
9. Опишіть механізм дії каталізаторів.
10. Наведіть особливості ферментативного каталізу.

## **Лекція № 4. Вуглеводи.**

### **План:**

19. Біохімічні функції вуглеводів.
20. Глюкоза та її обмін.
21. Полісахариди.
22. Обмін вуглеводів в організмі.

### **Конспект лекції**

#### **1. Біохімічні функції вуглеводів**

Надзвичайно важливими хімічними сполуками живих організмів є вуглеводи. Вони широко поширені в природі, в рослинному світі вони складають 70-80% з розрахунку на суху речовину, у тварин вміст значно менше – 2% маси тіла. Роль їх надзвичайно важлива, що і підтверджується різноманітними функціями, виконуваними вуглеводами:

Енергетична – головний вид клітинного палива, основне джерело енергії для організму. Вуглеводи служать основним джерелом енергії для організму, забезпечуючи його на 60%. Для діяльності мозку – єдиним постачальником енергії є глюкоза. При повному розпаді 1 г вуглеводів виділяється 4,1 ккал.

Пластична – входять до складу оболонок клітин і субклітинних утворень, містяться у всіх органах і тканинах.

Функція запасних поживних речовин. Вуглеводи мають здатність накопичуватися в організмі у вигляді крохмалю в рослин і глікогену (печінка, м'язи) у тварин.

Захисна функція – в'язкі секрети, які виділяються різними залозами оберігають стінки порожніх органів від механічних пошкоджень і проникнення патогенних бактерій.

Регуляторна функція – такий вуглевод як клітковина бере участь у активації перистальтики кишечника.

Специфічна функція – проведення нервових імпульсів, утворення антитіл.

По хімічній природі вуглеводи – це органічні речовини складаються з вуглецю, кисню і водню в співвідношенні 1:2:1. Їх поділяють на: Моносахариди – прості цукри, що складаються з однієї молекули. Серед них розрізняють тріози, тетрози, пентози, гексози.

Олігосахариди – молекули яких містять від 2 до 10 залишків моносахаридів, з'єднаних глікозидними зв'язками (сахароза).

Полісахариди – високомолекулярні вуглеводи, що складаються з великого числа моносахаридів (крохмаль, глікоген).

Полісахариди поділяються на гомо- та гетерополісахариди.

Гомополісахариди мають у своєму складі моносахариди тільки одного виду. Гетерополісахариди – це комплекси різних видів моносахаридів і їх похідних (наприклад, мукополісахариди).

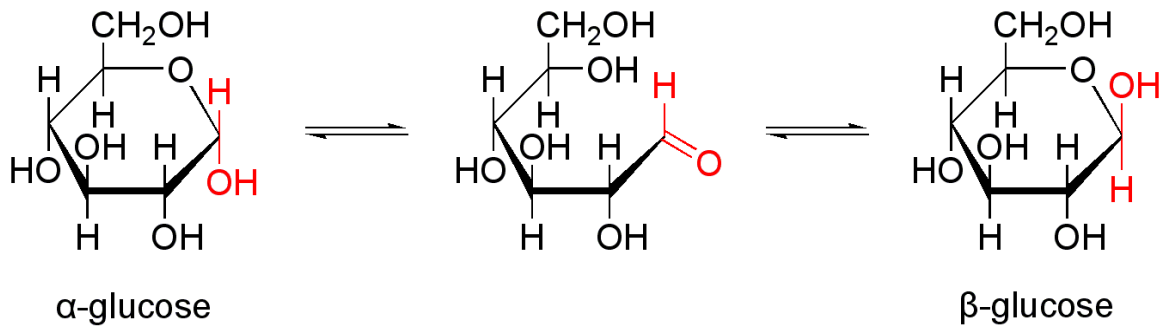
З точки зору функціонального призначення полісахариди також можуть бути розділені на структурні (целюлоза) і резервні (крохмаль, глікоген).

## **2. Глюкоза та її обмін**

До простих вуглеводів, які мають біологічне значення, відносяться прості цукри або моносахариди, що мають формулу  $C_6H_{12}O_6$ , наприклад, глюкоза і фруктоза. Ці два простих цукра трохи відрізняються між собою за розташуванням атомів у їх молекулах, і ця відмінність обумовлює певну різницю в їх хімічних властивостях.

Властивості сполук залежать від їх конформації, тобто їх просторової структури (молекули мають тривимірну структуру).

У розчині молекули глюкози і інших простих цукрів не витягнуті у вигляді прямих ланцюгів, а згорнуті в плоскі кільця, утворені в результаті з'єднання двох несуміжних вуглецевих атомів через атом кисню.



Глюкоза – єдиний моносахарид, що міститься в нашому організмі в більш-менш значній кількості. Всі інші, споживані нами вуглеводи перетворюються в печінці в глюкозу.

Глюкоза – абсолютно необхідна складова частина крові. У нормі її вміст у крові і тканинах ссавців становить близько 0,1% за масою. Деяке збільшення вмісту глюкози в організмі не заподіює особливої шкоди, зменшення ж його підвищує збудливість деяких клітин головного мозку, так що вони починають реагувати на дуже слабкі стимули. Імпульси, одержувані від цих клітин м'язами можуть викликати судоми, привести до втрати свідомості і навіть до смерті. Глюкоза необхідна для метаболізму клітин головного мозку і для цього необхідний певний рівень вмісту її в крові. Належна концентрація глюкози в крові підтримується за допомогою надзвичайно складного механізму, в якому беруть участь нервова система, печінка, підшлункова залоза, гіпофіз і надниркові залози.

Олігосахариди – містять від 2 до 10 залишків моносахаридів, з'єднаних глікозидними зв'язками.

Молекули дисахаридів мають загальну формулу  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , вони ніби складені з двох молекул моносахаридів, які об'єдналися в результаті відщеплення однієї молекули води. Тростинний і буряковий цукри представляють собою сахарозу – сполука однієї молекули глюкози з однією молекулою фруктози. Відомі й інші дисахариди, всі вони мають одну формулу, але розрізняються розташуванням атомів в молекулі і у зв'язку з цим та деякими хімічними і фізичними властивостями. Мальтоза, або солодовий цукор, складається з двох молекул глюкози; лактоза (молочний цукор), який

міститься в молоці усіх ссавців, утворена однією молекулою глюкози і однією молекулою галактози. Ці цукру помітно різняться між собою за ступенем солодощі. Найсолодший зі звичайних цукрів – фруктоза. Вона більш ніж в 10 разів солодше найменш солодкого цукру – лактози. Сахароза займає проміжне становище. Сахарин – синтетична речовина, яка значно солодше будь-якого з цукрів, ним користуються, якщо треба додати їжі солодкий смак без вживання цукру, а також хворі на цукровий діабет.

Глюкоза включена до багатьох фізіологічних біохімічних циклів. Один із них – цикл Кóрі (глюкозо-лактатний цикл) – метаболічний цикл, в якому глюкоза перетворюється до лактату внаслідок анаеробного катаболізму в скелетних м'язах, лактат транспортується кров'ю до печінки, де з нього знову синтезується глюкоза, що переноситься назад у м'язи. Названий на честь його першовідкривачів Карла та Герті Корі, які були нагороджені Нобелівською премією з фізіології та медицини 1947 року.

Для скорочення м'язовим волокнам необхідна енергія АТФ, вона може бути отримана у процесі аеробного окиснення органічних речовин за умови достатнього надходження кисню. Такий тип метаболізму спостерігається у більшості невеликих хребетних тварин навіть за умов великої фізичної активності. У великих хребетних, таких як людина, проте при дуже інтенсивному навантаженні кровоносна система не встигає постачати м'язи киснем, крім того, коли скоротлива активність досягає 70% максимально можливої (наприклад під час бігу на короткі дистанції) м'язи стискають кровоносні судини і обмежують кровопостачання. В таких умовах гліколіз все ще відбувається, проте утворений піруват не може вступати у цикл трикарбонних кислот. Тому він відновлюється до лактату, за рахунок НАДН, щоб зробити можливим подальше протікання гліколізу (для чого потрібний НАД<sup>+</sup>). Утворений лактат викидається кров і транспортується до інших тканин, де він може бути використаний як джерело енергії. Значна частина лактату транспортується до печінки, де він знову окиснюється до пірувату і використовується для синтезу глюкози в процесі глюконеогенезу. Утворена

глюкоза виділяється гепатоцитами в кров і знову може поглинатись скелетними м'язами для поповнення запасів глікогену або розщеплення і отримання АТФ.

Таким чином цикл Корі є прикладом так званого субстратного циклу, який виникає у випадку паралельного протікання двох протилежно спрямованих метаболічних шляхів (в циклі Корі – гліколізу і глюконеогенезу). Проте глюкозо-лактатозний цикл частково розділений в часі та повністю просторово. Сумарним виходом субстратних циклів є гідроліз АТФ, в цьому випадку також спостерігається така закономірність: молочнокисле бродіння у м'язах дає 2 моль АТФ на моль глюкози, в той час як глюконеогенез у печінці для синтезу одного моля глюкози вимагає гідролізу еквіваленту шести АТФ (чотирьох моль АТФ і двох ГТФ). Відновлення використаного АТФ у печінці відбувається завдяки окисному фосфорилуванню, що потребує наявності кисню. Після інтенсивного фізичного навантаження весь накопичений лактат перетворюється до глюкози приблизно за 30 хв. В цей час спостерігається підвищення споживання організмом кисню, потрібного для «виплачування» так званого кисневого боргу, що виник у період інтенсивного навантаження.

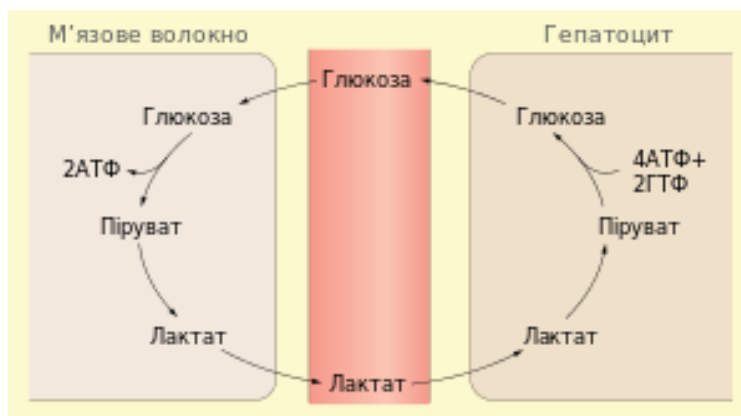


Схема циклу Корі

### 3. Полісахариди

Вуглеводи, що мають найбільші молекули, – це полісахариди, в тому числі крохмаль і целюлоза, молекули яких складаються з великого числа моносахаридних угруповань, або з'єднаних в одну пряму довгий ланцюг

(амілаза), або утворюють розгалужену структуру (амілопектин). Число молекул цукру, з'єднаних в одній молекулі крохмалю, точно не відомо, воно неоднаково в різних молекулах, тому формулу крохмалю можна написати так:  $(C_6 H_{10} O_5)_x$  – де  $x$  – деяке велике число моносахаридних груп, об'єднаних в молекулу крохмалю. Особливі ферменти – амілази – гідролізують крохмаль і полісахариди, розщеплюючи їх спочатку на більш короткі ланцюжки з простих цукрів, а потім на вільні моносахариди. Ці ферменти каталізують реакції, в яких молекули води вклинюються між моносахаридними залишками, розриваючи ангідридні зв'язки.

Крохмалі розрізняються між собою за кількістю і типом моносахаридних груп і є звичайними компонентами як рослинних, так і тварин клітин. Тваринний крохмаль – глікоген, відрізняється від рослинного надзвичайно сильною розгалуженістю молекули і великий розчинністю у воді. Рослини накопичують вуглеводи у формі крохмалів, тварини у формі глікогену; накопичити глюкозу як таку неможливо, бо її невеликі молекули дифундували б з клітин. Більш великі і менш розчинні молекули крохмалю і глікогену не проходять через плазматичну мембрану. У людини та інших вищих тварин глікоген накопичується головним чином у печінці та м'язах.

Чотири ферменти, діючи в певній послідовності, легко перетворюють глікоген печінки на глюкозу, яка потім доставляється кров'ю до інших частин тіла.

Клітини більшості рослин мають міцні зовнішні стінки з целюлози – нерозчинного полісахариду, молекула якого, як і молекула крохмалю, складена з безлічі молекул глюкози. Однак у молекулі крохмалю послідовні молекули глюкози з'єднані  $\alpha$ -глікозидними зв'язками, а в молекулі целюлози вони з'єднані  $\beta$ -глікозидними зв'язками і не розщеплюються ферментами, перетравлюють крохмаль.

У клітині вуглеводи відіграють роль "палива", що легко мобілізується для забезпечення метаболічних процесів енергією. Глюкоза в кінцевому рахунку розщеплюється до вуглекислоти і води з виділенням енергії.

Деякі вуглеводи, з'єднуючись з білками і ліпідами утворюють структурні компоненти клітин та їх оболонки. Рибоза і дезоксирибоза, цукру, що містять по 5 атомів вуглецю входять до складу рибонуклеїнової (РНК) і дезоксирибонуклеїнової (ДНК) кислот.

#### **4. Обмін вуглеводів в організмі**

Вуглеводний обмін в організмі людини складається в основному з наступних процесів:

1. Розщеплення в шлунково-кишковому тракті до моносахаридів, що надходять з їжею ди- і полісахаридів. Всмоктування в кров у кишечнику.
2. Синтез і розпад глікогену (печінка).
3. Анаеробне розщеплення глюкози: гліколіз – без участі кисню.
4. Взаємоперетворення гексоз.
5. Аеробний метаболізм пірувату – за участі кисню, цикл Кребса.
6. Глюконеогенез – утворення вуглеводів з неуглеводних продуктів.

Розглянемо етапи вуглеводного обміну.

До 90% всмоктались моносахаридів (глюкоза головним чином) через капіляри кишкових ворсинок потрапляють в кровоносну систему і з током крові через ворітну вену доставляються в печінку, інша кількість моносахаридів надходить по лімфатичних шляхах у венозну систему. У печінці глюкоза перетворюється в глікоген. Завдяки здатності до відкладення глікогену створюються умови для накопичення в нормі деякого резерву вуглеводів. При підвищенні енергетичних витрат в організмі в результаті збудження центральної нервової системи зазвичай відбувається посилення розпаду глікогену та освіти глюкози.

При нестачі кисню вуглеводи розпадаються з анаеробного типу, а при насиченні киснем – по аеробному.

Гліколіз – розщеплення глюкози без споживання кисню, складний ферментативний процес, що протікає в тканинах людини і тварин. У результаті

глюкоза перетворюється в молочну кислоту з утворенням багатих енергією фосфорних з'єднань – АТФ.

Процес гліколізу каталізується 11 ферментами і протікає в цитоплазмі клітини. Біологічне значення гліколізу – утворення багатих енергією фосфорних сполук.

У першій стадії гліколізу витрачається 2 молекули АТФ. У другій стадії утворюються 4 молекули АТФ (фосфогліцераткіназна і піруваткіназна реакції). Таким чином, енергетична ефективність гліколізу становить 2 молекули АТФ на 1 молекулу глюкози, зміна вільної енергії при розщепленні 1 молекули глюкози складає + 210 кДж / моль. Коефіцієнт корисної дії складає близько 0,4.

У процесі гліколізу ряд послідовних реакцій починається з «активації» глюкози. Взаємодія глюкози з АТФ, в результаті якого утворюється глюкозо-6-фосфат і АДФ, каталізується ферментом гексокіназа. При цьому переноситься тільки кінцева фосфатна група аденозинтрифосфату і залишається аденозиндифосфат (АДФ). Після цієї підготовчої реакції відбувається перебудова молекули з утворенням фруктозо-6-фосфату, потім – перенесення другого фосфатної групи з утворенням фруктозо-1,6-дифосфату (фруктоза з фосфатними групами при 1 і 6 атомах вуглецю) і АДФ. Фруктозо-1,6-дифосфат, розщеплюється ферментом альдолаза на два трьохвуглецевих цукри: 3-фосфогліцеринової альдегід і діоксіацетонфосфат, які можуть перетворюватися один в одного під впливом ферменту тріозофосфатізомеразі.

3-фосфогліцеринової альдегід реагує зі сполуками, що містять SH-групу, при цьому утворюється речовина, здатна віддавати водень молекулі НАД. Продукт цієї реакції – фосфогліцеринової кислота, пов'язана з SH-групою ферменту, потім реагує з неорганічним фосфатом, утворюючи 1,3-дифосфогліцеринову кислоту і вільний фермент з SH-групою. Інший продукт – 3-фосфогліцеринової кислота перетворюється в 2-фосфогліцеринову кислоту, після чого відбувається утворення макроергічних фосфатів шляхом відщеплення молекули води (дегідратація).

Продукт цієї реакції – фосфопіровиноградная кислота – може віддавати свою фосфатну групу молекулі АДФ з утворенням АТФ і вільної піровиноградної кислоти. Це друга макроергічних фосфатних зв'язків, що утворилася на рівні субстрату при перетворенні глюкози в піровиноградную кислоту. З кожної молекули глюкози утворюються по 2 молекули 3-фосфогліцеринової альдегіду і таким чином, в процесі перетворення глюкози в піровиноградную кислоту утворюються 4 макроергічні зв'язку. Однак дві з них використовуються у самому цьому процесі. Тому в кінцевому підсумку ми отримуємо 2 макроергічні зв'язки.

В анаеробних умовах, за відсутності кисню, службовця кінцевим акцептором електронів, реакції переносу електронів припиняються, як тільки всі проміжні акцептори перейдуть в відновлене стан, "приймавши" всю можливу кількість електронів. Метаболізм глюкози в цих умовах веде до накопичення піровиноградної кислоти, яка приймає атоми водню від відновлених піридиннуклеотидів з утворенням молочної кислоти і окисленого НАД<sup>+</sup>, цю реакцію каталізує лактатдегідрогеназа, що діє в зворотному напрямку.

У результаті перетворення глюкози в молочну кислоту утворюються 2 макроергічні фосфатні зв'язки і таким шляхом клітини навіть за відсутності кисню можуть отримувати невелику кількість енергії. У клітинах дріжджів піровиноградна кислота перетворюється в оцтовий альдегід, який може приймати атоми водню від відновленого НАДН з утворенням НАД<sup>+</sup> і етилового спирту.

Синтез глікогену з глюкози протікає в декілька етапів. Спочатку глюкоза фосфорилується за рахунок АТФ і перетворюється в глюкозо-6-фосфат. Ця реакція каталізується глюкокіназою.

Далі глюкозо-6-фосфат переходить в глюкозо-1-фосфат (фосфоглюкомутази). Глюкозо-1-фосфат реагує з урідінтрифосфатом (УТФ), при цьому утворюється урідінфосфоглюкоза. Глюкозний залишок УДФ глюкози використовується для подовження молекули глікогену, а звільнився

УДФ фосфорилується за рахунок АТФ і перетворюється на УТФ. Таким чином, процес синтезу глікогену протікає з витратою енергії, що звільняється при розпаді АТФ.

Переважає шляхом розпаду є фосфоролітичний шлях. Глікогеноліз – розпад глікогену до глюкозо-6-фосфату, який може включатися в процес гліколізу.

1) глікоген розпадається до глюкозо-1-фосфату за участю ферменту фосфорілази;

2) глюкозо-1-фосфат під дією фосфоглюкомутази перетворюється в глюкозо-6-фосфат.

Подальші перетворення йдуть у двох напрямках: глюкозо-6-фосфат перетворюється на глюкозу з використанням глюкозо-6-фосфатази глюкозо-6-фосфат включається в цикл Кребса. У печінці фруктоза фосфорилується за рахунок АТФ за участю фруктокінази, в результаті утворюється фруктозо-1-фосфат, далі під дією альдолази він розщеплюється на дві тріози і потім перетворюється на піровиноградну кислоту.

Розпад і синтез глікогену в печінці – ці 2 процеси забезпечують сталість концентрації цукру в крові. Співвідношення між синтезом і розпадом регулюється нейрогуморальним шляхом. Адренкортикотропний гормон, глюкокортикоїди та інсулін збільшують вміст глікогену в печінці. Адреналін, глюкагон, соматотропний гормон гіпофізу і тироксин стимулюють розпад глікогену.

Механізм дії цих гормонів неоднаковий:

Інсулін пригнічує глюкозо-6-фосфатазу, сприяючи накопиченню глікогену. Глюкокортикоїди збільшують кількість глікогену в печінці непрямым шляхом, сприяючи перетворенню білків і жирів у вуглеводи. АКТГ стимулює синтез глікогену через кору надниркових залоз. Адреналін і глюкагон викликають розпад глікогену, активуючи фосфорілазу. Соматотропний гормон гіпофіза зменшує кількість глікогену в печінці побічно стимулюючи виділення глюкагону підшлунковою залозою.

Глюконеогенез – це синтез глюкози з неуглеводних компонентів, наприклад молочної або піровиноградної кислот. Протікає в клітинах печінки і нирок. Більшість реакцій глюконеогенезу являє собою зворотні реакції гліколізу.

### **Контрольні питання**

1. Що таке вуглеводи? Які їх характерні особливості?
2. Наведіть функції вуглеводів в організмі людини.
3. Як утворюються полісахариди?
4. опишіть ізомерію глюкози.
5. опишіть цикл Корі.
6. Чому вуглеводи в організмі накопичуються у вигляді полісахаридів?
7. Як синтезується і як розщеплюється глікоген?
8. Який енергетичний ефект розщеплення молекули глюкози?
9. Яким чином регулюється гліколіз та глюконеогенез?
10. Що таке цикл Кребса?

## Лекція № 5. Ліпіди.

### План:

1. Фізіологічне значення ліпідів.
2. Будова жирів. Жирні кислоти. Харчова цінність олій та жирів.
3. Класифікація ліпідів.
4. Властивості ліпідів.
5. Методи виділення ліпідів з сировини, перетворення ліпідів при виготовленні продуктів харчування. Обмін жирів.

Клітини мозку на 60 відсотків складаються з жиру, і це набагато вища концентрація, ніж в інших частинах тіла. Іронія полягає в тому, що люди практично не знають цього і постійно прагнуть усунути якомога більше жирів зі своєї дієти, хоча мати достатню кількість жирів в своєму раціоні життєво важливо для розвитку мозку і підтримки його в хорошій формі.

Жири – це повні ефіри гліцерину і вищих жирних кислот, що відносяться до класу ліпідів.

Ліпіди – жироподібні речовини, що входять до складу всіх живих клітин і відіграють важливу роль в життєвих процесах.

Ліпіди є основним компонентом клітинних мембран, впливають на їх проникність, беруть участь в створенні міжклітинних контактів, в передачі нервового імпульсу і в м'язовому скороченні, забезпечують захист різних органів від механічних дій.

Відносно харчових жирів зазвичай застосовують терміни "жири" і "олії". Поняття "жири" зазвичай відноситься до тваринних жирів, що знаходяться при кімнатній температурі в твердому стані. Виняток становить рідкий риб'ячий жир. Рослинні олії при кімнатній температурі знаходяться в рідкому стані (виключення – тверде пальмове масло).

Тваринні жири присутні в молоці і молочних продуктах, свинячому салі, баранячому, яловичому, риб'ячому жири. Рослинні олії (жирні масла)

отримують з насіння соняшнику, кукурудзи, сої, арахісу і інших олійних рослин.

## **1. Фізіологічне значення ліпідів. Обмін ліпідів**

Ліпіди виконують різноманітні функції.

*Енергетична функція* – ліпіди найбільш енергоємна поживна речовина. І незамінне джерело поліненасичених ЖК та розчинних у жирах вітамінів А, D, Е, К. При окисленні в організмі 1 г жиру виділяється 9 ккал (37,66 кДж) енергії. За рахунок жирів забезпечується 25-35% добової потреби в енергії.

*Регуляторна функція* – ліпіди є важливими факторами регулювання обміну води в організмі. При окисленні 100г жиру виділяється 107г ендогенної води, що має особливе значення в екстремальних умовах (наприклад, при недостатньому надходженні води ззовні).

*Пластична функція* – ліпіди входять до складу клітинних і заклітинних мембран усіх тканин у вигляді ліпопротеїдів і таким чином беруть участь у окисно-відновних процесах, біосинтезі білку, транспорті речовин у клітині. Із ліпідів утворюються деякі гормони (статеві, кори наднирників), а також вітаміни групи D.

*Захисна функція* – ліпіди шкіри і внутрішніх органів захищають організм людини і тварин від переохолодження (заважають віддачі тепла), а також від механічних пошкоджень органів. Ліпіди, що виділяються сальними залозами, надають шкірі еластичність і захищають її від висихання.

*Структурний (протоплазматичний) жир* – знаходиться в складних ліпідах або утворює міцні сполуки з білками (ліпопротеїнові комплекси). Вони містяться у крові, беруть участь у побудові клітинних органел (ядра, рибосом, мітохондрій). Протоплазматичний жир знаходиться у органах і тканинах у постійній кількості (близько 25% усіх ліпідів), яка не змінюється навіть при повному голодуванні.

*Резервний жир* – відкладається у „жирових депо” (підшкірна клітковина, брижейка, жирова капсула нирок і ін.). Він також утворює ліпопротеїновий

комплекс, але нестійкий, тому його кількість швидко зменшується при голодуванні, при деяких нервових і гуморальних порушеннях.

Жири є носіями біологічно активних речовин, розчинних у жирах вітамінів.

*Надто жирна їжа* погано перетравлюється. Жир обволікає інші поживні речовини, і травним сокам важко дістатись до них. Зайва вага виникає здебільшого через жирну їжу або через переїдання.

## 2. Будова жирів. Жирні кислоти. Харчова цінність олій та жирів

Жири є складними ефірами вищих одноосновних карбонових кислот, головним чином пальмітинової, стеаринової (насичені кислоти) і олеїнової (ненасичена кислота) і трьохатомного спирту – гліцерину. Загальна назва таких сполук – тригліцериди.

Природними жирами є суміші різних тригліцеридів.

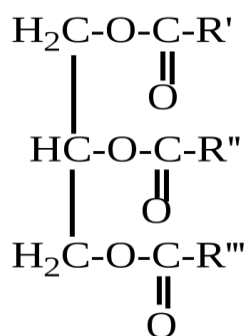
**Ліпіди** – група різноманітних за складом нерозчинних у воді органічних речовин, які відрізняються розчинністю в органічних розчинниках. Вони є похідними вищих жирних кислот та спиртів і широко представлені у тканинах людини, тварин, рослин і мікроорганізмів.

Кожна молекула жиру складається з двох видів будівельного матеріалу: гліцерину і жирних кислот. Як і вуглеводи, мають у своєму складі С, Н, О, але С більше, а кисню менше, ніж у перших.

Структурна формула гліцерину



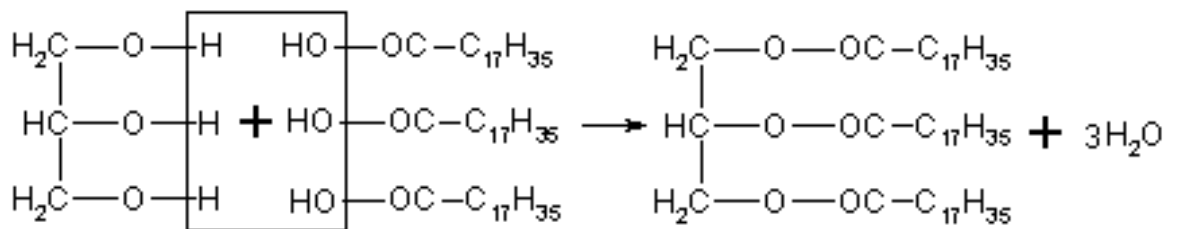
Склад і будову жирів можна зобразити загальною формулою:



де R', R'', R''' — радикали вищих насичених і ненасичених монокарбонових кислот. У природних жирах залишки кислот мають, як правило, нерозгалужений вуглецевий ланцюг і містять парну кількість вуглецевих атомів. Жири, що містять залишки однакових кислот (однакові радикали в усіх позиціях), називають *простими*. Якщо ж залишки різні, то такі тригліцериди називають *змішаними*.

Кожна із трьох груп -ОН може зв'язувати жирну кислоту, при цьому вивільняється вода. Одна молекула гліцерину – зв'язує 1-3 молекули жирної кислоти: моно-, ди-, або тригліцериди. Усі природні жири – це гліцериди, що містять жирні кислоти з різною довжиною С-С ланцюга і різними рівнем насиченості. Оскільки моно-, дигліцериди мають ще незайняті групи (можливо заміщення), то вони можуть з'єднуватися з іншими речовинами, наприклад, з лецитином.

Утворення тригліцериду стеаринової кислоти:



*гліцерин      стеаринова кислота      стеариновий тригліцерид*

Жирні кислоти, які входять до складу ліпідів, містять, переважно, парну кількість атомів карбону, найчастіше – 16 або 18. Серед них є насичені і ненасичені.

Вищі жирні кислоти – складники ліпідів:

Число атомів карбону	Систематична назва	Раціональна назва	Скорочене позначення	Раціональна назва ацильної групи
<i>Насичені жирні кислоти</i>				
4	Бутанова	Масляна	4:0	Бутирил
12	Додеканова	Лауринова	12:0	Лауроїл
14	Тетрадеканова	Міристинова	14:0	Міристоїл
16	Гексадеканова	Пальмітинова	16:0	Пальмітоїл
18	Октадеканова	Стеаринова	18:0	Стеароїл

Число атомів карбону	Раціональна назва	Скорочене позначення	Раціональна назва ацильної групи
<i>Ненасичені жирні кислоти</i>			
4	Кротонова	4:12 (2t)	Кротоноїл
16	Пальмітоолеїнова	16:1 (9c)	Олеоїл
18	Олеїнова	18:1 (9c)	
18	Лінолева	18:2 (9c, 12c)	
18	Ліноленова	18:3 (9c, 12c, 15c)	
20	Арахідонова	20:4 (5c, 8c, 11c, 14c)	

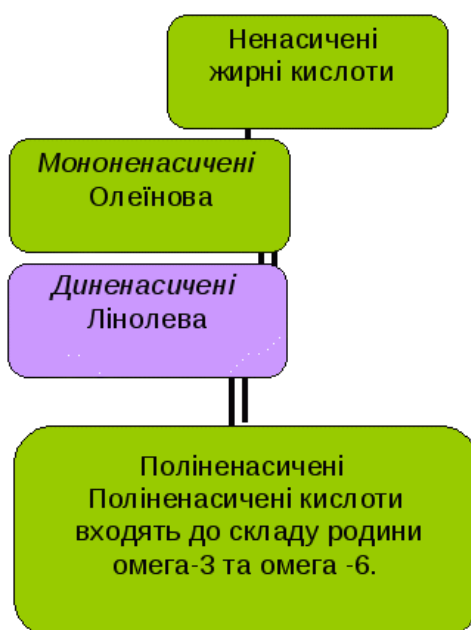
**Насичені ЖК** – це, в основному, ліпіди тваринного походження, які переважно містяться в м'ясі, свинині, вершковому маслі, молоці і всіх молочних продуктах, а також в деяких сортах сиру. курячий жир, яйця, масло вершкове, масло какао, шоколад.

**У ненасичених ЖК** відсутні 2, 4 або більше атомів водню.

Радикали ненасичених жирних кислот хімічно активні.

За місцем кратних зв'язків вони вступають в реакції приєднання, окиснення, полімеризації.

Тому їх можна якісно виявити за допомогою бромної води (реакція приєднання), знебарвлення розчину перманганату калію (реакція окиснення). Температура плавлення цих кислот нижча, ніж насичених.



## Поліненасичені ЖК

Лінолева та ліноленова кислоти не синтезуються в організмі, арахідонова синтезується із лінолевої кислоти при участі вітаміну В<sub>6</sub>. Тому ці кислоти отримали назву незамінні.

Лінолева, альфа-ліноленова, в рослинних оліях (конопляна, льняна, соняшникова, оливкова), арахідонова (її також називають вітаміном F) в тваринному жирі: свинячому салі і яєчному жовтку.

### значення

підвищують опірність різним інфекціям  
знижують чутливість до радіоактивного випромінювання  
входять в з'єднання з холестерином і перешкоджають його відкладенню в стінках судин, попереджаючи при цьому хворобу судин атеросклероз.  
підтримуючи розумову активність, сприяють функціонуванню головного мозку і нервів.

**Ненасичені жирні кислоти**, за винятком риб'ячих жирів, мають рослинне походження. Це жирні кислоти з овочів, горіхів, насіння, оливок. При кімнатній температурі вони зазвичай бувають м'якими або рідкими. Крім того, ненасичені кислоти містяться також в м'ясі качки і гусака. Всі ці кислоти є для нас незамінними. Необхідно включати в свій раціон такі продукти, які містять жирні кислоти, оскільки наш організм сам їх не виробляє.

**Ненасичені жирні кислоти** – єдине джерело того, що називають «необхідними» жирними кислотами, а саме *лінолевої, альфа-ліноленової, а також арахідонової кислот*. Перші дві містяться в основному в рослинних маслах (конопляному, льняному, соняшковому), а третя (її також називають вітаміном F) – головним чином в тваринному жирі: свинячому салі і яєчному жовтку.

Тільки *арахідонову кислоту* організм може синтезувати сам за наявності лінолевої кислоти і вітамінів групи В. Ці кислоти абсолютно необхідні для здійснення життєво важливих біохімічних процесів в структурах клітинних мембран, для транспортування жирних кислот і внутрішньо-м'язового

метаболізму. Дослідження останніх років показали, що ненасичені жирні кислоти мають важливе значення для організму. Вони підвищують опірність різним інфекціям, знижують чутливість до радіоактивного випромінювання; входять в сполуки з холестерином (органічна речовина, що синтезується самим організмом) і перешкоджають його відкладенню в стінках судин, попереджаючи при цьому хворобу судин атеросклероз; підтримуючи розумову активність, сприяють функціонуванню головного мозку і нервів.

Погані звички в харчуванні і сумнівна природа деяких продуктів, наявних в нашому раціоні, особливо якщо вони очищені, можливо, є причиною недостатнього споживання «правильних» жирних кислот. Наприклад, нестача лінолевої кислоти може привести до уповільнення зростання і змін в клітках шкіри, слизистої залози, залоз внутрішньої секреції і статевих органів. У достатніх кількостях ця кислота міститься в соняшниковій і кукурудзяній оліях і олії з виноградних кісточок. Добова доза, що рекомендується – 10 грамів, що можна задовольнити при вживанні 20 грамів соняшnikової, кукурудзяної або соєвої олії.

Брак альфа-ліноленової кислоти приводить до зниження здібності до навчання; відхиленням в передачі нервових сигналів, збільшенню небезпеки виникнення тромбозу, а також до зниження опірності до алкоголю.

У великих кількостях вона міститься в олії з насіння ріпаку, з волоського горіха і зерен пшениці. Щоденна доза, що рекомендується, – 2 грами, яка може бути отримана при щоденному вживанні 25 грамів рапсової олії. Багато учених вважають, що саме відсутність необхідних жирних кислот пов'язана з розповсюдженням захворювань системи імунного захисту.

Пам'ятайте, що *ніяке масло окремо не може дати правильного балансу олейновою, лінолевої і альфа-ліноленової кислот.* Тому до салату рекомендується змішувати два-три види олій, наприклад, оливкову, соняшникову і ріпакову.

**Незамінні ЖК.** Їх основним джерелом є рослинні олії (кукурудзяна, соняшnikова, соєва, гарбузова). Ліолева та ліоленова кислоти не

синтезуються в організмі, арахідонова синтезується із лінолевої кислоти при участі вітаміну В<sub>6</sub>. Тому ці кислоти отримали назву незамінні. *арахідонова, лінолева і ліноленова жирні кислоти якраз і «чищать» судини від відкладень. Отже невеликий шматочок сала з вітаміном F – тільки на користь в справі профілактики атеросклерозу. А наявний в ньому холестерин піде, наприклад, на створення імунних клітин (лімфоцитів і макрофагів), що рятують організм від вірусів та інших патогенів. Навіть інтелект без холестерину негодящий – в головному мозку його більше 2%.*

**Поліненасичені** кислоти входять до складу родини Омега-3 та Омега-6. Рекомендована доза складає для соняшникової олії біля однієї столової ложки на добу. Поліненасичені кислоти у свою чергу містять дві різні складові: Омегу-3 і Омегу-6. Довгий час вивчення корисних властивостей Омеги-3 не проводилося, оскільки споживаються вони зазвичай в кількості набагато менше, ніж жири Омега-6. Хоча, як з'ясувалося, користь від них значно більша.

І хоча ці жирні кислоти Омега-3 і Омега-6 незамінні для життєдіяльності організму, сам організм їх виробляти нездатен. От чому так необхідно їх споживати у складі харчових продуктів. Як тільки жири Омега-3 потрапляють в організм, вони транспортуються прямо в клітини, впливаючи на їх структуру і активність.

**Головні функції жирних ненасичених кислот Омега-3 і Омега-6:** накопичення енергії в клітках; стабілізація температури тіла; оберігання шкіри від висихання і лущення; подушка для тканин і органів; відтворення сімейства гормонів необхідних для кліток, клітинної біохімії і метаболізму енергії; серцево-судинне і імунне здоров'я.

Вони покращують роботу серця, мозку, очей і суглобів, знижують рівень шкідливого холестерину. Ці жири можуть надавати протизапальний ефект і є відмінними антиоксидантами, тобто сприяють виведенню з організму токсинів і вільних радикалів.

Науковими дослідженнями доведено, що жири Омега-3 запобігають і покращують стан при екземі, алергії, астмі, хворобі Альцгеймера, депресії і

нервових хворобах, цукровому діабеті, гіперактивності дітей, псоріазі, остеопорозі, артрозі, кардіоваскулярних проблемах, а також серйозніших хворобах, наприклад, раку простати.

Щоб зрівноважити споживання нами жирних кислот, необхідно забезпечити організм жирами Омега-3 і Омега-6 в співвідношенні хоч би 1:2 або 1:3, а краще всього вживати їх в рівних кількостях. Поки ж це співвідношення в раціоні більшості міських жителів в кращому разі виглядає як 1:5, а в гіршому 1:10. До того ж, споживання жирів в такому невідповідному співвідношенні перешкоджає хорошему засвоєнню Омеги-3.

Щоденна рекомендована доза жирів Омега-3 – 1,6 грамів для жінок і 2 грами для чоловіків. Саме така доза необхідна для нормальної життєдіяльності кліток організму. У перекладі на харчові продукти це 1 ст. ложка рапсового масла, або 1 чайна ложка льняного сім'я, або 5-10 штук сирих, не смажених горіхів, або 70 грамів свіжого лосося, або 90 грамів консервованих сардин, або 120 грамів консервованого тунця, або 3 яйця, збагачених Омегою-3. Пам'ятаєте також, що жири Омега-3 тваринного походження засвоюються гірше, ніж рослинні.

Для заправки салатів користуйтеся рапсовою, кунжутною, горіховою або хоч би оливковою олією. Регулярно вводите в своє меню рибу жирних і напівжирних сортів (лосось, макрель, оселедець, сардини, форель, тунець і ін. – 3-4 рази на тиждень по 100-150 г), а також морепродукти і ікру. Природно, краще всього вибирати свіжу, а не заморожену рибу, а також спійману в диких умовах, а не вирощену на рибній фермі, оскільки на вміст в рибі жирів Омега-3 впливає вид її живлення, а на рибних фермах риба харчується в основному мукою і комбікормом, а не планктоном.

При копченні і засолці риба втрачає деяку частину жирів Омега-3, при заморожуванні протягом року – до 50%. Консервована риба – інша справа. Тим паче, що рослинне масло відмінно оберігає жири Омега-3 від розпаду під час консервації. З'ївши одну банку сардин в оливковому маслі за 2-3 дні, ви

практично повністю забезпечите себе цими жирами. У рибі, консервованій у власному соку або у водному розчині, жирів Омега-3 декілька менше.

Спробуйте роздобути в аптеці або відділах дієтичних продуктів льняне сім'я – в ньому Омеги-3 надзвичайно багато. Його багато і в льняному маслі, яке знайти набагато важче. У деяких країнах його продаж заборонений, оскільки його передозування або несвіжість приводять до харчового отруєння.

В природних сумішах ліпідів містяться антиоксиданти, які певною мірою захищають ненасичені радикали від руйнування. До них, зокрема, належить вітамін Е, каротиноїди. Самі ненасичені жирні кислоти також проявляють антиоксидантні властивості. Вода, вуглекислота, гемоглобін також «гасять» збуджені електронні стани. На підставі вищесказаного можна було би вважати, що ненасичені жирні кислоти є небажаними компонентами природних ліпідів. Проте вони абсолютно необхідні для забезпечення агрегатного стану біологічних мембран.

Крім того, вони, на відміну від насичених жирних кислот, необмежено розчиняються у неполярних розчинниках, і тому протидіють відкладенню холестерину на стінках кровоносних судин та інших утворень ліпідної природи.

Радикали ненасичених жирних кислот хімічно активні. За місцем кратних зв'язків вони вступають в реакції приєднання, окиснення, полімеризації. Тому їх можна якісно виявити за допомогою бромної води (реакція приєднання), знебарвлення розчину перманганату калію (реакція окиснення). Для кількісного визначення ступеня ненасиченості ліпідів використовують йодометричне титрування.

Насичені жирні кислоти ми отримуємо в достатній кількості з ковбасою, сиром і іншими продуктами харчування. Оскільки в м'ясі містяться насичені жирні кислоти, то переважно включати в раціон тільки пісне м'ясо, а двічі в тиждень – свіжу рибу, яка багата ненасиченими жирними кислотами і сприяє зниженню рівня холестерину. Якщо ви смажите м'ясо, то намагайтесь

використовувати рослинне масло холодного пресування і такою ж олією слід заправляти салати.

### **Харчова цінність олій та жирів.**

Рослинні олії є обов'язковим компонентом їжі, джерелом енергетичного та пластичного матеріалу, постачальником необхідних для людини речовин, тобто є не замінним фактором харчування, який визначає біологічну ефективність харчування. Рекомендована норма жиру в раціоні людини 30-33% або 90-107 г на добу.

Тривале обмеження жирів у харчуванні або систематичне вживання жирів із заниженим вмістом необхідних компонентів, у тому числі і вершкового масла, призводить до відхилень у фізичному стані організму: порушення діяльності ЦНС, зниження стійкості організмів до інфекцій, скорочення тривалості життя.

Але і надлишкове вживання жирів небажано: ожиріння, серцево-судинні захворювання, передвчасне старіння.

У складі харчових продуктів розрізняють *видимі жири* (рослинні, тваринні, вершкове масло, маргарин, кулінарний жир) та *невидимі* (жир у м'ясі та м'ясних продуктах, рибі, молоці, крупах, хлібобулочних та конд. виробках). Поділ умовний, але широко вживається.

Найбільш важливі джерела жирів у харчуванні – рослинні олії 99,8%, вершкове масло 61,5 – 82,5 %, молочні продукти 3,5- 30%, конд. вироби (шоколад 35-40%, печиво 10-11%), крупи, сири, ковбасні вироби.

У харчуванні має значення не тільки кількість жирів, але і хімічний склад жирів, особливо жирів збагачених поліненасиченими кислотами з певним положенням подвійного зв'язку.

### **3. Класифікація ліпідів**

Пальмове і кокосове масло відносяться до групи рослинних масел, що містять у великій кількості насичені жири. Відмітною особливістю насичених жирних кислот з рослинних джерел є їх висока стійкість до дій зовнішнього середовища. Продукти, що містять їх, довго зберігаються, не набуваючи згірклого смаку. У зв'язку з цим пальмове масло активно використовується у

виробництві маргарину і сумішевих масел для поліпшення товарного вигляду і збільшення термінів придатності продуктів. Тим часом вигідні для товаровиробників насичені жири зовсім не корисні для здоров'я людини. Насичені жирні кислоти підвищують рівень холестерину в крові, сприяють розвитку атеросклерозу. У надмірному їх вживанні збільшується ризик розвитку серцевих захворювань.

Відомо, що для тих, хто задався метою підтримати і укріпити здоров'я, альтернативою вершковому маслу є маргарин на рослинній основі. Але додавання пальмового масла у вершкове зовсім не робить його безпечнішим. Також маргарини і інші продукти, виготовлені на основі пальмового масла, щонайменше, не корисні.

**Комбіновані жири**, добувають в процесі гідрогенізації рослинних жирів. Гідрування – це додання рослинним маслам твердості за допомогою водню. Ця технологія застосовується при виробництві деяких, так званих легких масел. Виявлено, що в процесі гідрогенізації рослинного масла утворюється багато транс-ізомерів жирних кислот, які є чужорідними для організму. Вважається, що транс-жири збільшують вміст в крові холестерину, порушують роботу ферментів, порушують імунітет людини, збільшують ризик розвитку діабету і онкологічних захворювань, знижують кількість чоловічого статевого гормону – тестостерону, порушують обмін речовин. При їх вживанні виникає небезпека ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарду, раки молочної залози. Велике число транс-ізомерів жирних кислот міститься в м'яких і твердих маргаринах, плавлених сирах. Це слід врахувати багатьом любителям гамбургерів, чіпсів, картоплі-фрі і кондитерських виробів, широко пропонованих в закладах швидкого харчування.

**Прості ліпіди** – ліпіди, що при гідролізі утворюють залишки жирних кислот і спиртів. До них відносяться нейтральні жири і воски, а також ефіри вітамінів А і Д з вищими жирними кислотами.



**Воски** – естери вищих спиртів і вищих жирних кислот. В складі восків знайдено декілька десятків кислот і спиртів, переважно насичених. Найчастіше зустрічаються спирти цетиловий ( $C_{16}H_{33}OH$ ) і мірициловий  $C_{30}H_{61}OH$ . У бджолиному воску, наприклад, переважає пальмітиномірициловий ефір:  $C_{15}H_{31}COOC_{30}H_{61}$ .

Воски зустрічаються як у тваринному, так і в рослинному царстві, де виконують, в основному, захисні функції. Так, в рослинах вони покривають тонким шаром листки, стебла, плоди, охороняючи їх від води і проникнення мікроорганізмів. Бджолиний віск оберігає мед, личинок бджіл. Ланолін – тваринний віск – оберігає волосся і шкіру від дії води. У фітопланктону воски виконують функцію клітинного палива.

Цікавим прикладом ролі жирів і восків у біологічній адаптації є їх використання кашалотом. В його голові, маса якої становить третину маси тіла, над верхньою щелепою знаходиться спеціальний утвір – спермацетовий мішок, на який припадає 90 % маси голови. В ньому міститься до 4 т спермацету – суміші, багаті на ненасичені вищі жирні кислоти. За допомогою цього мішка кашалот регулює плавучість. При температурі  $37^{\circ}C$  спермацет рідкий, а при  $31^{\circ}C$  – твердий. Тому кашалот може до 50 хв. знаходитись на великій глибині, полюючи на кальмарів, і підніматись на поверхню на

короткий час для поповнення запасів кисню, підтримуючи, завдяки різному стану спермацету, плавучість, відповідну густині води.

**Стериди** – це естери специфічно побудованих циклічних спиртів стеролів (стеринів) і вищих жирних кислот В організмі переважно поширені вільні стероли (близько 90 %), а не їх естери. Стероли є продуктами окиснення поліциклічного вуглеводороду циклопентанопергідрофенантрени. Вони містять чотири конденсованих кільця (це гідрофобна частина молекули) і полярну групу – ОН.

Головним стеролом у людини і тварин є холестерол (холестерин), в грибах міститься ергостерол, для рослин типовий сітостерол:

Холестерид (естер холестеролу). Стериди є обов'язковими структурними компонентами біомембран. Особливо багато їх у зовнішніх мембранах клітин (до 30 % всіх мембранних ліпідів).

Важливу біологічну роль виконують похідні стеролів, у яких вкорочений (окиснений) бічний ланцюг. До них належать стероїдні гормони, жовчні кислоти, вітамін Д. Серед наведених нижче прикладів кортикостерон є одним з найбільш поширених гормонів кори наднирників, естрадіол – жіночий статевий гормон, тестостерон – чоловічий статевий гормон, холева кислота (3,7,12-тригідроксооксихоланова) – одна із жовчних кислот:

Всього в організмі людини міститься біля 140 г холестеролу. Його концентрація в крові становить біля 2 г/л, причому третина його знаходиться у вільному стані. За нормальних умов він знаходиться у твердому стані ( $t_{пл}^0=148^0$ ). Одне з найбільш поширених сучасних захворювань – атеросклероз – пов'язане з відкладанням стеролів та стеридів на внутрішній поверхні кровоносних судин, що приводить до обмеження кровотоку, а отже інсульту, інфаркту або інших патологій.

**Складні ліпіди** – речовини, молекули яких крім залишків жирних кислот і спиртів містять також похідні ортофосфатної кислоти (фосфоліпіди), залишки вуглеводів (гліколіпіди), азотисті сполуки холін, коламін, серін. Їхні сліди є в кожній клітині, переважно у клітинних мембранах, особливо у

мозкових і нервових тканинах. Містяться СЛ в усіх природних оліях, маслі, вершках.

Складні ліпіди можна розглядати як похідні простих ліпідів, в яких залишок спирту сполучений з полярною групою. Молекули складних ліпідів мають загальний план будови. Вони містять декілька (2, 4) неполярних довгих вуглеводневих радикалів (з яких хоча б один ненасичений) і які, переважно, належать залишкам вищих жирних кислот. Це гідрофобні “хвости” молекули, сполучені із залишком спирту (який також може утворювати неполярний радикал, як, наприклад, сфінгозин). Полярна група (“голова”) представлена фосфатом, азотистою основою, вуглеводом, або його сульфопохідним. Таким чином, складні ліпіди – це дифільні молекули, які складаються з полярної “головки” і декількох неполярних хвостів:

У водному середовищі такі молекули утворюють міцели, моношари або бішари, в яких полярні “голови” орієнтовані до води, а неполярні “хвости” обернені до гідрофобної фази або повітря, уникаючи контактів з водою:

Фосфоліпіди – найбільш поширені складні ліпіди. Їх полярна група містить залишок ортофосфорної кислоти і азотистої основи або багатоатомного спирту.

Фосфоліпіди, залежно від природи спирту, сполученого із залишками вищих жирних кислот, поділяються на фосфогліцериди і сфінгомієліни. Фосфогліцериди складаються із залишку гліцерину, з'єданого по  $C_1$  і  $C_2$  із залишками вищих жирних кислот (по  $C_2$ , як правило, ненасиченої) і по  $C_3$  – із залишком фосфорної кислоти. Утворена сполука називається фосфатидною кислотою. Через залишок фосфату вона з'єднується з азотистою основою (найчастіше холіном, етаноламіном або серином) або циклічним спиртом інозитолом.

Кардіоліпіди є “подвійними” фосфогліцеридами. У них два залишки фосфатидної кислоти об'єднуються гліцероловим “містком”.

До фосфогліцеридів належать також ацетальфосфатиди (плазмоліпіди), які відрізняються від розгянутих вище представників тим, що замість одного

із залишків вищої жирної кислоти містять  $\alpha$ ,  $\beta$ -ненасичений спирт, який утворює етер із залишком гліцерину. В розбавлених кислотах вони гідролізують з утворенням альдегіду відповідного ненасиченого спирту.

Сфінгомієліни містять залишок ненасиченого аміноспирту сфінгозину. Він з'єднується із залишком вищої жирної кислоти амідним зв'язком. Утворене похідне носить назву кераміду:

За фізіологічних умов (рН біля 7,0) залишки фосфату, аміно- і карбоксильні групи полярних голів іонізовані.

Фосфоліпіди є структурними компонентами біомембран. На їх частку припадає до 50 % всіх мембранних ліпідів.

В молекулах гліколіпідів полярним компонентом служить не фосфат, а залишок вуглеводу (галактози, глюкози, манози або олігосахариду), з'єднаний з центральною ланкою ефірним зв'язком. Центральною ланкою може бути гліцерин (такі гліколіпіди винайдені в бактеріях та зелених рослинах), або сфінгозин у цереброзидах та гангліозидах). Цереброзиди містять залишок моно- або дисахариду:

До складу гангліозидів входять дуже складні розгалужені олігосахариди, що містять хоча б один залишок N-ацетилнейрамінової (сіалової) кислоти:

Вища жирна кислота містить, як правило, 24 атоми С. В клітинних мембранах винайдено більш ніж 15 класів гангліозидів. Сульфоліпіди можна розглядати як похідні гліколіпідів, в яких залишок сульфату утворює естерний зв'язок з гідроксилом вуглеводного компоненту.

Гліколіпіди, як свідчать їх назви, знаходяться у великих кількостях в нервовій тканині – мієлінових оболонках нервів, сірій речовині мозку, однак досить поширені і в інших тканинах. Гангліозиди входять до складу рецепторних ділянок мембран. При деяких хворобах гліколіпіди накопичуються в аномально великих кількостях у зв'язку з порушенням обміну.

Природні ліпіди утворюють надзвичайно складні суміші, в яких компоненти зустрічаються в різноманітних поєднаннях. Ліпіди утворюють комплекси з білками за рахунок гідрофобних взаємодій з їх неполярними групами. Такі утворення є формою транспорту ліпідів в крові, характерні для клітинних мембран.

#### **4. Властивості ліпідів**

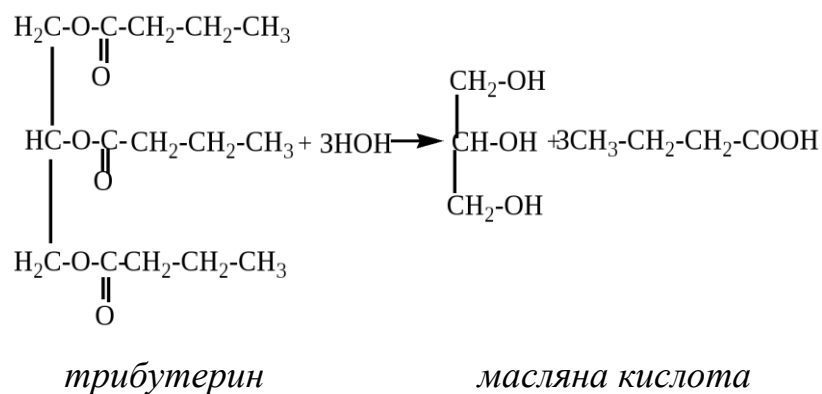
При звичайній температурі ліпіди — тверді речовини (наприклад, бараняче і яловиче сало), м'які або рідкі. Температура плавлення жирів залежить від того, які кислоти входять до їх складу. Тому визначення температури плавлення жирів дає певне уявлення про їх склад.

Жири добре розчиняються в діетиловому ефірі, бензолі, толуолі і бензині; дуже погано розчиняються у воді, утворюючи емульсії, якщо є емульгатори (білок, рослинні слизи, жироподібні речовини). Якщо емульгаторів немає через деякий час жир на поверхні води знову з'являється. природні емульсії жовток яйця, молоко. При зберіганні жири під впливом світла і кисню повітря, а також вологи набувають неприємного смаку і запаху. Цей процес, що полягає в окисненні і гідролізі жирів, називається згіркненням. Воно буває двох видів.

Гідролітичне згіркнення – зміни в жирі відбуваються під впливом ферментів або мікроорганізмів, внаслідок чого утворюються вільні жирні кислоти, гіркі на смак і з неприємним запахом.

Характерне для коров'ячого масла, у якому міститься гліцерид масляної кислоти — трибутерин. При доступі повітря коров'яче масло гіркне, відбувається гідроліз – зміни трибутерину і вивільнюється масляна кислота, гірка на смак і з неприємним запахом.

Промиваючи згіркле коров'яче масло у соді, можна видалити масляну кислоту.



Окисне згіркнення – призводить до утворення альдегідів і кетонів з коротким вуглецевим ланцюгом у молекулі, які також мають неприємний запах і смак. Для того, щоб запобігти згіркненню рослинного комбіжиру, застосовують антиоксиданти, які зменшують процес згіркнення. До антиоксидантів належать феноли, хінони, катехіни.

## 5. Методи виділення ліпідів з сировини, перетворення ліпідів при виготовленні продуктів харчування. Обмін жирів

Під час аналізу ліпідів та продуктів їх перетворення використовують класичні хімічні методи, сучасні фізико-хімічні (хроматографія, спектроскопія, рентгеноструктурний аналіз).

В практиці харчової хімії склад та кількісне визначення жирів та олій характеризують різноманітними аналітичними числами, беручи на увазі вихід певних реагентів на реакцію з жирами.

*Кислотне число* – характеризує кількість вільних жирних кислот, що містять у жирі. Визначається в мм КОН, який пішов на нейтралізацію вільних жирних кислот. У 1 г жиру. Враховуючи, що зберігання харчових продуктів завжди супроводжується гідролізом, то за величиною КЧ можна визначити якість жирів. У заводській практиці КЧ використовують для розрахунку лугу необхідного для рафінування жирів та олій.

*Число омилення* – відповідає кількості мм КОН необхідного для омилення гліцеридів та нейтралізації вільних жирних кислот в 1г жиру.

*Йодне число* – показник, який характеризує не насиченість жирних кислот. Визначається у % йоду, еквівалентного галогену, який приєднався до 100 г жиру. Броматометричний метод визначення ІЧ. ІЧ використовують для визначення виду жиру, здатності його до «висихання», розрахунку потрібної кількості водню для його гідрогенізації.

Вище вказані константи для певних жирів коливаються не в значний мірі і характеризують вид жиру та його якість.

Під час одержання продуктів харчування у ході технологічного потоку з ліпідами сировини відбуваються різноманітні перетворення; вагомі зміни відбуваються і в ліпідному комплексі продуктів під час зберігання. Всі ці зміни мають вплив на склад, а значить на харчову та біологічну ефективність готових продуктів.

Головні перетворення: Гідроліз – Окиснення – Біохімічне згіркнення.

Завдяки низькій волозії, відсутності мінеральних речовин ліпіди не піддається дії мікроорганізмів і в темряві можуть зберігатися відносно тривалий час. Оптимальні умови для зберігання: температура 4-6 °С, відносна вологість повітря 75 %. У побуті необхідно зберігати жири у закритій скляній тарі в темряві, залишаючи мінімальний повітряний простір. Тваринні жири, хоч і мають незначний вміст високо ненасичених жирних кислот, які мають достатню стійкість до зберігання, але не містять антиоксидантів і це знижує їх стійкість при зберіганні. Найбільш нестійке є вершкове масло – висока вологість, наявність білкових та мінеральних речовин сприяє розвитку мікрофлори, а отже і інтенсивним процесам біохімічного згіркнення. Фактори, які забезпечують умови зберігання вершкового масла: низька температура, відсутність світла, внесення консервантів та антиоксидантів (для маргаринів). Під час зберігання пшеничної муки відбуваються процеси гідролітичного та окислювального згіркнення. В продуктах накопичуються не бажані для організму людини речовини. Тому захист ліпідів від окиснення є важливою задачею.

**Обмін жирів.** Жир, що надходить до кишечника, під дією жирових ферментів розщеплюється на гліцерин і жирні кислоти, а потім з кров'ю розноситься по всьому організму. Частина жиру, потрапивши до клітин тіла, включається у складні біохімічні процеси, що супроводжують діяльність цих клітин, і стає їх складовим компонентом. Друга, більша, частина жиру відкладається в сполучнотканинній клітковині під шкірою, в сальнику та інших органах. Цей жир існує як резерв органічних сполук і використовується організмом при недостатньому харчуванні. Жири є розчинником деяких вітамінів, а також можуть безпосередньо окислюватись до вуглекислого газу і води. Жир швидко обмінюється в організмі, він весь час розпадається і знову синтезується. Жир є матеріалом для складних сполук – ліпоїдів, що входять, як структурні елементи до складу цитоплазми. Обмін жирів і ліпоїдів регулюється корою півкуль головного мозку через проміжний мозок і вегетативну нервову систему, яка зумовлює розклад жиру в печінці. Гормони передньої частки гіпофіза, а також гормони статевих залоз, як і тироксин щитовидної залози, посилюють окислення жиру. 100 г жиру на добу цілком задовольняють потребу людини в жирі. При жирній їжі кількість жиру в крові може досягти 1%.

### **Контрольні питання**

1. Що таке ліпіди? Які їх характерні особливості?
2. Наведіть функції ліпідів в організмі людини.
3. Чим відрізняються насичені та ненасичені ліпіди?
4. Як класифікують ліпіди?
5. Що означає поняття незамінної жирної кислоти?
6. Яка харчова цінність та добова потреба організму у жирах?
7. Що таке комбіновані жири?
8. Опишіть будову будь-якого воску.
9. Які ліпіди називають складними?
10. Опишіть основні фізико-хімічні властивості ліпідів.

## **Лекція № 6. Молекулярна організація клітини.**

### **План:**

6. Хімічний склад клітини.
7. Обмін речовин на клітинному рівні.

Клітина – це основна одиниця живого (біологічної активності), обмежена напівпроникною мембраною і здатна до самовідтворення в середовищі, що не містить живих систем.

Початок біологічної еволюції пов'язано з появою на Землі клітинних форм життя.

Одноклітинні організми являють собою існуючі окремо один від одного клітини. Тіло всіх багатоклітинних – тварин і рослин – побудовано з більшого чи меншого числа клітин, які є свого роду блоками, складовими складний організм. Незалежно від того, чи представляє собою клітина цілісну живу систему – окремий організм або становить лише його частина, вона наділена набором ознак і властивостей, загальним для всіх клітин.

### **1. Хімічний склад клітини**

Клітинне речовина є складним поліфазним колоїдом, тобто є системою з двох фаз, що змішані між собою. Одна з цих фаз структурно є цитоплазматичним матриксом і виконує роль водної фази з переходами від рідкого до твердого стану, тоді як інша є мембранною системою і виконує роль обмежувача щодо рідкої фази. Цитоплазма практично безбарвна, має властивості розчину.

У елементарному складі клітини нараховують більше 70 елементів, серед яких найбільш поширеними є кисень, вуглець, водень, азот. На частку кисню припадає 65% загальної маси, на частку вуглецю – 18%, водню – 10%, азоту – 3%.

Після цих елементів йдуть кальцій, фосфор, калій, сірка, натрій, хлор. Оскільки всі ці елементи зустрічаються в клітинах у великій кількості, часто їх називають макроелементами. Марганець, мідь, йод, кобальт та інші, які виявляються в мікроколичествах, називають мікроелементами.

Хімічні елементи беруть участь у побудові речовини клітин у вигляді іонів (катионів та аніонів) або хімічних сполук. Важливими є іони  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $Cl^-$ ,  $HCO_3^-$ .

З'єднуючись хімічними зв'язками, групи атомів утворюють так звані малі органічні молекули, якими є амінокислоти, нуклеотиди, цукру і жирні кислоти. З цих малих молекул у клітинах формуються макромолекули у вигляді білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів і ліпідів.

Клітини побудовані як з неорганічних, так і органічних сполук.

Неорганічними сполуками клітини є вода і мінеральні солі.

*Вода* становить близько 70% маси клітини. В окремих організмів, наприклад медуз, вміст перевищує 95%. У рослин дуже міцне зчеплення молекул води сприяє переносу розчинених поживних речовин з коренів в листя при транспірації. На молекулярному рівні у наземних і водних тварин, так само як і у рослин, вода визначає ряд важливих властивостей макромолекул.

У тілі людини вода становить 60%, з якої 40% припадає на внутрішньоклітинну, а 20% – на позаклітинну воду. Плазма крові містить 5% позаклітинної води.

Вода має винятково важливе значення для життєдіяльності клітин, представляючи собою середовище, в якому здійснюються найважливіші реакції, що лежать в основі синтезу і розпаду речовин. У воді добре розчиняються хлористий натрій, цукру, прості спирти, альдегіди, катіони. Ця особливість води має дуже важливе біологічне значення.

Для води характерно те, що вона володіє деякою здатністю до оборотної іонізації, в ході якої вона розпадається на іони водню ( $H^+$ ) та іони гідроксилу ( $OH^-$ ). Величини рН всіх рідин організмів виключно постійні. Їх зміни

надзвичайно несприятливі для організмів, оскільки навіть невеликі зрушення рН характеризуються значним падінням каталітичної активності ферментів.

У воді під впливом ферментів відбуваються реакції гідролізу білків та інших сполук. Вода бере участь також у виведенні з клітин продуктів обміну. Нарешті, вона підтримує тепловий режим клітини.

*Мінеральні солі* входять до складу цитоплазми. Зустрічаються калієві, натрієві, магнієві солі, солі сірчаної, соляної, фосфорної та інших кислот. Найважливіша роль мінеральних солей полягає у визначенні ними кислотно-лужного стану протоплазми. Вони необхідні також для розмноження клітин.

Органічними (вуглецевмісними) сполуками клітини є білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди і АТФ.

*Білки*, або, як їх ще називають, протеїни, є найбільш складними хімічними сполуками, що характеризуються великою молекулярною масою. До складу всіх відомих білків входять вуглець, водень, азот і кисень. У більшості білків знаходять сірку, а в деяких білках – фосфор, залізо, цинк і мідь-2). Обов'язковими складовими білків є карбоксильні групи (-COOH), атом водню і R-група, приєднана до атома вуглецю, який називають  $\alpha$ -вуглецевим атомом. Будучи макромолекулами, вони є лінійними полімерами, в яких мономерами є амінокислоти, кожна з яких складається з аміногрупи (-NH<sub>2</sub>), карбоксильної групи (-COOH), атома водню і R-групи, приєднаної до  $\alpha$ -вуглецевого атома.

Білки розрізняються за складом на прості і складні. Прості білки складаються тільки з амінокислот. Складні білки містять додаткові сполуки, як органічні, так і неорганічні.

*Вуглеводи* – це органічні сполуки вуглецю, водню і кисню з загальною формулою (C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub>O<sub>n</sub>).

Вуглеводи виконують структурну функцію, причому найпоширенішим структурним вуглеводом є целюлоза. Іншими структурними вуглеводними елементами є глікозаміноглікани-міноглікани (кислі мукополісахариди) і протеоглікани.

Вуглеводи є найважливішим джерелом енергії в організмі, яка звільняється в результаті окисно-відновних реакцій. Вуглеводи служать своєрідним поживним резервом клітин, запасаючись в них у вигляді глікогену в клітинах тварин і крохмалю в клітинах рослин.

*Ліпіди* – жири, які є сполуками, що складаються з жирних кислот і гліцерола. Ліпіди зустрічаються майже у всіх клітинах, але в основному в невеликих кількостях, хоча деякі клітини містять ці сполуки в дуже великих кількостях, що доходять до 90% їх сухої маси. Вони виявляються в нервовій тканині, чоловічих статевих клітинах, в насінні рослин. Ліпіди в поєднанні з іншими сполуками утворюють більш складні речовини і мають низку найважливіших властивостей у житті клітин. Перш за все, оскільки вуглеводи можуть переводитися в ліпіди, то останні виконують роль накопичувач енергії, бо окислення ліпідів супроводжується виділенням енергії.

Дуже важливе значення у побудові клітинних структур ліпіди набули у складі фосфоліпідів, які є одним з основних будівельних матеріалів мембран клітин. Важливу біологічну роль у житті клітин і організмів відіграють також ліпопротеїди.

Також в клітинах в дуже невеликих кількостях зустрічаються амінокислоти у вільному стані, які не зустрічаються у складі білків.

### **Вміст хімічних елементів у клітці**

У таблиці наведено дані про атомний складі клітин. З 109 елементів періодичної системи Менделєєва в клітинах виявлена значна їхня частина. Особливо великий зміст у клітині чотирьох елементів – кисню, вуглецю, азоту та водню. У сумі вони становлять майже 98% усього вмісту клітки. Наступну групу складають вісім елементів, зміст яких у клітці обчислюється десятими і сотими частками відсотка. Це сірка, фосфор, хлор, калій, магній, натрій, кальцій, залізо. У сумі вони становлять 1.9%. Всі інші елементи містяться в клітці у винятково малих кількостях (менше 0,01%)

Елементи	Кількість (у %)	Елементи	Кількість (у %)
Кисень	65-75	Кальцій	0,04-2,00
Вуглець	15-16	Магній	0,02-0,03
Водень	8-10	Натрій	0,02-0,03
Азот	1,5-3,0	Залізо	0,01-0,015
Фосфор	0,2-1,0	Цинк	0,0003
Калій	0,15-0,4	Мідь	0,0002
Сірка	0,15-0,2	Йод	0,0001
Хлор	0,05-0,1	Фтор	0,0001

Таким чином, у клітині немає яких-небудь особливих елементів, характерних тільки для живої природи. Це вказує на зв'язок і єдність живої і неживої природи. На атомному рівні розходжень між хімічним складом органічного і не органічного світу немає. Відмінності виявляються на більш високому рівні організації – молекулярному.

## 2. Обмін речовин на клітинному рівні

Для хімічних реакцій, що протікають в клітині, характерні найбільша організованість і впорядкованість: кожна реакція протікає в строго визначеному місці. Молекули ферментів розташовані в один шар на внутрішніх структурах – мембранах мітохондрій та ендоплазматичної мережі, вистилаючи їх, як кахель стінку. При цьому місце розташування ферментів не випадково: вони розташовані в тому порядку, в якому йдуть реакції. Мембрани клітини, що вистилають молекулами ферментів, уявляють свого роду «каталітичний конвеєр», на якому з винятковою точністю здійснюються хімічні реакції.

Пластичний та енергетичний обмін (асиміляція і дисиміляція). У клітці виявлено приблизно тисяча ферментів. З допомогою цього потужного каталітичного апарату здійснюється складна і різноманітна хімічна діяльність. З величезної кількості хімічних реакцій клітини виділяються два протилежних

за характером типи реакцій. Перший з них представляє реакції синтезу. У клітці постійно йдуть процеси творення. З простих речовин утворюються більш складні, з низькомолекулярних – високомолекулярні. Синтезуються білки, складні вуглеводи, жири, нуклеїнові кислоти. Синтезовані речовини використовуються для побудови різних частин клітини, її органів, секретів, ферментів, запасних речовин. Синтетичні реакції особливо інтенсивно йдуть в зростаючій клітці, а й у цілком дорослою, тобто закінчила ріст і розвиток, клітини постійно відбувається синтез речовин для заміни молекул, витрачених і зношених у процесі функціонування або зруйнованих при пошкодженні. На місце кожної зруйнованої молекули білка або якого-небудь іншої речовини постає нова молекула. Таким шляхом клітина зберігає постійно свою форму і хімічний склад, незважаючи на безперервне їх зміна в процесі життєдіяльності.

Синтез речовин, що йде в клітці, називається біологічним синтезом або скорочено біосинтезом. Всі реакції біосинтезу йдуть з поглинанням енергії.

Сукупність реакцій біосинтезу називається пластичним обміном або асиміляцією. Перше слово походить від грецького «пластікос», що означає скульптурний. Так само як скульптор з глини чи мармуру ліпить (висікає) статуя, так з речовин, синтезованих у процесі біосинтезу, клітина створює своє тіло. Друге слово (асиміляція) походить від латинського «сіміліс» (подібний, подібний). Сенс цього терміна полягає в тому, що надходять у клітину із зовнішнього середовища харчові речовини, що різко відрізняються від речовин клітини, в результаті хімічних перетворень стають подібними речовин клітини.

Другий тип хімічних реакцій клітини – реакції розщеплення. Складні речовини розпадаються на більш прості, високомолекулярні – на низькомолекулярні. Білки розпадаються на амінокислоти, крохмаль – на глюкозу. Ці речовини розщеплюються на ще більш низькомолекулярні з'єднання, і врешті-решт утворюються зовсім прості, бідні енергією речовини:  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ . Реакції розщеплення в більшості випадків супроводжуються

виділенням енергії. Біологічне значення цих реакцій полягає у забезпеченні клітини енергією, необхідної для її діяльності. Будь-яка форма активності – рух, секреція, біосинтез і ін.. – потребує витраті енергії, яка черпається з енергії, що звільняється в результаті хімічних реакцій розщеплення.

Сукупність реакцій розщеплення називається енергетичним обміном клітини або дисиміляції. Дисиміляція прямо протилежна асиміляції: в результаті розщеплення речовини втрачають схожість з речовинами клітини.

Пластичний та енергетичний обміни (асиміляція і дисиміляція) знаходяться між собою в нерозривному зв'язку. Зв'язок цей полягає в тому, що, з одного боку, реакції біосинтезу потребують затрати енергії, яка черпається з реакцій розщеплення. З іншого боку, для здійснення реакцій енергетичного обміну необхідний постійний біосинтез обслуговують ці реакції ферментів, так як в процесі своєї роботи вони зношуються і руйнуються.

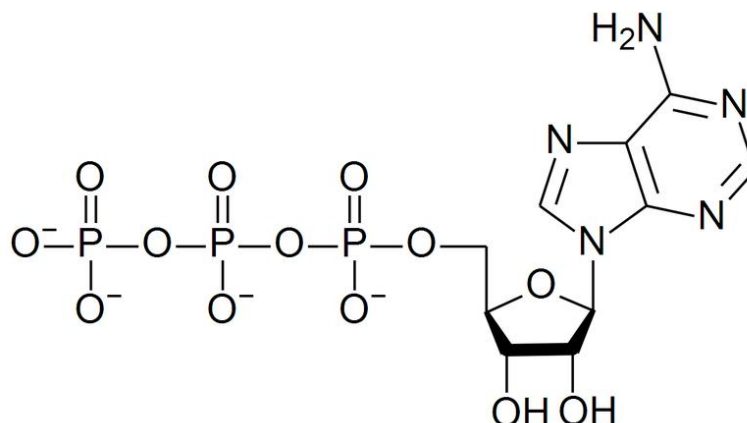
#### *Обмін речовин і енергії*

Складні системи реакцій, що становлять процес пластичного й енергетичного обміну, тісно пов'язані не тільки між собою, але і з зовнішнім середовищем. З зовнішнього середовища в клітину надходять харчові речовини, які служать матеріалом для реакцій пластичного обміну, а в реакціях розщеплення з них звільняється енергія, необхідна для функціонування клітки. У зовнішнє ж середу, виділяються продукти, які клітиною більше не можуть бути використані.

Сукупність усіх ферментативних реакцій клітини, тобто сукупність пластичного та енергетичного обмінів (асиміляції і дисиміляції), пов'язаних між собою та з зовнішнім середовищем, називається обміном речовин і енергії. Цей процес є основною умовою підтримки життя клітини, джерелом її зростання, розвитку та функціонування.

АТФ як єдине і універсальне енергетичне речовина. Будь-який прояв життєдіяльності, будь-яка функція клітини вимагають витрати енергії. Енергія потрібна для руху, для біосинтетичних реакцій і різних інших форм клітинної

активності. Будь-яка діяльність клітини завжди точно збігається в часі з розпадом АТФ.



Структурна формула АТФ

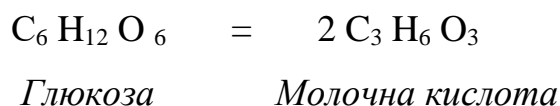
При посиленій, але короткочасній роботі, наприклад при бігу на коротку дистанцію, м'яз працює майже виключно за рахунок міститься в ній АТФ. При посиленій секреції в секреторних клітинах також йде інтенсивне розщеплення АТФ. При синтезі складних речовин, наприклад при синтезі складних вуглеводів, або білка, одночасно з синтетичною реакцією йде розпад АТФ. Звідси випливає, що безпосереднім джерелом енергії і для скорочення м'язів, і для секреції, і для синтезу складних сполук у клітині є енергія, що звільняється при розщепленні АТФ. Так як запас АТФ у клітині обмежений, то ясно, що після розпаду АТФ має відбутися її відновлення. Так воно насправді і відбувається. У цьому і полягає біологічний сенс інших реакцій енергетичного обміну. Функція цих реакцій одна: їх енергія використовується для поповнення убутку АТФ. Зрозуміло тому, що при тривалій роботі вміст АТФ у клітині істотно не змінюється. Це пояснюється тим, що реакції розщеплення вуглеводів та інших речовин забезпечують швидке і повне відновлення витраченої АТФ. Таким чином, АТФ – єдиний і універсальний джерело енергії для функціональної діяльності клітини. Звідси зрозуміло, що можлива передача енергії з одних частин клітини в інші. Синтез АТФ може відбуватися в одному місці клітини і в один час, а використовуватися вона може в іншому місці і в інший час. Синтез АТФ в основному відбувається в

мітохондріях клітини. Новоутворена тут АТФ по каналах ендоплазматичної мережі направляється в ті місця клітини, де виникає потреба в енергії.

Три етапи енергетичного обміну. Для вивчення енергетичного обміну клітини його зручно розділити на 3 послідовні етапи. Розглянемо ці етапи на прикладі тваринної клітини.

Перший етап підготовчий. На цьому етапі великі молекули вуглеводів, жирів, білків, нуклеїнових кислот розпадаються на невеликі молекули: з крохмалю утворюється глюкоза, з жирів – гліцерин і жирні кислоти, з білків – амінокислоти, з нуклеїнових кислот – нуклеотиди. Розпад речовин на цьому етапі супроводжується незначним енергетичним ефектом. Вся звільняється при цьому енергія розсіюється у вигляді тепла.

Другий етап енергетичного обміну називається без кисневим або неповним. Речовини, що утворилися в підготовчому етапі, – глюкоза, гліцерин, органічні кислоти, амінокислоти та ін – вступають на шлях подальшого розпаду. Це складний, багатоступінчастий процес. Він складається з ряду наступних одна за одною ферментативних реакцій. Ферменти, що обслуговують цей процес, розташовані на внутрішньоклітинних мембранах правильними рядами. Речовина, потрапивши на перший фермент цього ряду, пересувається, як на конвеєрі, на другий фермент, далі на третій і т. д. Це забезпечує швидке і ефективно перебіг процесу. Розберемо його на прикладі без кисневого розщеплення глюкози, яка має спеціальну назву – гліколізу. Гліколіз являє собою сукупність більше десятка послідовних ферментативних реакцій. У ньому беруть участь 13 ферментів і утворюються 12 проміжних речовин. Не зупиняючись на окремих реакціях гліколізу, зазначимо, що на першу сходинку ферментного конвеєра вступає глюкоза, а з останньою сходять дві молекули молочної кислоти. Сумарне рівняння гліколізу може бути записано так:



Процес гліколізу відбувається у всіх тварин клітин і у деяких мікроорганізмів. Всім відоме молочнокисле бродіння (при скисанні молока) викликається молочнокислими грибками і бактеріями. По механізму воно цілком тотожне гліколізу. Спиртове бродіння теж схоже на гліколіз. Більша частина реакцій гліколізу і бродіння збігаються повністю. Різниця полягає лише в завершальній стадії: при гліколізі процес закінчується утворенням молочної кислоти, а при бродінні додається ще одна ланка. З молочної кислоти під впливом ферменту, що міститься в дріжджах, виділяється  $\text{CO}_2$  і утворюється етиловий спирт:



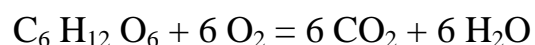
Таким чином, сумарне рівняння спиртового бродіння може бути записано так:



*Глюкоза*

*Етиловий спирт*

Як видно з рівнянь гліколізу і бродіння, в цих процесах кисень не бере участь, тому вони й називаються безкисневими (анаеробними) процесами. Цілком зрозуміло також, чому ці процеси називаються неповними: повним розщепленням глюкози буде її руйнування до кінця, тобто перетворення її в найпростіші речовини ( $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ ), що відповідає рівнянню:



Майже всі проміжні реакції при безкисневому розщепленні глюкози йдуть з виділенням енергії. Кожна окрема реакція дає невеликий вихід енергії, а в сумі виходить чимала величина: розщеплення однієї грам-молекули глюкози (180 г.) на дві грам-молекули молочної кислоти дає майже 200 кДж (50 000 кал). Якби енергія, що звільняється при перетворенні глюкози в молочну кислоту, звільнилася відразу, в результаті однієї реакції, то це призвело б до небезпечного перегріву і пошкодження клітини. Поділ ж процесу на ряд проміжних ланок обумовлює поступове виділення енергії, що охороняє клітину від теплового ушкодження.

Процес гліколізу йде тільки в присутності АТФ і АДФ, так як обидві ці речовини є обов'язковими учасниками відбуваються реакцій. АТФ необхідна на початку гліколізу, АДФ – в кінці. АТФ фосфорилує глюкозу: передаючи глюкозі залишок фосфорної кислоти, АТФ при цьому переходить в АДФ. АДФ забезпечує зворотний процес: дефосфорилування проміжних продуктів гліколізу. Приєднуючи залишок фосфорної кислоти, АДФ перетворюється в АТФ. В кінці гліколізу АТФ завжди утворюється більше, ніж її витрачається на початку. У ході неповного розщеплення однієї молекули глюкози відбувається утворення двох нових молекул АТФ. Таким чином, у результаті процесу гліколізу АТФ завжди накопичується.

Так як синтез АТФ – ендотермічний процес, то очевидно, що енергія для синтезу АТФ черпається за рахунок енергії реакцій безкисневого розщеплення глюкози. Отже, енергія, що звільняється в ході реакцій гліколізу, не вся переходить в тепло. Частина її йде на синтез двох багатих енергією фосфатних зв'язків.

Зробимо нескладний розрахунок: всього в ході безкисневого розщеплення грам-молекули глюкози звільняється 200 кДж (50 000 кал) енергії. На утворення одного зв'язку, багатою енергією, при перетворенні грам-молекули АДФ в АТФ витрачається 40 кДж (10 000 кал). В ході безкисневого розщеплення утворюються два такі зв'язки. Таким чином, в енергію двох грам-молекул АТФ переходить  $2 \times 40 = 80$  кДж ( $2 \times 10\,000 = 20\,000$  кал). Отже, з 200 кДж (50 000 кал) тільки 80 (20 000) зберігаються у вигляді АТФ, а 120 (30 000) розсіюються у вигляді тепла. Отже, в ході безкисневого розщеплення глюкози 40% енергії зберігається клітиною.

Третій етап енергетичного обміну – стадія кисневого, або повного, розщеплення, або клітинного дихання. Продукти, що виникли в попередній стадії, окислюються до кінця, тобто до  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ .

Основна умова здійснення цього процесу – наявність у навколишньому середовищі кисню і поглинання його клітиною. Стадія кисневого розщеплення, як і попередня стадія безкисневого розщеплення, - це ряд

послідовних ферментативних реакцій. Кожна реакція каталізується особливим ферментом.

Весь ферментативний ряд кисневого розщеплення зосереджений в мітохондріях, де ферменти розташовані на мембранах правильними рядами. Сутність кожної з реакцій полягає в окисненні органічної молекули, яка з кожною сходинкою поступово руйнується і перетворюється в кінцеві продукти окислення:  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ .

Всі проміжні реакції кисневого розщеплення, як і проміжні реакції без кисневого процесу, йдуть із звільненням енергії. Кількість енергії, що звільняється на кожному ступені при кисневому процесі, набагато більша, ніж на кожній ступені безкисневого процесу. У сумі кисневе розщеплення дає величину 2600 кДж (650 000 ккал) (на дві грам-молекули молочної кислоти). Якби при розщепленні молочної кислоти, що міститься в клітині, вся енергія звільнилася в результаті однієї реакції, клітина зазнала б теплового пошкодження. При розосередженні ж процесу на ряд проміжних ланок такої небезпеки немає.

Докладне дослідження стадії кисневого розщеплення показало, що в ній, як і в безкисневому процесі, відбувається утворення АТФ з АДФ. У ході кисневого розщеплення двох молекул молочної кислоти синтезуються 36 молекул АТФ, тобто 36 багатих енергією фосфатних зв'язків.

Тепер має бути ясним значення третьої стадії енергетичного обміну – кисневого розщеплення молочної кислоти. Якщо в ході безкисневого розщеплення звільняється 200 кДж (50 000 кал) (на 1 моль глюкози), то в стадії кисневого розщеплення звільняється ще 2600 кДж (650 000 кал). Якщо в ході безкисневого процесу синтезуються дві молекули АТФ, то в процесі кисневого розщеплення синтезується ще 36 молекул АТФ. Іншими словами, на стадії кисневого розщеплення утворюється понад 90% енергії, одержуваної клітиною в процесі розщеплення глюкози.

Всього в процесі розщеплення глюкози до  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ , тобто в ході процесів безкисневого та кисневого розщеплення, синтезується  $2 + 36 = 38$

молекул АТФ. Таким чином, в потенційну енергію АТФ переходить  $38 \times 40 = 1520$  кДж ( $38 \times 10\,000 = 380\,000$  кал). Всього ж при розщепленні глюкози (у безкисневій і кисневій стадії), звільняється  $200 + 2600 = 2800$  кДж ( $50\,000 + 650\,000 = 700\,000$  кал). Отже, майже 55% всієї енергії, що звільняється при розщепленні глюкози, зберігається клітиною у формі АТФ. Інша частина (45%) розсіюється у вигляді тепла. Щоб оцінити значення цих цифр, згадаємо, що в парових машинах з енергії, що звільняється при згорянні вугілля, у корисну форму перетворюється не більше 12-15%. У кращих турбінах цей відсоток підвищується до 20-25. У двигунах внутрішнього згорання він сягає приблизно 35%. Таким чином, по ефективності: перетворення енергії жива клітина перевершує всі відомі перетворювачі енергії в техніці.

При зіставленні кількості енергії, що звільняється під час безкисневого та кисневого розщеплення глюкози, а також числа молекул АТФ, які синтезуються в обидві стадії, що кисневий процес незрівнянно більш ефективний, ніж безкисневий. У стадії безкисневого розщеплення звільняється приблизно  $1/20$  частина енергії, що звільняється при кисневому процесі. Цілком зрозуміло тому, що в нормальних умовах для мобілізації енергії в клітці завжди використовується як безкисневий, так і кисневий шлях розщеплення. Якщо здійснення кисневого процесу утруднено або зовсім неможливо, наприклад при нестачі кисню, тоді для підтримки життя залишається тільки безкисневий процес. Але при цьому для отримання АТФ у кількості, необхідній для життєдіяльності, клітці доводиться розщеплювати дуже велику кількість глюкози.

### *Дихання і горіння*

Розщеплення органічних речовин, що відбувається в клітині, часто порівнюють з горінням: в обох випадках відбувається поглинання кисню і виділення продуктів окислення –  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$ . Однак склад продуктів горіння невизначений і непостійний, він змінюється в залежності від співвідношення окислюваної речовини і кисню, залежить від температури та інших умов. Дихання ж відбувається в результаті високовпорядкованого процесу, ряду

послідовних ферментативних реакцій. При горінні відбувається пряме з'єднання кисню з вуглецем, а при біологічному окисленні  $\text{CO}_2$  виникає шляхом розщеплення органічних кислот під впливом ферментів.

Таким чином, цілком ясно, що між процесами горіння і біологічного окислення існує глибока, принципова відмінність.

## **Висновок**

Клітини є високоорганізованими диференційованими утвореннями, а розмноження клітин забезпечує фізичну основу генетичної безперервності між батьківськими клітинами і дочірніми клітинами.

Через клітини відбувається поглинання, перетворення, запасання та використання речовин і енергії. Структури клітин є ареною, на якій здійснюються численні біологічні реакції, зокрема, ферментація, дихання, фотосинтез, редуплікація хромосом, причому ці процеси мають місце як у одноклітинних організмів, так і в клітинах багатоклітинних істот. Можна сказати, що життя багатоклітинних організмів ґрунтується на житті їх клітин.

## **Контрольні питання**

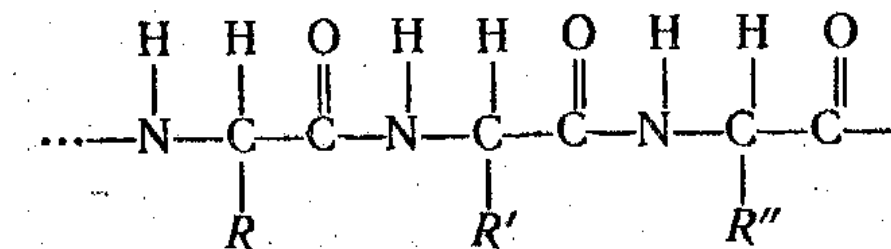
1. Наведіть особливості хімічного складу клітин.
2. Що таке іони і які іони присутні в живій клітині?
3. В чому різниця між внутрішньоклітинною і позаклітинною водою?
4. Де протікають хімічні реакції в клітині?
5. В чому роль мембранних структур в клітині? З чого вони побудовані?
6. Як пов'язані між собою процеси асиміляції та дисиміляції?
7. Опишіть безкисневе розщеплення глюкози.
8. Опишіть процес повного окислення глюкози.
9. Наведіть структурну формулу АТФ. Яке значення цієї речовини?
10. Чи витрачається енергія внаслідок енергетичного обміну?

## Лекція № 7. Будова і властивості білків.

### План:

1. Структура білка. Класифікація білків.
2. Хімічні властивості білків.
3. Значення білків.

*Білками* називають природні полімерні речовини, які складаються із залишків  $\alpha$ -амінокислот. Амінокислоти в білках сполучені пептидними зв'язками C—N. Структуру ланцюга такого білкового полімеру можна подати так:



де  $R, R', R''$  – бічні радикали однакових або різних  $\alpha$ -амінокислот.

Число залишків амінокислот, які входять до пептидного ланцюга, буває дуже значним, тому відносні молекулярні маси білків можуть досягати кількох мільйонів.

До поширених білків належать альбумін (міститься в курячих яйцях), гемоглобін (у крові людини), казеїн (у коров'ячому молоці), міоглобін та міозин (у м'язах). Білки є одними з найважливіших біологічних речовин: вони необхідні для життєдіяльності організмів.

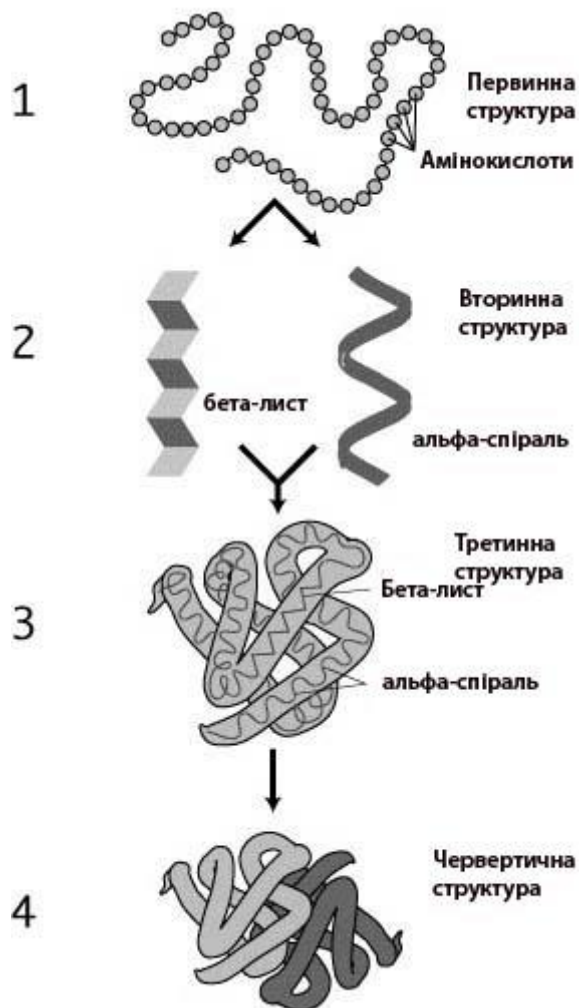
Серед білків виділяють *прості білки*, або *протеїни*, пептидні ланцюги яких створюються тільки  $\alpha$ -амінокислотами, і *складні білки*, або *протеїди*, які складаються із залишків  $\alpha$ -амінокислот та небілкових речовин.

## 1. Структура білка. Класифікація білків

Сучасні експериментальні методи дали змогу встановити структуру природних білків. Розрізняють первинну, вторинну, третинну і четвертинну структури білка.

*Первинна структура білка*—це структура пептидного ланцюга, тобто амінокислотний склад і послідовність черговості залишків амінокислот у ланцюгу білкової молекули.

Пептидний ланцюг має певну просторову форму, яка становить *вторинну структуру білка*. У природних білках пептидний ланцюг має форму спіралі, звичайно її називають  $\alpha$ -спіраллю. Спіралеподібна форма молекули зберігається за рахунок виникнення водневих зв'язків між атомами водню і кисню в пептидній групі, які розміщуються між витками спіралі.



Найпоширеніші типи вторинної структури білків включають  $\alpha$ -спіралі та  $\beta$ -листи:

$\alpha$ -спіралі – щільні витки навколо довгої осі структури, один виток становлять 4 амінокислотних залишки, спіраль стабілізована водневими зв'язками між атомами Н і О пептидних груп, віддалених одна від одної на 4 ланки. Спіраль може бути як лівозакрученою, так і правозакрученою, хоча зазвичай переважає правозакручена. Спіраль порушують електростатичні взаємодії глутамінової кислоти, лізину, аргініну, розташовані поруч аспарагін, серин, треонін і лейцин можуть стерично заважати утворенню спіралі, пролін викликає вигин ланцюга і також порушує спіраль.

$\beta$ -листи (складчасті шари) – декілька зигзагоподібних поліпептидних ланцюжків, в яких водневі зв'язки утворюються між відносно віддаленими ділянками ланцюжка або між різними ланцюжками, а не між близько розташованими амінокислотами, як це має місце в  $\alpha$ -спіралі. Ці ланцюжки зазвичай направлені N-кінцями в різні боки (антипаралельна орієнтація). Для утворення листів важливі невеликі розміри R-груп амінокислот, у цих структурах зазвичай переважають гліцин і аланін.

$\pi$ -спіралі;

$3_{10}$ -спіралі;

невпорядковані фрагменти.

Для опису вторинної структури часто використовується номенклатура DSSP, що описує окремі елементи цієї структури за допомогою однобуквеного коду. DSSP – акронім «Словника вторинної структури білків» (англ. Dictionary of Protein Secondary Structure), який був заголовком статті, що ввела ці позначення, і фактично є списком елементів вторинної структури білків з відомою тривимірною структурою (Kabsch і Sander, 1983).

G = 3-амінокислотна спіраль ( $3_{10}$ -спіраль). Мінімальна довжина 3 амінокислоти.

H = 4-амінокислотна спіраль (альфа-спіраль). Мінімальна довжина 4 амінокислоти.

I = 5-амінокислотна спіраль (пі-спіраль). Мінімальна довжина 5 амінокислот.

T = поворот, стабілізований водневими зв'язками (3, 4 або 5 амінокислот)

E = бета-лист в паралельній або антипаралельній конфігурації. Мінімальна довжина 2 амінокислоти.

B = амінокислота в ізольованому бета-містку (формація з одної пари водневих зв'язків бета-листа)

S = поворот (єдина нестабілізована водневими зв'язками структура в списку)

У DSSP амінокислотні залишки, які входять до одної з наведених структур, позначаються як " " (пробіл), або іноді позначається як C (кільце) або L (петля). Спіралі (G, H і я) і листові структури – всі повинні мати розумну довжину. Це означає, що два сусідні залишки в первинній структурі повинні сформувати той же тип водневого зв'язку. Якщо спіралі або стабілізований водневими зв'язками лист дуже короткі, вони позначаються як T або B відповідно. Існують й інші категорії елементів вторинної структури (круті повороти, омега-петлі тощо), але вони використовуються відносно рідко.

У свою чергу,  $\alpha$  - спіраль може займати певне положення в просторі, яке визначає *третинну структуру білка*. Таке положення білкової молекули також пов'язане з наявністю водневих зв'язків. Білкові молекули, які мають певне просторове розміщення (третинну структуру), називають *глобулами*.

Під *четвертинною структурою білка* розуміють просторове розташування самих глобул.

Свою біологічну функцію білки виконують при умові, що зберігаються вторинна і третинна структури. Руйнування третинної і вторинної структур називається *денатурацією білка*. При денатурації зберігається тільки первинна структура білка, тобто пептидний ланцюг. Денатурацію білків може викликати дія хімічних речовин (кислот, лугів, спиртів, ацетону), нагрівання, підвищений тиск, радіоактивне опромінення.

За складом виділяють прості і складні білки. Прості білки містять тільки амінокислоти, зв'язані в ланцюжки. На відміну від них складні білки мають також неамінокислотні групи. Ці додаткові групи у складі складних білків називаються простетичними групами. Деякі простетичні групи служать кофакторами, необхідними для роботи ферментів. Інші, такі як полісахаридні ланцюжки, допомагають білку приймати потрібну конформацію і додають додаткову стабільність. Прикладами органічних простетичних груп в складі білків служать гем (в складі гемоглобіну), тіамін, біотин та інші. Неорганічні простетичні групи найчастіше складаються з іонів металів, найпоширенішими з яких є цинк, магній і молібден. За типом простетичної групи складні білки поділяють на глікопротеїни, ліпопротеїни, хромопротеїни, нуклеопропротеїни, фосфопропротеїни, металопротеїни та деякі інші.

Розмір білка може вимірюватися за числом амінокислот або в одиницях молекулярної маси – дальтонах – Да (частіше, у зв'язку із великими розмірами молекул, в похідних одиницях – кілодальтонах – кДа). Найбільшим відомим одиничним білком є тітін (компонент саркомер м'язів), що містить понад 29 тис. амінокислот і має молекулярну масу 3 МДа, а найбільший внутрішньоклітинний білковий комплекс – комплекс ядерної пори хребетних тварин – має масу біля 125 МДа. Проте, загалом важко говорити про найбільший розмір білкового комплексу, тому що часто комплекси мають дуже обмежений час життя, крім того, весь цитоскелет клітини, або позаклітинна матриця цілого організму може вважатися єдиним комплексом. Найменший білок також важко визначити, багато білків, що мають ензиматичну активність, не перевищують за розміром кілька десятків амінокислот, багато пептидних гормонів мають ще менші розміри. Інколи найменшим білком вважать єдину невелику амінокислоту пролін, що має самостійну каталітичну активність.

## **2. Хімічні властивості білків**

Білки також характеризуються ізоелектричною точкою (pI) – кислотністю середовища рН, при якому молекула даного білка не несе електричного заряду. Чим більше в даному білку гідроксильних груп (основних залишків), тим вище за нього pI. Білки з pI меншим за 7 називаються кислотними, а білки з pI більшим за 7 – основними. В цілому, pI білка залежить від функції, яку він виконує, так білки, що зв'язуються з нуклеїновими кислотами часто відносяться до основних білків. Прикладом таких білків служать гістони.

За ступенем розчинності у воді білки бувають розчинними (гідрофільними) і нерозчинними (гідрофобними). До останніх відносяться більшість білків, що входять до складу біологічних мембран, тобто інтегральних мембранних білків, які взаємодіють з гідрофобними ліпідами мембрани.

Важливою властивістю білків є здатність їх до гідролізу під дією кислот або біологічно активних речовин—*ферментів*. В результаті гідролізу руйнуються пептидні ланцюги білків і утворюється суміш  $\alpha$ -амінокислот. Під час гідролізу протеїдів крім амінокислот утворюються і інші речовини.

Для білків характерні кольорові реакції, за допомогою яких здійснюють якісний хімічний аналіз білків:

а) біуретова реакція – дія на білок розчину лугу і розчину сульфату міді (II), при цьому розчин набуває фіолетового забарвлення;

б) ксантопротеїнова реакція (для білків, що містять бензольні ядра)—дія концентрованої азотної кислоти з появою жовтого забарвлення. При добавлянні лугу жовте забарвлення змінюється на оранжеве;

в) цистеїнові реакція (для білків, що містять сірку) – кип'ятіння розчину білка з ацетатом свинцю (II) з появою чорного забарвлення;

г) реакція Меллона (для білків, що містять фрагменти фенолу) – кип'ятіння розчину білка з реактивом Меллона (розчином, який містить  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  і  $\text{HNO}_2$ ) з появою червоного забарвлення;

д) реакція з нітропрусидом натрію (для білків, що містять групи —SH), з яким білки дають червоне забарвлення в аміачному середовищі.

Як правило, білки протягом досить довгого часу зберігають структуру і, отже, фізико-хімічні властивості, наприклад, розчинність, в умовах (таких як рН, температура), до яких пристосований даний організм або які підтримуються в його межах в результаті збереження гомеостазу. Різка зміна цих умов, наприклад, внаслідок нагрівання або обробки білка кислотою чи лугом, приводить до втрати четвертинної, третинної і вторинної структур білка, цей процес називається денатурацією. Відомий випадок денатурації білка в побуті – приготування курячого яйця, коли під впливом високої температури розчинний у воді прозорий білок овальбумін стає щільним, нерозчинним і непрозорим.

Білки, що використовуються в технологічних методах і вимагають нетипових умов, часто підбираються з екстремофілів – організмів, здатних проживати в екстремальних умовах. Так, наприклад, ДНК-полімераза Таq, що використовується в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР), може витримувати без денатурації багаторазове нагрівання до 95 °С. Вона була спочатку виділена з бактерії *Thermus aquaticus*. Денатурація в деяких випадках оборотна, як, наприклад, при преципітації водорозчинних білків за допомогою солей амонію, і використовується як спосіб їхнього очищення.

Білки виділяють переважно з рослин і тварин. Ведуться роботи з штучного добування білкових речовин. Так, синтезовані білки інсулін і рибонуклеаза.

### **3. Значення білків**

Класифікація білків за функцією може бути як біохімічною, тобто за типом безпосередньої біохімічної функції, яку білок виконує в організмі, так і заснованою на головних клітинних процесах, один з кроків яких виконує даний білок. В останньому випадку класифікація включає такі категорії.

Обробка та збереження інформації (процеси реплікації, експресії генів та підтримки геному);

Клітинні процеси та сигнали (контроль клітинного циклу, підтримка структури клітини та органів, транспорт, модифікації макромолекул, сигнальні системи);

Метаболізм (отримання та перетворення енергії, синтез та транспорт ліпідів, амінокислот, цукрів, неорганічних молекул, вторинних метаболітів).

У кожному організмі є невелика кількість білків, які виконують дві чи більше операцій. Найчастіше ці операції належать до одного функціонального блоку. Наприклад, лізил-тРНК-синтетаза ссавців є інформаційним білком, що приєднує лізин до тРНК і також регулює реплікацію ДНК і транскрипцію кількох генів. Білок CtrA бактерії *Caulobacter crescentus* контролює клітинний цикл через регуляцію реплікації і транскрипції. Аналіз геномів показав, що у різних організмів існує велика різниця у кількості білків, що виконують ту чи іншу функцію. Особливо це стосується операційних білків від яких залежить адаптація організму до його екологічної ніші. Цікаво, що у людини та деяких інших організмів частина білків не повністю закодована в успадкованому геномі. Так, велика різноманітність імуноглобулінів досягається за рахунок рекомбінації та мутацій відповідних генів, що тривають протягом усього життя в клітинах імунної системи. Також, не треба забувати, що виявлення функцій білків ще не закінчилося: у будь-якому організмі 20% чи більше білків виконують функції, про які ще нічого не відомо.

Функції білків в клітині різноманітніші, ніж функції інших біополімерів – полісахаридів і нуклеїнових кислот. Так, білки-ферменти каталізують протікання біохімічних реакцій і грають важливу роль в обміні речовин. Деякі білки виконують структурну або механічну функцію, утворюючи цитоскелет, що є важливим засобом підтримки форми клітин. Також білки грають важливу роль в сигнальних системах клітин, клітинній адгезії, імунній відповіді і клітинному циклі.

Білки – важлива частина харчування тварин і людини, оскільки ці організми не можуть синтезувати повний набір амінокислот і повинні отримувати частину з них із білковою їжею. У процесі травлення протелітичні ферменти руйнують спожиті білки, розкладаючи їх до рівня амінокислот, які використовуються при біосинтезі білків організму або піддаються подальшому розпаду для отримання енергії.

Білки є необхідним компонентом харчових продуктів. У процесі приготування їжі (кип'ятіння, смаження тощо) вони звичайно денатуруються: в такому вигляді вони легше перетравлюються. Білки, які людина вживає з їжею, зазнають гідролізу. Амінокислоти, що утворилися, йдуть на побудову білків організму.

Білки входять до складу багатьох лікарських препаратів.

### **Контрольні питання**

1. Наведіть загальну формулу білка.
2. Чому білки складаються лише з  $\alpha$ -амінокислот?
3. Що таке структури білка? Які вони бувають??
4. Опишіть різновиди вторинної структури білка.
5. В чому вимірюється розмір молекули білка?
6. Які основні хімічні властивості білків?
7. Наведіть якісні реакції на білки.
8. Які функції виконують білки в живих організмах?.
9. Що означає поняття незамінної амінокислоти або білка?
- 10.Що таке денатурація білка? Чим вона характеризується?

## Лекція № 8. Нуклеїнові кислоти.

### План:

1. Загальна структура нуклеїнових кислот.
2. Дезоксирибонуклеїнова кислота.
3. Рибонуклеїнова кислота.

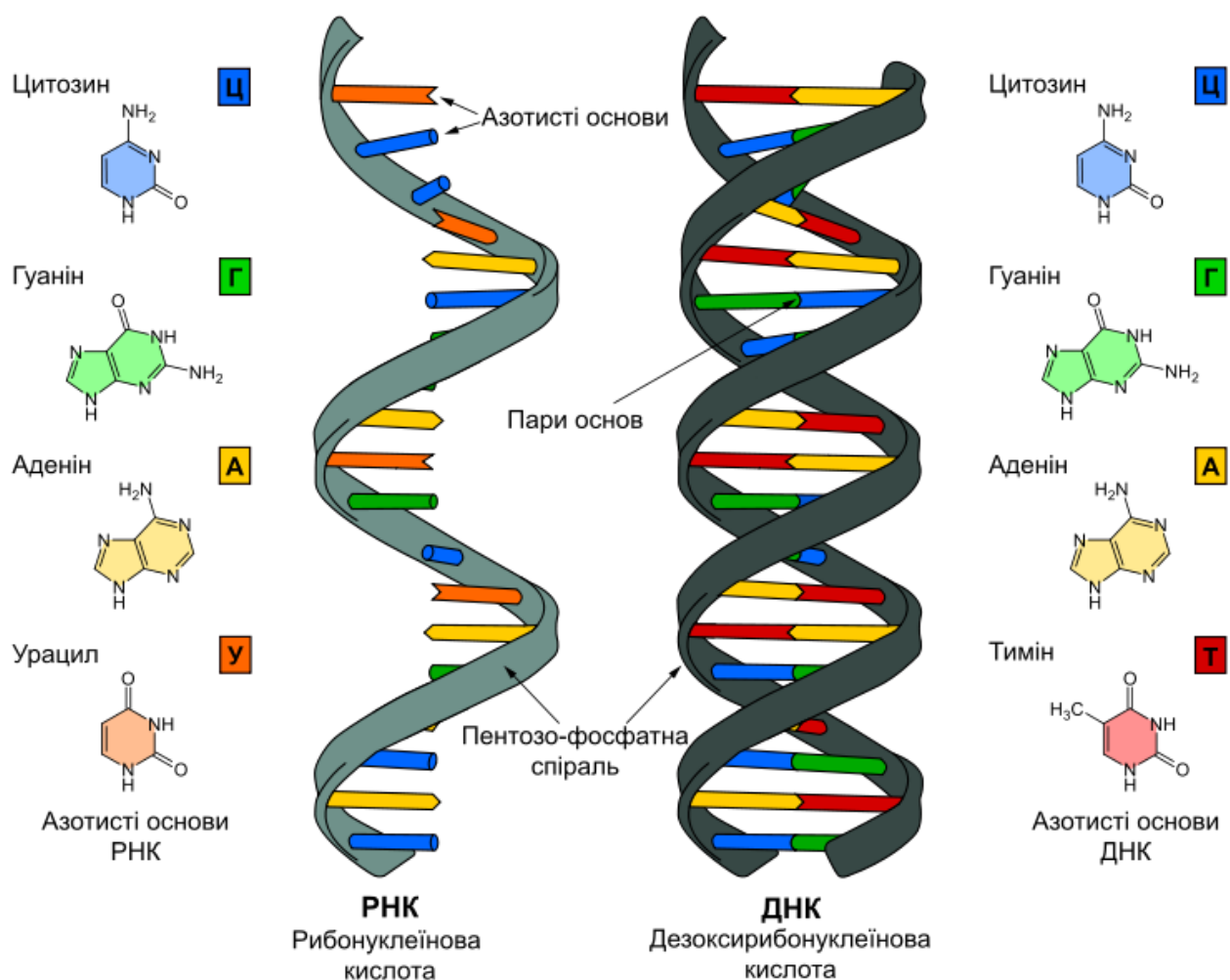
### 1. Загальна структура нуклеїнових кислот

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

Природні нуклеїнові кислоти – ДНК і РНК – виконують у всіх живих організмах роль передачі і експресії генетичної інформації. Цей термін був введений Рихардом Альтманом. Вперше їх виявлено в ядрі клітини, звідки й походить назва цих сполук (від лат. нуклеус – ядро). Молекула нуклеотиду складається із залишків нітрогенвмісного гетероциклу (азотистої основи), п'ятиуглецевого моносахариду (пентози) і фосфатної кислоти. Розрізняють два типи нуклеїнових кислот: дезоксирибонуклеїнову (ДНК) і рибонуклеїнову (РНК). До складу ДНК входить залишок пентози дезоксирибози, до складу РНК – рибози.

Залежно від природи нуклеотидів, НК належать до двох груп – дезоксирибонуклеїнові та рибонуклеїнові кислоти (ДНК (DNA) і РНК (RNA)). Мають оптичну активність, обертають площину поляризації світла вправо. Первинна структура їх – регулярний лінійний ланцюг, в якому один нуклеозидний залишок з'єднується з сусіднім від-повідно по 3'- і 5'-гідроксильних групах фосфатною(між-нуклеотидною) ланкою, кожна з котрих зберігає одну йонізовану групу(кислотну), що надає їм властивостей поліелектроліту та забезпечує водорозчинність при високих молекулярних масах. Гідролізуються в піримідинові та пуринові основи(аденін, цитозин, гуанін, тимін, урацил), D-рибозу або 2-деокси-D-рибозу та фосфатну кислоту. Є

основними органічними речовинами ядер біологічних клітин. Синонім – полінуклеотиди.



Порівняння структури дволанцюгової ДНК та одноланцюгової РНК та азотистих основ, що входять до їх складу

Нуклеїновим кислотам, як і білкам, притаманна первинна структура – певна послідовність розташування нуклеотидів, а також складніша вторинна і третинна структури, які формуються за допомогою водневих зв'язків, електростатичним та іншим взаємодіям.

Нуклеїнові кислоти є біополімерами, мономерами яких є нуклеотиди. Нуклеотиди є складними ефірами нуклеозиду і фосфорної кислоти і з'єднуються через залишок фосфорної кислоти (фосфодіестерний зв'язок). Нуклеозид складається з цукру – пентози (рибози або дезоксирибози, залежно від типу нуклеїнової кислоти) і азотистої основи (пуринової або

піримідинової). Відстань між нуклеотидами в складі полінуклеотиду становить 0,34 нм.

Вперше були виділені у 1868 році з ядер лейкоцитів ран людини у результаті досліджень Фрідріха Мішера. Зустрічаються два типи кислот: дезоксирибонуклеїнова (ДНК) і рибонуклеїнова (РНК). Це найбільш високомолекулярні речовини у клітині; маса ДНК у декілька сот разів перевищує масу РНК. Вперше їх виявлено в ядрі клітини, звідки й походить назва цих сполук (від лат. *нуклеус* – ядро).

Отже, розрізняють ДНК та РНК.

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота. Цукор – дезоксирибоза, азотисті основи: пуринові – гуанін (G), аденін (A), піримідинові – тимін (T) і цитозин (C). ДНК часто складається з двох полінуклеотидних ланцюжків, направлених антипаралельно.

РНК – рибонуклеїнова кислота. Цукор – рибоза, азотисті основи: пуринові – гуанін (G), аденін (A), піримідинові урацил (U) і цитозин (C). Структура полінуклеотидного ланцюжка аналогічна такій в ДНК, дволанцюжкові РНК зустрічаються тільки у вірусів. Через особливість рибози, молекули РНК часто мають різні вторинні і третинні структури, утворюючи комплементарні ділянки між різними ланцюжками.

## **2. Дезоксирибонуклеїнова кислота**

У клітинах еукаріотів (наприклад, тварин, рослин або грибів) ДНК міститься в ядрі клітини в складі хромосом, а також в деяких клітинних органелах (мітохондріях і пластидах). У клітинах прокаріотів (бактерій і архей) кільцева або лінійна молекула ДНК, так званий нуклеоїд, міститься в цитоплазмі і прикріплена зсередини до клітинної мембрани. У них і у нижчих еукаріотів (наприклад дріжджів) зустрічаються також невеликі автономні кільцеві молекули ДНК, так звані плазміди. Крім того, одно- або дволанцюгові молекули ДНК можуть утворювати геном ДНК-вірусів.

З хімічної точки зору ДНК – це довга полімерна молекула, що складається з послідовності блоків – нуклеотидів. Кожний нуклеотид складається з азотистої основи, цукру (дезоксирибози) і фосфатної групи (або гомологічної арсенічної). Зв'язки між нуклеотидами в ланцюжку утворюються за рахунок дезоксирибози і фосфатної групи. У переважній більшості випадків (окрім деяких вірусів, що містять одноланцюжкові ДНК) макромолекула ДНК складається з двох ланцюжків, орієнтованих азотистими основами один проти одного. Ця дволанцюжкова молекула утворює спіраль. В цілому структура молекули ДНК отримала назву «подвійної спіралі».

У ДНК зустрічається чотири види азотистих основ (аденін, гуанін, тимін і цитозин) (виняток становлять випадки пізніших модифікацій нуклеотидів, наприклад метилювання). Азотисті основи одного з ланцюжків сполучені з азотистими основами іншого ланцюжка водневими зв'язками згідно з принципом комплементарності: аденін з'єднується тільки з тиміном, гуанін – тільки з цитозином. Послідовність нуклеотидів дозволяє «кодувати» інформацію про різні типи РНК, найважливішими з яких є інформаційні, або матричні (мРНК), рибосомальні (рРНК) і транспортні (тРНК). Всі ці типи РНК синтезуються на матриці ДНК (тобто за рахунок копіювання послідовності ДНК у послідовність макромолекули, що синтезується) у процесі транскрипції і беруть участь у біосинтезі білків (процесах сплайсингу і трансляції). Крім кодівних послідовностей, ДНК клітини містить послідовності, що виконують регуляторні і структурні функції. Ділянки кодівної послідовності разом із регуляторними ділянками називаються генами.

У геномах еукаріотів містяться також довгі послідовності без очевидної функції (некодівні послідовності, або інтрони). Також у складі геному досить поширені генетичні паразити – транспозони і вірусні або схожі на них послідовності.

Розшифровка структури ДНК (виконана в 1953 році) стала одним з поворотних моментів в історії біології. За видатний внесок у це відкриття

Френсісу Кріку, Джеймсу Ватсону і Морісу Вілкінсу була присуджена Нобелівська премія з фізіології і медицини 1962 року.

Полімер ДНК має досить складну структуру. Нуклеотиди ковалентно сполучені між собою в довгі полінуклеотидні ланцюжки. Ці ланцюжки в переважній більшості випадків (окрім деяких вірусів, що мають одноланцюжковий ДНК-геном), у свою чергу, попарно об'єднуються за допомогою водневих зв'язків у структуру, що отримала назву подвійної спіралі. Фосфатні групи формують фосфодіестерні зв'язки між третім і п'ятим атомами вуглецю сусідніх молекул дезоксирибози, в результаті взаємодії між 3-гідроксильною групою (3-ОН) однієї молекули дезоксирибози і 5-фосфатною групою (5-PO<sub>3</sub>) іншої. Таким чином, асиметричні кінці ланцюжка ДНК називаються 3' (три-прайм) і 5' (п'ять-прайм). Полярність ланцюжка грає важливу роль при синтезі ДНК (подовження ланцюжка можливе тільки шляхом приєднання нових нуклеотидів до вільного 3'-кінця).

Як вже було сказано вище, у переважній більшості живих організмів ДНК складається не з одного, а з двох полінуклеотидних ланцюжків. Ці два довгі ланцюжки закручені один навколо іншого у вигляді подвійної спіралі, що стабілізується водневими зв'язками, які утворюються між повернутими один до одного азотистими основами ланцюжків, що входять до неї. У природі ця спіраль зазвичай правозакручена. Напрями від 3'-кінця до 5'-кінця в двох ланцюжках, з яких складається молекула ДНК, протилежні (ланцюжки «антипаралельні» один одному).

Ширина подвійної спіралі в її найпоширенішій В-формі становить від 22 до 24 Å, або 2,2 – 2,4 нм, а довжина кожного нуклеотида 3,3 Å (0,33 нм). Довжина всієї молекули залежить від виду організму, та може складати від десятків мікрон у деяких вірусів до кількох метрів (в одній хромосомі) у деяких рослин. Подібно до того, як в гвинтових сходах збоку можна побачити сходинки, на подвійній спіралі ДНК в проміжках між фосфатним остовом молекули можна бачити ребра основ, кільця яких розташовані в площині, перпендикулярній до подовжньої осі макромолекули.

У подвійній спіралі розрізняють малу (12 Å) і велику (22 Å) борозенки. Білки, наприклад, фактори транскрипції, які приєднуються до певних послідовностей в дволанцюжковій ДНК, зазвичай взаємодіють з краями основ у великій борозенці, де вони доступніші.

Кожна основа на одному з ланцюжків зв'язується з однією певною основою на іншому ланцюжку. Таке специфічне зв'язування називається комплементарним. Пуринові основи комплементарні піримідиновим (тобто, здатні до утворення водневих зв'язків з ними): аденін утворює зв'язки тільки з тиміном, а цитозин – з гуаніном. У подвійній спіралі ланцюжки також зв'язані за допомогою гідрофобної взаємодії і стекінгу, які не залежать від послідовності основ ДНК.

Комплементарність подвійної спіралі означає, що інформація, що міститься в одному ланцюжку, міститься і в іншому ланцюжку. Оборотність і специфічність взаємодій між комплементарними парами основ важлива для реплікації ДНК і решти всіх функцій ДНК в живих організмах.

Оскільки водневі зв'язки нековалентні, вони легко розриваються і відновлюються. Ланцюжки подвійної спіралі можуть розходитися як замк-блискавка під дією ферментів (гелікази) або при високій температурі.

Різні пари основ утворюють різну кількість водневих зв'язків. Пари А-Т зв'язані двома, G-C – трьома водневими зв'язками, тому на розрив пар GC потрібно більше енергії. Відсоток GC-пар і довжина молекули ДНК визначають кількість енергії, необхідної для дисоціації ланцюжків: довгі молекули ДНК з великим вмістом GC більш «тугоплавкі».

Якщо узятися за кінці мотузки і почати скручувати їх у різні боки, вона стає коротшою і на мотузці утворюються великі «супервитки». Також може бути суперскручена й ДНК. У звичайному стані ланцюжок ДНК робить один оберт на кожні 10,4 основ, але в суперскрученому стані спіраль може бути згорнута тугіше або розплетена. Виділяють два типи суперскрученості: позитивну – у напрямі нормальних витків, при якому основи розташовані ближче одна до одної; і негативну – в протилежному напрямку. У природі

молекули ДНК зазвичай перебувають в стані негативної суперскрученості, який вноситься ферментами, – топоізомеразами. Ці ферменти вилучають додаткову скрученість, що виникає в ДНК в результаті транскрипції та реплікації.

Традиційно некодівні послідовності ДНК, за винятком промоторів, що безпосередньо передують відкритим рамкам зчитування, розглядалися як «сміттєва ДНК» (англ. junk DNA). Проте тепер накопичується дедалі більше даних, що суперечать цій ідеї й свідчать про різноманітні корисні функції цих послідовностей. Теломери і центромери містять мале число генів, але вони важливі для функціонування і стабільності хромосом. Розповсюджена форма некодівних послідовностей людини – псевдогени, копії генів, інактивовані в результаті мутацій. Ці послідовності є чимось подібним до молекулярних скам'янілостей, хоча іноді вони можуть служити початковим матеріалом для дуплікації і подальшої дивергенції генів.

Інший тип некодівної ДНК, що однак транскрибується в РНК – інтрони. Інтрони також є джерелом різноманітності білків в організмі, бо можуть використовуватися як «лінії розрізу і склеювання» при альтернативному сплайсингу. Нарешті, послідовності, що не кодують білок ДНК, можуть кодувати допоміжні клітинні РНК, наприклад малі ядерні РНК. Недавнє дослідження транскрипції геному людини показало, що 10% геному дає початок поліаденільованим РНК, а дослідження геному миші показало, що 62% його транскрибується.

### **Взаємодія ДНК з білками**

Всі функції ДНК залежать від її взаємодії з білками. Взаємодії можуть бути як неспецифічними, коли білок приєднується до будь-якої молекули ДНК, або залежати від наявності особливої послідовності. Ферменти також можуть взаємодіяти з ДНК. Найважливіші з них – полімерази, що копіюють послідовність основ ДНК на РНК у процесі транскрипції, а також на нову ДНК при синтезі нового ланцюжка – реплікації.

Добре вивченими прикладами взаємодії білків і ДНК, незалежної від нуклеотидної послідовності, є взаємодія із структурними білками. У клітинах ДНК зв'язана з цими білками, утворюючи компактну структуру – хроматин. У випадку еукаріотів та багатьох архей хроматин утворюється за допомогою невеликих лужних білків – гістонів. У решти архей та бактерій ДНК менш щільно упакована за допомогою ряду інших білків, хоча серед них і знайдені гомологічні гістонам білки. Гістони формують дископодібні білкові структури – нуклеосоми, навколо кожної з яких вміщається два оберти спіралі ДНК. Неспецифічні зв'язки між гістонами і ДНК утворюються за рахунок іонних зв'язків лужних амінокислот гістонів і кислотних залишків цукрофосфатного остову ДНК. Хімічні модифікації цих амінокислот включають метилювання, фосфорилування і ацетилювання. Ці хімічні модифікації змінюють силу взаємодії між ДНК і гістонами, впливаючи на доступність специфічних послідовностей для факторів транскрипції і змінюючи швидкість транскрипції. Інші білки у складі хроматину, які приєднуються до неспецифічних послідовностей, – білки з високою рухливістю в гелях, що асоціюють переважно із зігнутою ДНК. Ці білки важливі для утворення в хроматині структур вищого порядку.

Особлива група білків, що приєднуються до ДНК, – білки, які асоціюють з одноланцюжковою ДНК. Найкраще охарактеризований білок цієї групи у людини – реплікаційний білок А, без якого неможливе протікання більшості процесів, де розплітається подвійна спіраль, включаючи реплікацію, рекомбінацію і репарацію ДНК. Білки цієї групи стабілізують одноланцюжкову ДНК і запобігають формуванню стебел-петель або деградації ДНК нуклеазами.

Водночас інші білки розпізнають специфічні послідовності й приєднуються до них. Найбільш вивчена група таких білків – різні класи факторів транскрипції, тобто білки, що регулюють транскрипцію. Кожен з цих білків розпознає свою послідовність, часто в промоторі, й активує або пригнічує транскрипцію гену. Це відбувається при асоціації факторів

транскрипції з РНК-полімеразою або безпосередньо, або через білки-посередники. Полімераза асоціює спочатку з білками, а потім починає транскрипцію. В інших випадках фактори транскрипції можуть приєднуватися до ферментів, які модифікують гістони, що знаходяться на промоторах, і, таким чином, змінюють доступність ДНК для полімераз.

Оскільки специфічні послідовності зустрічаються в багатьох місцях геному, зміни в активності одного типу факторів транскрипції можуть змінити активність тисяч генів. Відповідно, ці білки часто регулюються в процесах відповіді на зміни в навколишньому середовищі, розвитку організму і диференціацію клітин. Специфічність взаємодії факторів транскрипції з ДНК забезпечується численними контактами між амінокислотами і основами ДНК, що дозволяє їм «читати» послідовність ДНК. Більшість контактів з основами відбуваються в головній борозенці, де основи доступніші.

### **3. Рибонуклеїнова кислота**

РНК (рибонуклеїнова кислота) – клас нуклеїнових кислот, лінійних полімерів нуклеотидів, до складу яких входять залишок фосфорної кислоти, рибоза (на відміну від ДНК, що містить дезоксирибозу) і азотисті основи – аденін, цитозин, гуанін і урацил (на відміну від ДНК, що замість урацила містить тимін).

РНК синтезуються в клітинах всіх клітинних живих організмів, а також містяться в віроїдах та деяких вірусах. Основні функції РНК в клітинних організмах залежать від типу РНК. Кодуючі РНК є матрицею для трансляції генетичної інформації в білки, некодуючі РНК виконують додаткові функції, такі як транспорт амінокислот до рибосом, регуляція експресії генів тощо. В вірусах РНК може бути носієм генетичної інформації, замість ДНК. Віроїди складаються з кільцевої молекули РНК та не містять в собі інших молекул.

Існує гіпотеза світу РНК, згідно з якою, РНК виникли до білків й були першими формами життя.

Клітинні РНК утворюються в ході процесу, що зветься транскрипцією, тобто синтезу РНК на матриці ДНК, що здійснюється спеціальними ферментами – РНК-полімерази. Потім матричні РНК (мРНК) беруть участь у процесі, що називається трансляцією. Трансляція – це синтез білка на матриці мРНК за участю рибосом. Інші РНК після транскрипції піддаються хімічним модифікаціям, і після утворення вторинної та третинної структур виконують функції, що залежать від типу РНК.

Для одноланцюжкових РНК характерні різноманітні просторові структури, в яких частина нуклеотидів одного і того ж ланцюга спарені між собою. Деякі високо структуровані РНК беруть участь у синтезі білка клітини, наприклад, транспортні РНК служать для впізнавання кодонів та доставки відповідних амінокислот до місця синтезу білка, а матричні РНК служать структурною і каталітичною основою рибосом.

Однак функції РНК в клітинах не обмежуються їх роллю в трансляції. Так малі ядерні РНК беруть участь у сплайсингу еукаріотичних матричних РНК та інших процесах.

Крім того, що молекули РНК входять до складу деяких ферментів (наприклад, теломерази) у окремих РНК виявлена власна ензиматична активність, здатність вносити розриви в інші молекули РНК або, навпаки, «склеювати» два РНК-фрагмента. Такі РНК називаються рибозимами.

Геноми ряду вірусів складаються з РНК, тобто у них вона відіграє роль, яку у вищих організмів виконує ДНК. На підставі різноманітності функцій РНК в клітині була висунута гіпотеза, згідно з якою РНК – перша молекула, здатна до самовідтворення в добіологічних системах.

Нуклеотиди РНК складаються з цукру – рибози, до якої в положенні 1 'приєднано одна з азотистих основ: аденін, гуанін, цитозин або урацил. Фосфатна група поєднує рибози в ланцюжок, утворюючи зв'язку з 3 'атомом вуглецю однієї рибози і в 5' становищі іншого. Фосфатні групи при фізіологічному рН негативно заряджені, тому РНК – поліаніонів. РНК транскрибується як полімер чотирьох азотистих основ: (аденіну (А), гуаніну

(G), урацилу (U) і цитозину (C)), але в «зрілої» РНК є багато модифікованих основ і цукрів. Всього в РНК налічується близько 100 різних видів модифікованих нуклеозидів, з яких 2'-О-метилрибоза найчастіша модифікація цукру, а псевдоуридин – найбільш розповсюджена модифікація азотистих основ РНК. У псевдоуридину (Ψ) зв'язок між урацилом і рибозою не С – N, а С – С, цей нуклеотид зустрічається в різних положеннях у молекулах РНК. Зокрема, псевдоуридин важливий для функціонування тРНК. Також заслуговує на увагу модифікована основа – гіпоксантин, деамінований гуанін, нуклеозид якого носить назву інозину. Інозин відіграє важливу роль у забезпеченні виродженності генетичного коду. Роль багатьох інших модифікацій не до кінця вивчена, але в рибосомальній РНК багато пост-транскрипційних модифікацій знаходяться у важливих для функціонування рибосоми ділянках. Наприклад, на одному з рибонуклеотидів, що беруть участь в утворенні пептидного зв'язку.

Азотисті основи у складі РНК можуть утворювати водневі зв'язки між цитозином і гуаніном, аденіном і урацилом, а також між гуаніном і урацилом. Однак можливі й інші взаємодії, наприклад, кілька аденінів можуть утворювати петлю, або петля, що складається з чотирьох нуклеотидів, в якій є пара основ аденін – гуанін.

Важлива структурна особливість РНК, що відрізняє її від ДНК – наявність гідроксильної групи в 2 'положенні рибози, яка дозволяє молекулі РНК існувати в А, а не В-конформації, що найчастіше спостерігається у ДНК. У А-форми глибока і вузька велика борозенка і неглибока і широка мала борозенка. Другий наслідок наявності 2 'гідроксильної групи полягає в тому, що конформаційної пластичні, тобто не беруть участь в утворенні подвійної спіралі, ділянки молекули РНК можуть хімічно атакувати інші фосфатні зв'язки та їх розщеплювати. «Робоча» форма одноланцюжкової молекули РНК, як і у білків, часто володіє третинною структурою. Третинна структура утворюється на основі елементів вторинної структури, що утворюється за допомогою водневих зв'язків усередині однієї молекули. Розрізняють декілька

типів елементів вторинної структури – стебло-петлі, петлі і псевдовузли. У силу великої кількості можливих варіантів спарювання азотистих основ передбачення вторинної структури РНК – набагато складніше завдання, ніж передбачення вторинної структури білків, але в наш час є ефективні програми, наприклад, mfold.

Прикладом залежності функцій молекул РНК від їх вторинної структури є ділянки внутрішньої посадки рибосоми (IRES). IRES – структура на 5' кінці інформаційної РНК, яка забезпечує приєднання рибосоми в обхід звичайного механізму ініціації синтезу білка, що вимагає наявності особливого модифікованого підстави (кепа) на 5' кінці і білкових факторів ініціації. Спочатку IRES були виявлені у вірусних РНК, але зараз накопичується все більше даних про те, що клітинні мРНК також використовують IRES-залежний механізм ініціації в умовах стресу. Багато типів РНК, наприклад, рРНК і мяРНК (малі ядерні РНК) в клітині функціонують у вигляді комплексів з білками, які асоціюють з молекулами РНК після їх синтезу або (у еукаріотів) експорту з ядра в цитоплазму. Такі РНК-білкові комплекси називаються рибонуклеопротейновими комплексами або рибонуклеопротейдами.

### **Види РНК**

Матрична рибонуклеїнова кислота (мРНК) – це РНК, що відповідає за перенесення інформації про первинну структуру білків від ДНК до місць синтезу білків. мРНК синтезується на основі ДНК в ході транскрипції, після чого, у свою чергу, використовується під час трансляції як матриця для синтезу білків. Тим самим мРНК грає важливу роль в «прояві» (експресії) генів.

Довжина типової зрілої мРНК становить від кількох сотень до кількох тисяч нуклеотидів. Найдовші мРНК відмічені у (+) оц РНК-вмісних вірусів, наприклад пікорнавірусів, проте слід пам'ятати, що у цих вірусів мРНК утворює весь їхній геном.

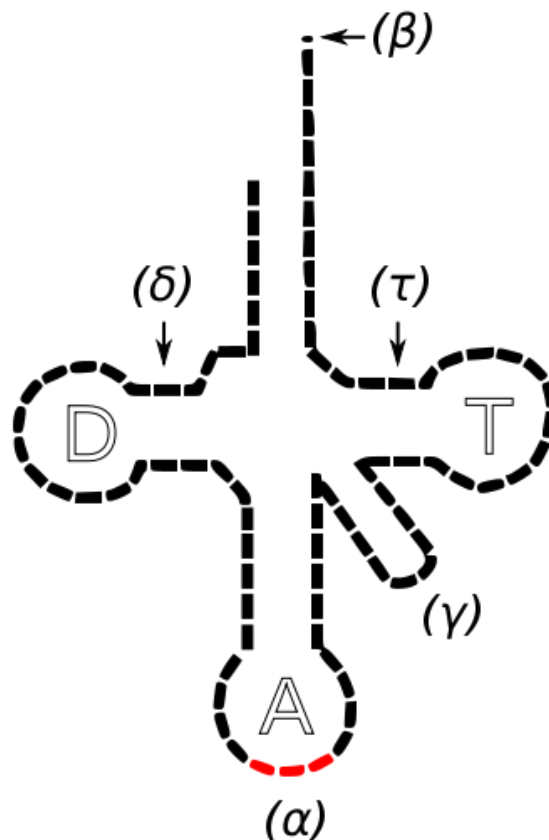
ДНК нерідко порівнюють з кресленнями для виготовлення білків. Розвиваючи цю інженерно-виробничу аналогію, можна сказати, що, якщо

ДНК – це повний набір креслень для виготовлення білків, що знаходиться на зберіганні в сейфі директора заводу, то мРНК – тимчасова робоча копія креслення, що видається в складальний цех.

Однак переважна більшість РНК не кодують білок. Ці некодуєчі РНК можуть транскрибувати з окремих генів (наприклад, рибосомні РНК) або бути похідними інтронів. Класичні, добре вивчені типи некодуєчих РНК – це транспортні РНК (тРНК) і рРНК, які беруть участь у процесі трансляції. Існують також класи РНК, відповідальні за регуляцію генів, процесинг мРНК і інші ролі. Крім того, є й молекули некодуєчих РНК, здатні каталізувати хімічні реакції, такі, як розрізання та лігірування молекул РНК. За аналогією з білками, здатними каталізувати хімічні реакції – ензимами (ферментами), каталітичні молекули РНК називаються рибозімами.

Решту видів РНК називають некодуєчими.

Транспортні РНК (тРНК) – малі молекули, що складаються з приблизно 80 нуклеотидів, з консервативною третинною структурою. Вони переносять специфічні амінокислоти до місця синтезу пептидного зв'язку в рибосомі. Кожна тРНК містить ділянку для приєднання амінокислоти і антикодон для пізнавання та приєднання до кодону мРНК. Антикодон утворює водневі зв'язки з кодоном, що поміщає тРНК в положення, що сприяє утворенню пептидного зв'язку між останньою амінокислотою утвореного пептиду і амінокислотою, приєднаною до тРНК.



Структура транспортної РНК.  $\alpha$  — Антикодонова петля,  $\beta$  — акцепторне стебло, що містить три нуклеотиди ЦЦА, до яких приєднується амінокислота,  $\gamma$  — варіабельна петля,  $\delta$  — D петля,  $\tau$  — Т $\psi$ С петля, де  $\psi$  — псевдоуридин.

Рибосомальні РНК (рРНК) – каталітична складова рибосом. Еукаріотичні рибосоми містять чотири типи молекул рРНК: 18S, 5.8S, 28S і 5S. Три з чотирьох типів рРНК синтезуються в полісом. У цитоплазмі рибосомальні РНК з'єднуються з рибосомальними білками і формують нуклеопротейн, званий рибосомою. Рибосома приєднується до мРНК і синтезує білок. рРНК становить до 80% РНК, що виявляється в цитоплазмі еукаріотичної клітини.

Незвичайний тип РНК, який діє як тРНК і мРНК (тмРНК), виявлений у багатьох бактеріях і пластидах. При зупинці рибосоми на дефектних мРНК без стоп-кодонів тмРНК приєднує невеликий пептид, що направляє білок на деградацію.

МікроРНК (21-22 нуклеотиди в довжину) знайдені в еукаріот і впливають через механізм РНК-інтерференції. При цьому комплекс мікроРНК

і ферментів може призводити до метилювання нуклеотидів в ДНК промотора гена, що служить сигналом для зменшення активності гена. При використанні іншого типу регуляції мРНК, комплементарна мікроРНК, деградує. Однак є й мікроРНК, які збільшують, а не зменшують експресію генів.

Малі інтерферуючі РНК (міРНК, 20—25 нуклеотидів) часто утворюються в результаті розщеплення вірусних РНК, але існують і ендогенні клітинні міРНК. Малі інтерферуючі РНК також діють через РНК-інтерференцію за схожими з мікроРНК механізмами.

РНК бере безпосередню участь в синтезі білків, зокрема у процесингу.

Багато РНК беруть участь в модифікації інших РНК. Інтрони вирізують з про-мРНК сплайсосоною, яка, крім білків, містить декілька малих ядерних РНК (мяРНК). Крім того, інтрони можуть каталізувати власне вирізання (аутосплайсинг).

Синтезована в результаті транскрипції РНК також може бути хімічно модифікована. У еукаріотів хімічні модифікації нуклеотидів РНК, наприклад, їх метилювання, виконується малими ядерними РНК (мяРНК, 60—300 нуклеотидів). Цей тип РНК локалізується в ядерці і тільцях Кахала.

Після асоціації мяРНК з ферментами, мяРНК зв'язуються з РНК-мішенню шляхом утворення пар між основами двох молекул, а ферменти модифікують нуклеотиди РНК-мішені.

Рибосомальні і транспортні РНК містять багато подібних модифікацій, конкретне положення яких часто зберігається в процесі еволюції. Також можуть бути модифіковані мяРНК і самі мяРНК.

Під час трансляції тРНК приєднують певні амінокислоти в цитоплазмі і направляється до місця синтезу білка на мРНК де зв'язується з кодоном і віддає амінокислоту, яка використовується для синтезу білка.

У деяких вірусів РНК виконує подібні функції, як ДНК у еукаріотів. Також інформаційну функцію виконує мРНК, яка переносить інформацію про білок і є місцем його синтезу.

Деякі типи РНК беруть участь у регулюванні експресії генів збільшуючи чи зменшуючи їх активність. Це так звані міРНК (малі інтерферуючі РНК), мікроРНК та піРНК. З'єднуючись з білками аргонавтами, ці молекули РНК утворюють комплекс RISC, який пригнічує трансляцію білка.

Також існують так звані ферменти, які відносяться до РНК. Вони називаються рибозамаи. Ці ферменти виконують різноманітні функції і мають своєрідну будову.

### **Контрольні питання**

1. Що таке нуклеїнові кислоти?
2. Опишіть загальну структуру НК.
3. Чим відрізняються ДНК і РНК?
4. Що таке нуклеотид? Які є види нуклеотидів?
5. Охарактеризуйте будову ДНК.
6. Як будова ДНК пов'язана з її функціями?
7. Яким чином кодується інформація в ДНК?
8. Як ДНК взаємодіє з білками?
9. Опишіть будову і функції різних видів РНК.
10. Яка структура транспортної РНК? Як це пов'язано з її функціями?

## **Лекція № 9. Біосинтез білка.**

### **План:**

1. Загальні відомості.
2. Транскрипція.
3. Процесинг.
4. Трансляція.

### **1. Загальні відомості**

Біосинтез (або просто синтез) білків – процес, за допомогою якого клітини будують білки. Термін іноді використовується для посилення виключно на процес трансляції, але частіше означає багатокроковий процес, що включає біосинтез амінокислот, транскрипцію, процесинг (включаючи сплайсинг), трансляцію та посттрансляційну модифікацію білків. Біосинтез білків, хоча й дуже подібний, дещо відрізняється між представниками трьох доменів життя – еукаріотами, археями та бактеріями.

Під час транскрипції відбувається зчитування генетичної інформації, зашифрованої в молекулах ДНК, і запис цієї інформації в молекули мРНК. Під час ряду послідовних стадій процесингу з мРНК видаляються деякі фрагменти, непотрібні в подальших стадіях (сплайсинг), і відбувається редагування нуклеотидних послідовностей. Після транспортування зрілої молекули мРНК з ядра до рибосом відбувається власне синтез білкових молекул шляхом приєднання окремих амінокислотних залишків до поліпептидного ланцюжка, що росте. На останній стадії посттрансляційної модифікації відбуваються зміни новосинтезованого білка додаванням небілкових молекул до білка та ковалентними модифікаціями його амінокислот.

## 2. Транскрипція

Транскрипція – процес синтезу РНК з використанням ДНК як матриці, що відбувається у всіх живих клітинах, іншими словами, це перенесення генетичної інформації з ДНК на РНК.

У випадку синтезу з частини ДНК, що кодує білок – з так званих білок-кодуєчих генів, транскрипція є першим кроком біосинтезу білків, процесу, який кінець кінцем приводить до перекладу генетичного коду, через мРНК як проміжної ланки, у поліпептидну послідовність білка.

У випадку, коли синтезується некодуєча РНК – молекула, послідовність якої не буде переведена в амінокислотну послідовність білків, транскрипція є самостійною одиницею і наслідки синтезованої нкРНК для клітини залежать вже від типу нкРНК: тРНК чи рРНК беруть участь у біосинтезі білків, якщо синтезовані малі ядерні РНК – у сплайсингу, міРНК, піРНК та мікроРНК – регулюють експресію генів. Проте багато випадків транскрипції призводять до нефункціональної молекули РНК, яка деградує швидко.

Транскрипція каталізується ферментом ДНК-залежною РНК-полімеразою. Процес синтезу РНК протікає в напрямку від 5'- до 3'- кінця, тобто РНК-полімераза рухається матричним (також антизмістовним) ланцюжком ДНК у напрямку 3'→5' (див. мал. «Схематичне зображення транскрипції РНК»). Транскрипція різних видів РНК здійснюється різними РНК-полімеразами.

Рівень транскрипції більшості генів чітко регулюється за допомогою факторів транскрипції. Саме на цьому етапі відбувається більша частина регуляції експресії генів. Проте і якість синтезованих РНК регулюється на різних етапах транскрипції, абортивне завершення транскрипції (термінація) призводить до неповної молекули РНК, яка часто деградується за допомогою спеціальних механізмів, таких як робота ядерної екзосоми чи інших РНКаз

Ділянка ДНК, на якій відбувається синтез РНК носить назву транскриптон.

Зазвичай процес транскрипції поділяється на 4 стадії – пре-ініціацію, ініціацію, елонгацію і термінацію.

#### Пре-ініціація

В еукаріот: РНК-полімераза, а отже й ініціація транскрипції, вимагає наявності промоторної послідовності. Промотор – ділянка ДНК, що запускає транскрипцію і (у еукаріот) знаходиться за 30, 75 та 90 нуклеотидних пар до точки початку транскрипції (старт-сайт). Фактори транскрипції – білки, що зв'язуються з промоторною послідовністю.

#### Ініціація

У прокариот транскрипція починається зі зв'язування РНК-полімерази із промотором. Прокаріотична РНК-полімераза містить 5 субодиниць: 2  $\alpha$  субодиниці, 1  $\beta$  субодиницю, 1  $\beta'$  субодиницю і 1  $\omega$  субодиницю, – разом ці субодиниці утворюють ядро фермента (core). На початку ініціації ензим зв'язаний із  $\sigma$ -фактором, який допомагає відшукувати потрібні -35 та -10 точки попереду промоторної послідовності. Поєднання РНК-полімерази із  $\sigma$ -фактором носить назву голофермент.

В еукаріотів ініціація набагато складніший процес. Еукаріотична РНК-полімераза не розпізнає промотор. Натомість, група білків, названих факторами транскрипції, з'єднуються з промотором і лише після цього РНК-полімераза «сідає» на ланцюг ДНК формуючи комплекс ініціації транскрипції.

#### Промоторне очищення

Щойно перший зв'язок синтезовано, РНК-полімераза повинна очистити промотор від факторів транскрипції. В цей проміжок часу фермент синтезує короткі («усічені») шматки РНК. Цей процес зветься обірвана («абортівна») ініціація і він спільний для прокариотів та еукаріотів.

У прокариот, обірвана ініціація триває допоки не буде синтезовано ланцюг РНК із пороговою довжиною у 10 нуклеотидів, після чого промотор звільняється від комплексу ініціації і формується комплекс елонгації.  $\sigma$ -фактор від'єднується від РНК-полімерази за стохастичною моделлю. Промотор від'єднується завдяки «скрипучому» механізму, який забезпечує

накопичення необхідної кількості енергії шляхом псевдосинтезу РНК під час обірваної ініціації та розрив зв'язків між голоферментом і білками на промоторі.

В еукаріот, після кількох циклів 10-ти нуклеотидної обірваної ініціації відбувається промоторне очищення, що збігається із фосфорилуванням серин-5 С-кінцевого домена РНК-полімерази II. Це призводить до запуску ензиму кепування мРНК (англ. mRNA-capping enzyme). Точний механізм, яким цей фермент індукує промоторне очищення в еукаріотів і досі не з'ясований.

### Елонгація

Один ланцюг ДНК – матрична нитка (або некодуюча нитка), стає матрицею для синтезу РНК. Щойно розпочинається транскрипція, РНК-полімераза переміщується матричною ниткою і, використовуючи властивість комплементарності основ, будує на ДНК-матриці РНК копію. Хоча РНК-полімераза проходить матричною ниткою від 3'→ 5', кодує нитка і новостворена РНК також можуть бути використані як опорні точки, так що транскрипція може бути описана так, ніби то відбувається в напрямку 5'→ 3'. Це родить молекулу РНК точною копією кодуєчного ланцюга (за винятком того, що тимін замінений урацилом, і нуклеотиди складаються з рибози, тоді як у ДНК – дезоксирибоза).

Транскрипція мРНК може втягувати кілька РНК-полімераз на єдиній матриці ДНК і тривати циклічно (ампліфікація частин мРНК), так що з однієї копії гена можна швидко синтезувати багато молекул мРНК.

Елонгація також включає в себе коректуючий механізм, який може замінити неправильно включені основи. У еукаріот, він може відповідати коротким паузами під час транскрипції, що дозволяють зв'язуються із новосинтезованим ланцюгом відповідним факторам редагування РНК. Ці паузи можуть виникати також через особливість дії РНК-полімерази або через структуру хроматину.

### 3. Процесинг

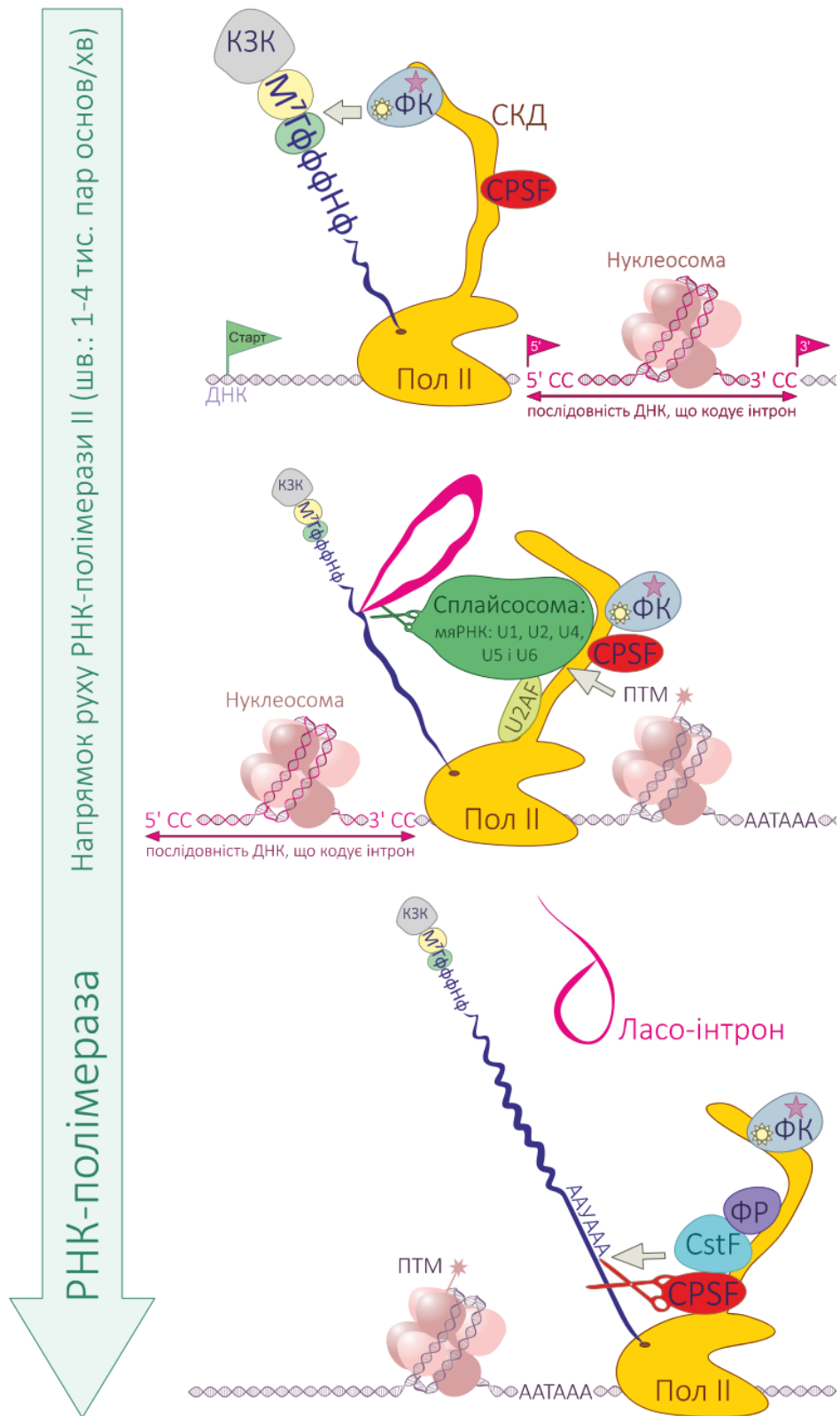
Молекулярні механізми, пов'язані з "дозріванням" різних типів РНК називаються процесингом. Процесинг пре-мРНК відбувається безпосередньо під час транскрипції в складі РНК-полімеразного комплексу. Молекула пре-мРНК зазнає ряд послідовних редагувань, які забезпечують дозрівання функціонуючої матриці для синтезу поліпротеїнового ланцюжка. З появою процесингу в еукаріотичній клітині стало можливо комбінування екзонів та вилучення інтронів гену для отримання більшої різноманітності білків, що кодуються єдиною послідовністю ДНК.

Кепування. При утворенні кепу на зрілій мРНК відбувається приєднання до транскрипту 7-метилгуанозину через трифосфатний місток, що сполучає їх в незвичайній позиції 5'-5', а також метилювання рибоз двох перших нуклеотидів. Процес кепування починається ще до закінчення транскрипції молекули пре-мРНК. Функції кеп-групи складаються в регулюванні експорту мРНК з ядра, захисту 5'-кінця транскрипту від екзонуклеаз та зв'язування мРНК з рибосоною в процесі ініціації трансляції.

Сплайсинг. Пре-мРНК піддається видаленню інтронів. Процес каталізується сплайсосоною і називається сплайсингом.

Поліаденілювання. Поліаденілювання полягає в приєднанні до 3'-кінця транскрипту від 100 до 200 залишків аденілової кислоти, що здійснюється спеціальним ферментом полі(А)-полімеразою.

Транспорт мРНК. Тоді як у прокариотів (бактерій та архей) синтез та процесинг мРНК відбувається в цитоплазмі, в еукаріотів він відбувається в клітинному ядрі, після чого зріла мРНК повинна транспортуватися до цитоплазми, де знаходяться рибосоми. Цей процес відбувається за допомогою приєднання до мРНК допоміжних білків, експортинів, які проходять через ядерні пори та вивільняють мРНК в цитоплазмі.



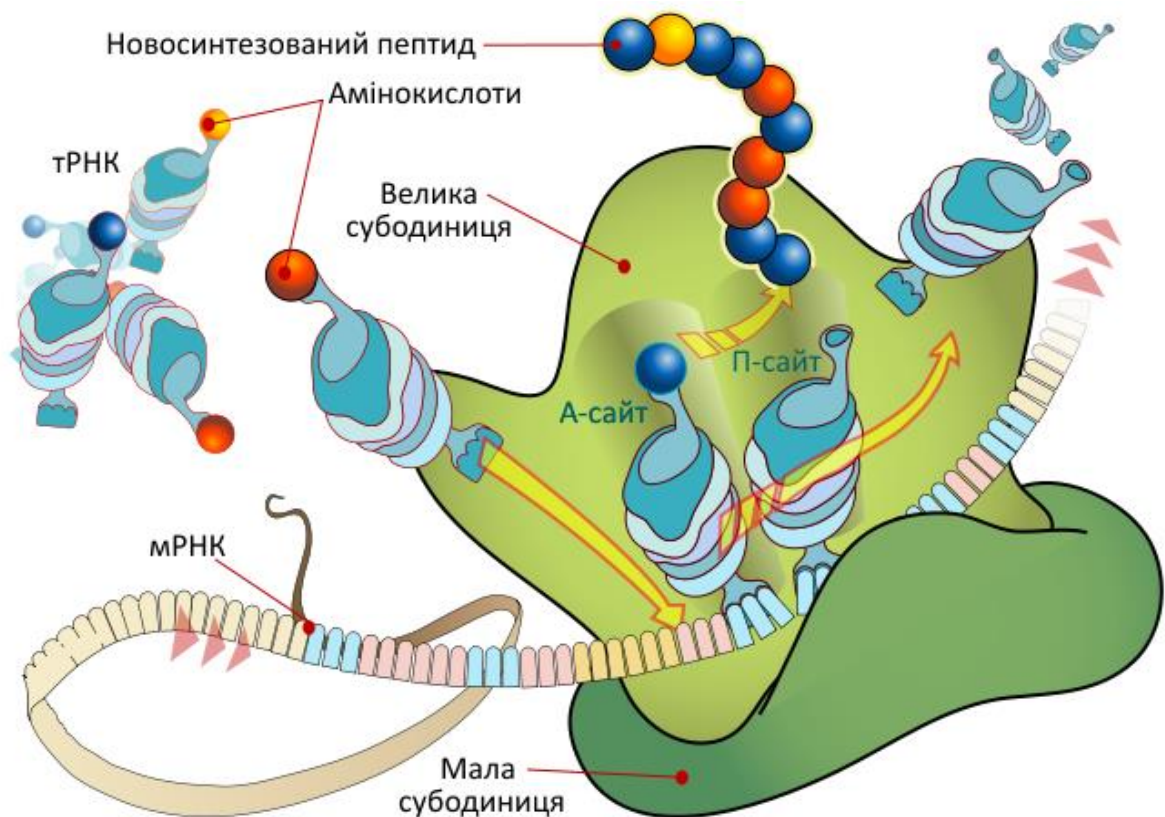
Схематичне зображення ко-транскрипційного процесингу пре-мРНК до зрілої мРНК. Пол II – РНК-полімераза II; Старт – стартова точка транскрипції; синя хвиляста лінія – синтезована пре-мРНК; ФК – фактори кепування; СКД – С'-кінцевий домен РНК-полімерази II; Зірочки – фермент, що приєднує кеп (англ. mRNA-capping enzyme), та гуаніл-N7-метилтрансфераза; КЗК – кеп-зв'язуючий комплекс (англ. cap binding complex);

Сплайсосома; 5'CC, 3'CC – 5' та 3' сплайс сайти; ПТМ – модифікації гістонових хвостів нуклеосоми; Ласо – вирізаний інтрон; ААТAAA – сайт поліаденілування; CPSF – фактор, що специфічно розрізає ділянку полі-А (англ. Cleavage-Polyadenylation Specificity Factor), CstF – фактор, що стимулює розрізання (англ. Cleavage stimulation Factor) та ФР – інші фактори розрізання. Докладніше див. процесинг РНК.

(Автор рисунку – Helixitta, CC BY-SA 4.0)

#### 4. Трансляція

Трансляція – процес синтезу білків з амінокислот, що каталізується рибосомою на матриці матричної РНК (мРНК). Трансляція є однією зі стадій процесу біосинтезу білків, у свою чергу частини процесу експресії генів.



Загальна схема трансляції (автор рисунку – LadyofHats)

Трансляція відбувається в цитоплазмі, де знаходяться рибосоми клітини. Під час трансляції, інформація, що міститься в мРНК, розшифровується згідно з правилами, відомими як генетичний код, та використовується для синтезу закодованої поліпептидної послідовності. Процес трансляції можна поділити на чотири фази: активацію, ініціацію, елонгацію та термінацію.

При активації, відповідна амінокислота (aa) приєднується до відповідної транспортної РНК (тРНК). Хоча ця стадія часто розглядається окремо від трансляції, вона необхідна для її початку. Зв'язана з амінокислотою тРНК називається аміноацил-тРНК або «зарядженою» тРНК. При ініціації мала субодиниця рибосоми зв'язується з 5'-кінцем мРНК за допомогою факторів ініціації (IF), інших білків, що допомагають процесу. Елонгація відбувається, коли чергова аміноацил-тРНК використовується для збільшення поліпептидного ланцюжка. Термінація відбувається, коли рибосома зустрічає стоп-кодон (UAA, UAG або UGA), для якого не існує відповідної тРНК, при цьому відбувається звільнення поліпептидного ланцюжка.

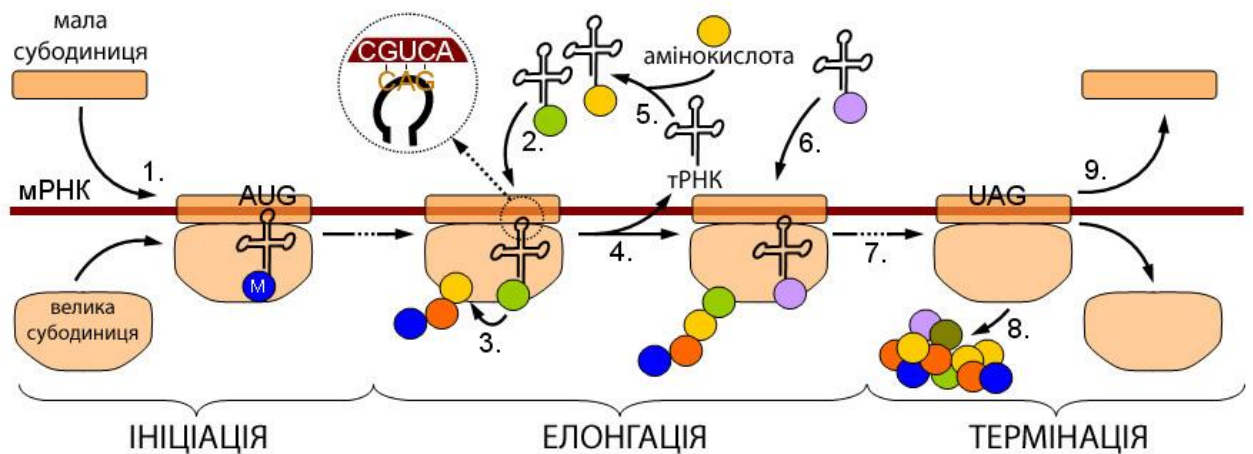
Для здійснення процесу трансляції в клітинах усіх без винятку організмів існують спеціальні органели – рибосоми. Рибосоми є рибонуклеопротейдними комплексами, побудованими з 2 субодиниць: великої і малої. Функція рибосом полягає в розпізнаванні тринуклеотидних кодонів мРНК, підборі відповідних ним амінокислот і приєднанні цих амінокислот до білкового ланцюжка, що росте. Рухаючись уздовж молекули мРНК, рибосома розпізнає кодон за кодоном і синтезує білок відповідно інформації, закладеної в молекулі мРНК.

Для розпізнавання амінокислот в клітині існують спеціальні «адаптери», молекули транспортної РНК (тРНК). Ці молекули, що мають форму конюшиного листа, мають ділянку (антикодон), комплементарну кодону мРНК, та іншу ділянку, до якої приєднується амінокислота, що відповідає цьому кодону. Приєднання амінокислот до тРНК здійснюється в екзоенергетичній реакції ферментами аміноацил-тРНК-синтетазами, а молекула, що отримується в результаті, називається аміноацил-тРНК. Таким чином, специфічність трансляції визначається взаємодією між кодоном мРНК і антикодоном тРНК, а також специфічністю аміноацил-тРНК-синтеназ, що приєднують амінокислоти строго до відповідних їм тРНК (наприклад, кодону

GGU відповідатиме тРНК, що містить антикодон ССА, а до цієї тРНК приєднуватиметься тільки амінокислота гліцин).

Механізми трансляції прокариотів (бактерій та архей) і еукаріотів істотно відрізняються, тому багато речовин, що пригнічують прокариотичну трансляцію, в значно меншому ступені діють на трансляцію еукаріотичних організмів, що дозволяє використовувати їх у медичній практиці як антибактеріальні засоби, безпечні для організму ссавців.

Оскільки кожен кодон містить три нуклеотиди, один і той же генетичний «текст» можна прочитати трьома різними способами (починаючи з першого, другого і третього нуклеотидів), тобто в трьох різних рамках зчитування. За деякими цікавими винятками, значущою є інформація, закодована тільки в одній рамці зчитування. З цієї причини украй важливим для синтезу білка рибосоמוю є її правильне позиціонування на стартовому AUG-кодоні – під час ініціації трансляції.



Загальна схема трансляції.

Ініціація. 1. Розпізнавання стартового кодону (AUG), супроводжується зв'язуванням тРНК аміноацилированої метіоніном (М) і збіркою рибосоми з великої і малою субодинаць.

Елонгація. 2. Розпізнавання поточного кодону відповідною йому аміноацил-тРНК (комплементарна взаємодія кодону мРНК і антикодону тРНК збільшена). 3. Приєднання амінокислоти, принесеної тРНК, до кінця поліпептидного ланцюжка, що росте. 4. Просування рибосоми уздовж матриці, що супроводжується вивільненням молекули тРНК. 5. Аміноацилювання молекули тРНК, що вивільнилася, відповідній їй аміноацил-тРНК-синтезазою. 6. Приєднання наступної молекули аміноацил-тРНК, аналогічно стадії (2). 7. Рух рибосоми молекулою мРНК до стоп-кодона (в даному випадку UAG).

Термінація. 8. Вивільнення поліпептидного ланцюжка. 9. Дісасембля рибосоми.

Термінація. Розпізнавання рибосоною стоп-кодона супроводжується (8) від'єднанням новосинтезованого білка і в деяких випадках (9) дисоціацією рибосоми.

Для досягнення свого активного стану деякі білки вимагають додаткової посттрансляційної модифікації. Ці модифікації здатні значно розширити різноманітність можливих білків, надаючи їм нові властивості. Прикладами пост-трансляційних модифікацій служить приєднання різних функціональних груп, приєднання ліпідів і вуглеводів, зміна стандартних амінокислот на нестандартні (наприклад, утворення цитруліну), структурні змін (наприклад, утворення дисульфідних містків між цистеїнами), видалення частини білка як на початку (сигнальна послідовність, старт-кодон), так і в окремих випадках в середині.

### **Контрольні питання**

1. Для чого потрібен синтез білків?
2. Які стадії виділяють у процесі синтезу білка?
3. Де зберігається і як передається інформація про амінокислотні послідовності в білках?
4. Що таке фактори транскрипції та яка їх роль?
5. Наведіть послідовність стадій транскрипції.
6. Що таке процесинг? Які його стадії?
7. Що таке кепування?
8. Де і як відбувається трансляція?
9. Опишіть механізм закладання нової білкової молекули. Як визначається, яка амінокислота буде першою в ланцюгу?
10. Для чого потрібна пост трансляційна модифікація білків?

## Лекція № 10. Ензимологія.

### План:

1. Загальні відомості.
2. Класифікація ензимів.
3. Структура і механізм дії ензимів.

### 1. Загальні відомості

Ферменти або ензими – органічні каталізатори білкової або РНК природи, які утворюються в живих організмах, здатних прискорювати перебіг хімічних реакцій в організмі.

Ферменти каталізують більшість хімічних реакцій, які відбуваються в живих організмах. Вони можуть мати від одного до кількох поліпептидних ланцюгів – субодиниць. Кожен із ферментів має один або більше активних центрів, які визначають специфічність хімічної реакції, що каталізується даним ферментом. Крім активного центру деякі ферменти мають алостеричний центр, який регулює роботу активного центру. Ферментативна реакція також може регулюватися іншими молекулами, як білкової природи, так й іншими – активаторами та інгібіторами.

Біохімічні реакції відбуваються за участю ферментів за нормального тиску, температури, у слабнокислому, нейтральному чи слаболужному середовищі.

Ферменти РНК-природи називаються рибозимами і вважаються первісною формою ферментів, які були замінені білковими ферментами в процесі еволюції.

Терміни «фермент» і «ензим» можна використовувати як синоніми. Але наука про ферменти називається ензимологією, а не ферментологією (ймовірно, щоб не змішувати корені слів латинської і грецької мов).

Термін «фермент» був запропонований у 17 столітті хіміком ван Гельмонтом для опису механізмів травлення. В кінці 18 – на початку 19

століття вже було відомо, що м'ясо перетравлюється шлунковим соком, а крохмаль перетворюється на цукор під дією слини. Проте механізм цих явищ був ще невідомий. В 19 столітті Луї Пастер, вивчаючи перетворення вуглеводів в етиловий спирт під дією дріжджів, дійшов до висновку, що цей процес (бродиння) каталізується якоюсь «життєвою силою», що знаходиться в дріжджових клітинах.

Понад сто років тому терміни «фермент» і «ензим» відображали різні погляди Луї Пастера з одного боку та Марселена Бертло і Юстуса Лібіха з іншого в теоретичній суперечці про природу спиртового бродиння. Власне «ферментами» (від лат. *fermentum* – «закваска») називали «організовані ферменти» (тобто саме живі мікроорганізми), а термін «ензим» (від грец. *έν-* – «в-» і *ζύμη* – «дріжджі», «закваска»), запропонований 1876 року В. Кюне для «неорганізованих ферментів», що секретуються клітинами, наприклад, до шлунку (пепсин) або кишечника (трипсин, амілаза). Два роки по смерті Пастера, 1897 року, Едуард Бюхнер опублікував роботу «Спиртове бродиння без дріжджових клітин», в якій експериментально показав, що екстракт клітин дріжджів здійснює спиртове бродиння так само, як і незруйновані дріжджові клітини. 1907 року за цю роботу він був удостоєний Нобелівської премії.

#### Функції ферментів

Ферменти є біологічними каталізаторами, вони наявні в усіх живих клітинах і сприяють перетворенню одних речовин (субстратів) на інші (продукти). Ферменти виступають в ролі каталізаторів практично в усіх біохімічних реакціях, що відбуваються в живих організмах – ними каталізується близько 4000 окремих біореакцій. Ферменти відіграють надзвичайно важливу роль у всіх процесах життєдіяльності, скеровуючи та регулюючи обмін речовин організму. Для ферментів характерним є те, що їх синтез та каталітична активність контролюється на генетичному рівні, а також за участю низькомолекулярних сполук-субстратів або продуктів реакції.

Подібно до всіх каталізаторів, ферменти прискорюють як пряму, так і зворотну реакцію, знижуючи енергію активації процесу. Хімічна рівновага

при цьому не зсувається ні в прямий, ні в зворотний бік. Відмінність ферментів від небілкових каталізаторів полягає у їхній високій специфічності – константа дисоціації деяких субстратів з білком-ферментом може досягати менш ніж  $10^{-10}$  моль/л.

Ферменти широко використовуються і в народному господарстві – у харчовій, текстильній промисловості, у фармакології.

## 2. Класифікація ензимів

За типом реакцій, що каталізують, ферменти поділяються на 6 класів згідно з ієрархічною класифікацією ферментів (КФ або ЕС – Enzyme Commission code). Класифікацію було запропоновано Міжнародним союзом біохімії і молекулярної біології (International Union of Biochemistry and Molecular Biology). Кожен клас містить підкласи, так що фермент описується сукупністю чотирьох чисел, розділених крапками. Наприклад, пепсин має код КФ 3.4.23.1. Перше число описує клас реакцій, що каталізує фермент:

КФ 1: Оксидоредуктази – ферменти, що каталізують окислення або відновлення. Приклад: каталаза, алкогольдегідрогеназа

КФ 2: Трансферази – ферменти, що каталізують перенесення хімічних груп з однієї молекули субстрата на іншу. Серед трансфераз особливо виділяють кінази, що переносять фосфатну групу, як правило, з молекули АТФ.

КФ 3: Гідролази – ферменти, що каталізують гідроліз хімічних зв'язків. Приклад: естерази, пепсин, трипсин, амілаза, ліпопротеїнліпаза.

КФ 4: Ліази – ферменти, що каталізують розрив хімічних зв'язків без гідролізу з утворенням подвійного зв'язку в одному з продуктів.

КФ 5: Ізомерази – ферменти, що каталізують структурні або геометричні зміни в молекулі субстрату.

КФ 6: Лігази – ферменти, що каталізують утворення хімічних зв'язків між субстратами за рахунок гідролізу АТФ. Приклад: ДНК-полімераза.

Будучи каталізаторами, ферменти прискорюють як пряму, так і зворотну реакції, тому, наприклад, ліази здатні каталізувати і зворотну реакцію – приєднання по подвійних зв'язках. Тим не менш, напрямок реакції може залучати кілька субстратів і бути таким, що зворотна реакція практично не відбувається.

#### Найменування ферментів

Зазвичай фермент іменують за типом реакції, яку він каталізує, додаючи суфікс -аза до назви субстрату (наприклад лактаза – фермент, що бере участь в перетворенні лактози). Таким чином, у різних ферментів, що виконують одну функцію, буде однакова назва. Такі ферменти розрізняють по інших властивостях, наприклад, по оптимальному рН (лужна фосфатаза) або локалізації в клітині (мембранна АТФ-аза).

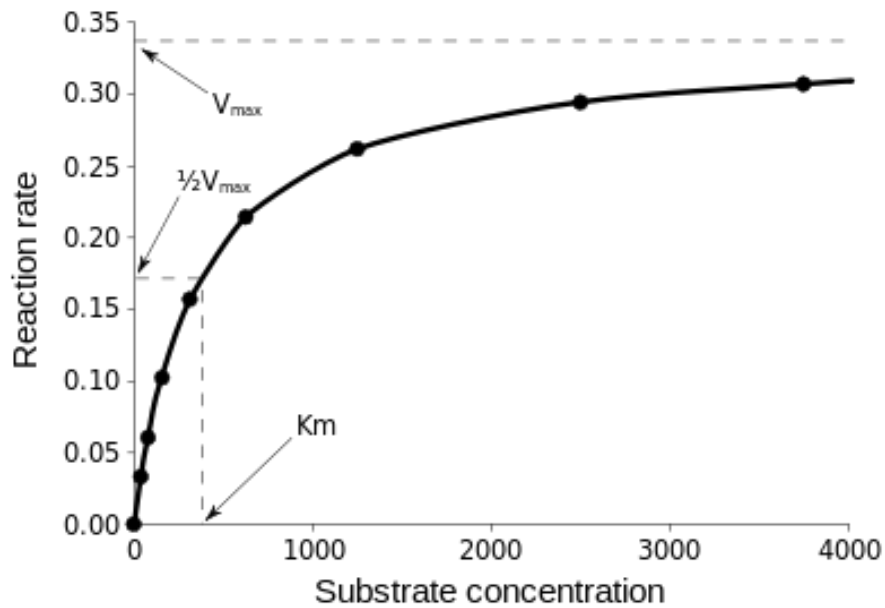
#### Кінетика ферментативних реакцій

Найпростішим і найпоширенішим описом кінетики односубстратних ферментативних реакцій є рівняння Міхаеліса-Ментен.

Говорять, що фермент слідує кінетиці Міхаеліса-Ментен, якщо для нього характерна гіперболічна залежність початкової швидкості каталізованої реакції ( $V_0$ ) від концентрації субстрату ( $[S]$ ), що описується рівнянням Міхаеліса-Ментен:

$$V_0 = \frac{d[P]}{dt} = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]},$$

де  $V_{\max}$  – максимальна швидкість реакції, яка спостерігається тоді, коли фермент повністю насичений субстратом,  $K_m$  – константа Міхаеліса – концентрація субстрату, при якій швидкість реакції дорівнює половині максимальної. Константа Міхаеліса-Ментен має розмірність моль/л і часто використовується для кількісного вираження спорідненості ферменту до субстрату (чим менша  $K_m$ , тим більша спорідненість), проте таке її трактування не завжди коректне.



Крива насичення хімічної реакції (рівняння Міхаеліса-Ментен), що ілюструє співвідношення між концентрацією субстрата  $[S]$  і швидкістю реакції  $V$ .

На сьогоднішній момент описано і кілька складніших типів кінетики ферментів. Наприклад, якщо реакція вимагає кількох молекул субстрату або різних субстратів, часто реакція протікає через утворення третинного комплексу. Для дії багатьох ферментів також типове утворення перехідних комплексів (станів), що описується «механізмом пінг-понг».

### 3. Структура і механізм дії ензимів

Активність ферментів визначається їхньою тривимірною структурою.

Як і всі білки, ферменти синтезуються у вигляді лінійного ланцюжка амінокислот, який згортається певним чином. Кожна послідовність амінокислот згортається особливим чином, і молекула (білкова глобула), що утворюється, набуває унікальних властивостей. Декілька білкових ланцюжків можуть об'єднуватися у білковий комплекс. Найбільші складні структури білків – третинна та четвертинна структури – руйнуються при нагріванні або під дією деяких хімічних речовин.

Щоб каталізувати реакцію, фермент повинен зв'язатися з одним або кількома субстратами. Білковий ланцюжок ферменту згортається таким

чином, що на поверхні глобули утворюється щілина або западина, до якої приєднуються молекули субстрату. Ця область називається ділянкою (сайтом) зв'язування субстрату. Зазвичай вона збігається з активним центром ферменту або знаходиться поблизу від нього. Деякі ферменти містять також ділянки зв'язування кофакторів або іонів металів.

У деяких ферментів присутні також ділянки зв'язування малих молекул, що не беруть безпосередньої участі в реакції і часто, але не обов'язково, є субстратами або продуктами метаболічного шляху, в який входить фермент. Вони зменшують або збільшують активність ферменту, що створює можливість для зворотного зв'язку або регуляції роботи ферменту.

Для активних центрів деяких ферментів характерне явище кооперативності.

#### Специфічність

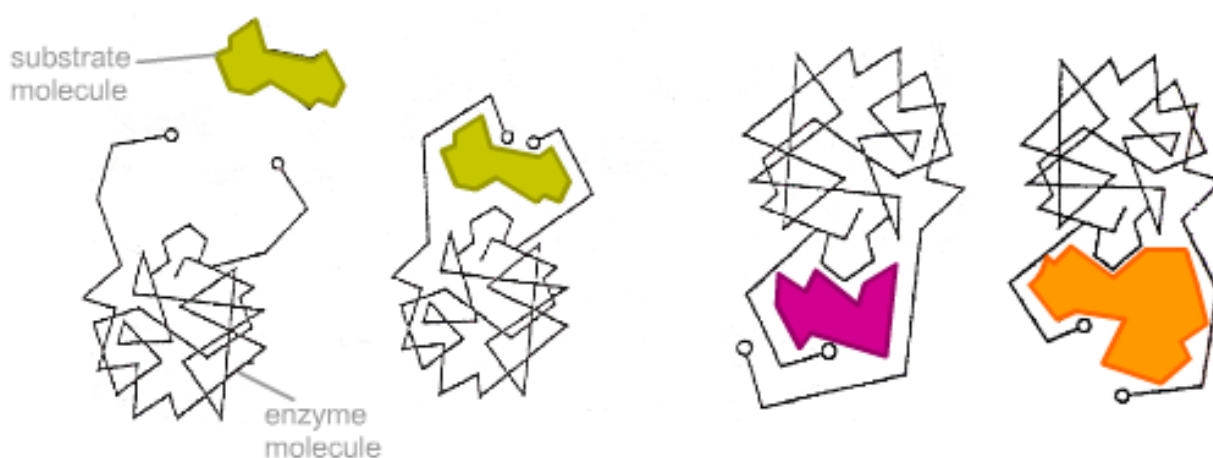
Ферменти зазвичай проявляють високу специфічність по відношенню до своїх субстратів. Це досягається частковою комплементарністю форми, розподілу зарядів і гідрофобних областей на молекулі субстрату і в ділянці зв'язування субстрату на ферменті. Ферменти демонструють високий рівень стереоспецифічності (просторової специфічності), регіоселективності (специфічності орієнтації) і хемоселективності (специфічності до хімічних груп).

#### Модель «ключ-замок»

У 1890 році Еміль Фішер припустив, що специфічність ферментів визначається точною відповідністю форми ферменту і субстрату. Таке припущення називається моделлю «ключ-замок». Фермент з'єднується з субстратом з утворенням короткоживучого фермент-субстратного комплексу. Проте, хоча ця модель пояснює високу специфічність ферментів, вона не пояснює явища стабілізації перехідного стану, який спостерігається на практиці.

#### Модель індукованої відповідності

У 1958 році американський дослідник Деніел Кошланд запропонував модифікацію моделі «ключ-замок». Ферменти, в основному, – не жорсткі, а гнучкі молекули. Активний центр ферменту може змінити конформацію після зв'язування з ним субстрату. Бічні групи амінокислот активного центру займають таке положення, яке дозволяє ферменту виконувати свою каталітичну функцію. В деяких випадках молекула субстрату також міняє конформацію після скріплення в активному центрі. На відміну від моделі «ключ-замок», модель індукованої відповідності пояснює не тільки специфічність ферментів, але і стабілізацію перехідного стану.



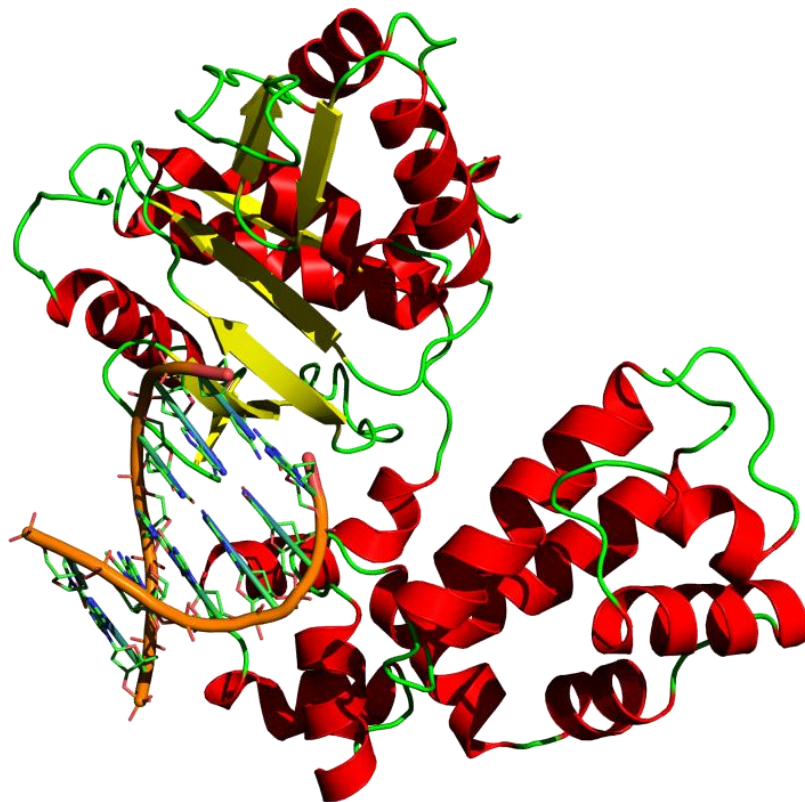
Сучасні уявлення про механізм індукованої відповідності – молекули «невідповідних» субстратів дуже великі або дуже маленькі та не підходять до активного центру ферменту

(автор рисунку – )

Багато ферментів після синтезу білкового ланцюга зазнають модифікацій, без яких фермент не проявляє свою активність повною мірою; такі модифікації називаються посттрансляційними. Один з найпоширеніших типів посттрансляційних модифікацій – приєднання хімічних груп до бічних залишків поліпептидного ланцюжка. Наприклад, приєднання фосфатної групи називається фосфорилуванням, воно каталізується ферментом-кіназою. Багато ферментів еукаріот глікозовані, тобто модифіковані олігомерами вуглеводної природи.

Ще один поширений тип посттрансляційних модифікацій – розщеплення поліпептидного ланцюжка. Наприклад, хімотрипсин (протеаза, що бере участь

в травленні), утворюється при відщепленні поліпептидної ділянки з хімотрипсиногена. Хімотрипсиноген є неактивним попередником хімотрипсина і синтезується в підшлунковій залозі. Неактивна форма транспортується до шлунку, де перетворюється на хімотрипсин. Такий механізм необхідний для того, щоб уникнути пошкодження підшлункової залози та інших тканин до надходження ферменту в шлунок. Неактивний попередник ферменту називають також «ензимогеном».



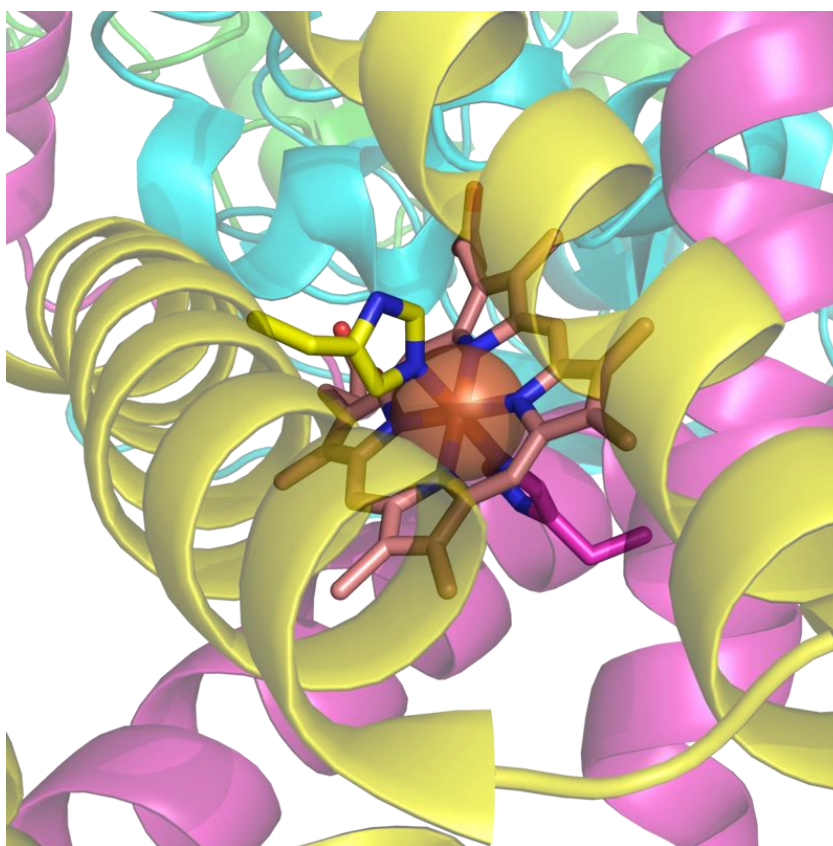
Тривимірна структура ДНК-зв'язуючих спірально-шпилькових ділянок в людській бета-ДНК-полімеразі

### Кофактори ферментів

Деякі ферменти виконують каталітичну функцію самі собою, без додаткових компонентів. Проте є ферменти, яким для здійснення каталізу необхідні компоненти небілкової природи. Кофактори можуть бути як неорганічними молекулами (іони металів, залізо-сірчані кластери та інші), так і органічними (наприклад, флавін або гем). Органічні кофактори, які постійно (назавжди) зв'язані з ферментом, називають також простетичними групами.

Кофактори органічної природи, що здатні відділятися від ферменту, називають коферментами.

Фермент, який вимагає наявності кофактора для здійснення каталітичної активності, але не зв'язаний з ним, називається апоферментом. Апофермент в комплексі з кофактором носить назву голоферменту. Більшість кофакторів пов'язана з ферментом нековалентними, але досить міцними взаємодіями. Є і такі простетичні групи, що зв'язані з ферментом ковалентно, наприклад, тіамініпірофосфат в складі ферменту піруватдегідрогенази.



Кофактор (у цьому випадку гем), зв'язаний з ферментом сукцинат дегідрогеназа, залученим у електронно-транспортний ланцюжок мітохондрій. Велика напівпрозора сфера вказує на розташування іону заліза.

### Контрольні питання

1. Що таке ензими?
2. Що таке субодиниця ферменту?
3. Наведіть функції ферментів.

4. Що означає поняття специфічності ферментів?
5. Опишіть принципи класифікації ензимів.
6. Як формуються назви ферментів?
7. Як описується кінетика ферментативних реакцій?
8. Чим визначається активність ферментів?
9. Опишіть модель індукованої відповідності ферменту і субстрату.
10. Що таке кофактор ферменту?

## Лекція № 11. Вітаміни.

### План:

1. Загальні відомості.
2. Класифікація вітамінів.
3. Біологічна дія вітамінів.

### 1. Загальні відомості

Вітаміни (лат. *vitae* – життя і амін – речовина, що містить аміногрупу - NH<sub>2</sub>) – низькомолекулярні органічні сполуки різної хімічної природи, що необхідні для життєдіяльності живого організму в малих дозах, і не утворюються в самому цьому організмі в достатній кількості, через що повинні надходити із їжею. Таким чином визначення певної речовини як вітаміну залежить від того, про який вид йдеться. Наприклад, більшість тварин мають метаболічний шлях синтезу аскорбінової кислоти, проте деякі, такі як люди, мавпи, морські свинки, втратили його, тому аскорбінова кислота є для них вітаміном.

Організму людини необхідні принаймні 13 різних вітамінів, добові потреби яких коливаються від 0,01 до 100 мг. Вони не виконують в організмі ані енергетичної, ані структурної функції, але є необхідними для використання тих сполук, які ці функції виконують, зокрема білків, ліпідів і вуглеводів. Більшість з вітамінів є попередниками коферментів, що беруть участь у багатьох ферментативних реакціях, проте деякі, такі як А, С, D, Е і К, мають інше біологічне значення. Роль коферментів однакова майже у всіх видів, проте вищі тварини у процесі еволюції втратили здатність синтезувати деякі з них. В той час як кишкова паличка може рости на середовищі, що містить тільки глюкозу і мінеральні солі, дієтичні потреби тварин значно ширші. Метаболічні шляхи біосинтезу вітамінів бувають дуже складними, тому для хемогетеротрофного організму може виявитись ефективнішим «покластись» на наявність цих сполук у їжі, аніж синтезувати усі ферменти, необхідні для їх

утворення із простіших попередників. Проте така стратегія має суттєвий недолік – нестача певного вітаміну у дієті (гіпо- чи авітаміноз) призводить до серйозних розладів, що можуть бути смертельними.

Всі основні групи харчових продуктів (овочі, фрукти, м'ясо, риба, молочні продукти, яйця) багаті на вітаміни, хоча жоден продукт сам по собі не може повністю задовольнити потреби організму. Тому необхідно вживати збалансовану різноманітну дієту. Крім того деякі вітаміни, такі як К і Н, синтезуються кишковою мікрофлорою, а вітамін D утворюється в шкірі під впливом ультрафіолетового випромінювання.

Існують різноманітні вітамінні добавки, що можуть доповнити дієти, у яких не вистачає однієї або кількох з цих сполук. Люди, що дотримуються правил раціонального харчування, не потребують цих препаратів. Дози вітамінів, значно вищі за рекомендовані, можуть не тільки не приносити користі здоров'ю, а й бути шкідливими. Надлишок вітамінів, розчинних у воді, виводиться із організму з сечею, проте жиророзчинні можуть накопичуватись у жировій тканині навіть до токсичних концентрацій і викликати патогенні стани – гіпервітамінози.

Хоча до відкриття вітамінів вважалось, що для нормальної життєдіяльності людині потрібні тільки білки, жири, вуглеводи, вода і мінеральні солі, спостереження показували, що одноманітне харчування без свіжих овочів і фруктів призводить до виникнення різних захворювань. Так моряки під час довгих подорожей хворіли цингою (скорбутом), смертність від якої становила 70—80%, а в країнах Азії, де основною стравою був полірований рис, значна частина населення була уражена бері-бері (формою поліневриту). У 1881 році російський лікар М. Лунін у своїй праці «Про значення мінеральних солей для живлення тварин» (рос. «О значении минеральных солей для питания животных») дійшов висновку, що у їжі є якісь додаткові невідомі термолабільні речовини, необхідні для нормальної життєдіяльності.

У 1897 році нідерландець Христіан Ейкман досліджував бері-бері у Голландській Ост-Індії. У час його роботи в одній із лабораторій, розташованій у військовому госпіталі, кури захворіли поліневритом, дуже схожим до бері-бері в людей. Ейкман взявся з'ясувати причину захворювання, але не встиг він закінчити обстеження, як кури одужали. Хвороба тривала з 10 липня до останніх днів листопада. Виявилось, що з 17 червня до 27 листопада наглядач лабораторії з метою економії годував курей вареним очищеним рисом, який брав на кухні госпіталю. 27 листопада попереднього кухаря лікарні замінив новий, який відмовився видавати «військовий рис цивільним курям». Подальші експерименти із дієтою птахів показали, що годування нешлифованим рисом не призводить до виникнення хвороби, і може вилікувати курей, що вже захворіли, як і додавання висівок до шлифованого рису. Таким чином можна було припустити, що у рисових висівках наявна певна речовина, нестача якої викликає поліневрит. Цю сполуку – а саме тіамін (вітамін B1) – у 1911 році виділив польський вчений Казимир Функ і показав її ефективність у лікуванні бері-бері. Молекули тіаміну мають у своєму складі аміногрупу, тому Функ назвав його вітаміном (аміном життя), звідки й походить назва цілого класу речовин, хоч не всі вони нітрогенвмісні. Решта вітамінів була описана до закінчення першої половини ХХ століття, пізніше були виявлені також так звані вітаміноподібні речовини, частина із яких синтезується в організмі і виконують пластичні або енергетичні функції.

1929 Ейкман разом зі Фердеріком Гопкінсом, який відкрив вітаміни А і D, був нагороджений Нобелівською премією з фізіології або медицини

## **2. Класифікація вітамінів**

Відомо близько 30 вітамінів і вітаміноподібних речовин, вивчена їхня структура, біологічна активність і здійснений синтез. Найпоширеніша класифікація вітамінів базується на їхніх фізико-хімічних властивостях, за якими їх поділяють на водо- і жиророзчинні. Кожен вітамін має три назви:

традиційну (велика латинська літера, інколи із цифровим індексом), хімічну і фізіологічну.

#### Номенклатура вітамінів

Відкриття вітамінів відбувалось завдяки їхній біологічній активності, і для багатьох не була відома хімічна будова, тому ці сполуки (або суміші сполук, як з'ясувалось пізніше) позначали великими латинськими літерами: А, В, С тощо. Пізніше, для вітамінів, що зустрічаються у природних джерелах разом, але мають різну хімічну природу і біологічні функції, стали додавати цифрові індекси, наприклад вітаміни групи В: В1, В2 і так далі. Інколи кілька сполук, близьких за хімічною будовою, мають однакову біологічну дію, що відрізняється тільки інтенсивністю. Для таких груп може бути використана назва вітамери, наприклад різні типи вітаміну D. Вітамери також позначають цифровими індексами (D1, D2).

Сучасна номенклатура вітамінів була прийнята 1956 року IUPAC, вона відображає хімічну природу цих сполук. Також для кожного існує номенклатура, що базується на фізіологічній дії, у якій назви зазвичай мають префікс «анти-». Таким чином кожен вітамін має три назви, наприклад: В1 (тіамін, антиневритний); А (ретинол, антиксерофтальмічний) тощо.

#### Класифікація вітамінів

Традиційно вітаміни поділяють на дві групи за фізико-хімічними властивостями: водорозчинні і жиророзчинні. До водорозчинних належать: В1 (тіамін), В2 (рибофлавін), В3 (РР) (нікотинамід, нікотинова кислота), В5 (пантотенова кислота), В6 (піридоксин, піридоксаль, піридоксамін), Н (В7) (біотин), В9 (Вс) (фолієва кислота), В12 (кобаламін), С (аскорбінова кислота); до жиророзчинних: А (ретинол), D (кальциферол, холекальциферол), Е (токоферол), К (філохінон).

Розчинність впливає на всмоктування, транспорт, зберігання і екскрецію вітамінів. Так гідрофільні вітаміни містяться у соковитих частинах їжі, а гідрофобні – у твердих жирах і оліях. Водорозчинні вітаміни всмоктуються безпосередньо в кров, жиророзчинні, як і інші ліпіди, потрапляють спочатку в

лімфу, а потім у кров, і переносяться зв'язаними із транспортними білками. У клітинах водорозчинні вітаміни вільно циркулюють у цитозолі та інших водянистих компартментах, в той час як жиророзчинні депонуються у жировій тканині і печінці. Невеликий надлишок водорозчинних вітамінів може легко виводитись нирками. Через те, що жиророзчинні вітаміни накопичуються в тілі, їх можна вживати у відносно великих кількостях час від часу, для того щоб задовольнити потреби організму, але водорозчинні повинні надходити більш регулярно.

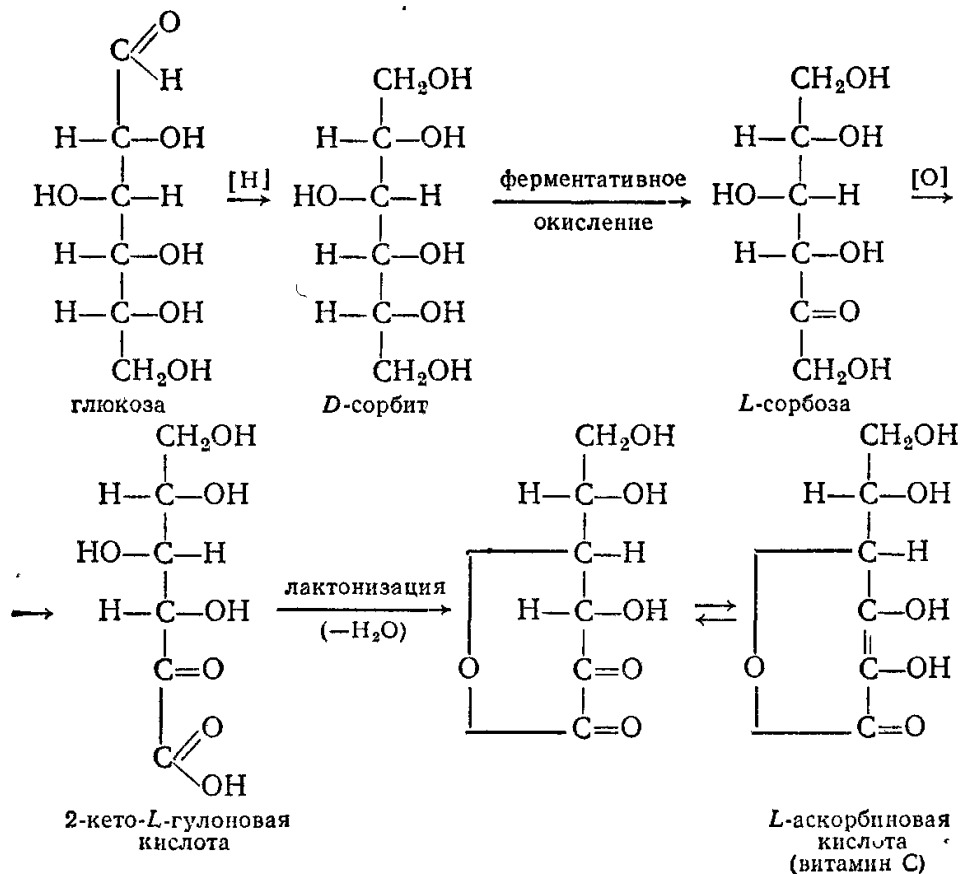
Окрім того існує раціональна хімічна класифікація вітамінів, що базується на належності до певного класу сполук. Виділяють такі групи:

- вітаміни аліфатичного ряду (С, В3);
- вітаміни аліциклічного ряду (А, D);
- вітаміни ароматичного ряду (К);
- вітаміни гетероциклічного ряду (В1, В2, В5, В6, В9, В12, Н, Е).

### **Водорозчинні вітаміни**

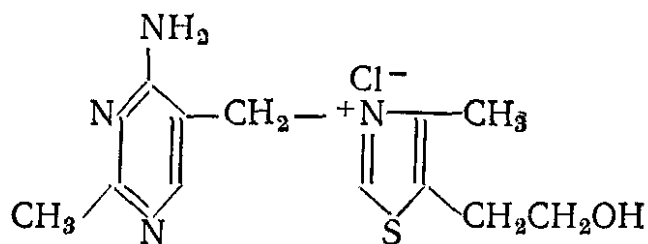
*Вітамін С (аскорбінова кислота).* Має велике значення для людини, як противоцинготний фактор.

Вітамін С широко розташований у природі. Він міститься у лимонах, апельсинах, свіжій капусті, у шипшині, цибулі, картоплі, червоному перці та ін. Добувають вітамін С у промисловому масштабі: синтетичним шляхом аскорбінову кислоту із глюкози.



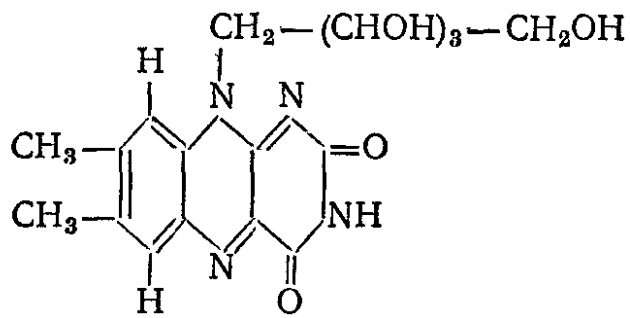
Глюкозу спочатку відновлюють до сорбіту, який шляхом ферментативного окиснення переходить у кетогексозу - L-сорбозу, потім окислюють гіпохлоридом натрію у 2кето- L-гулонову кислоту, утворюючи після лактонізації і енолізації аскорбінову кислоту:

*Вітамін B<sub>1</sub> (аневрин, тіамін).*



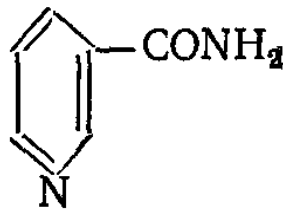
Нестача визиває порушення у роботі нервової системи, поліневрит. Природне джерело тіаміну - пшеничні та рисові висівки, дріжджі. Добувають синтетичним шляхом.

*Вітамін B<sub>2</sub> (рибофлавін).*



Недолік визиває порушення апетиту, зниження ваги, слабкість. У найбільшій кількості присутній у дріжджах, печінці, нерках. Добувають синтетичним шляхом.

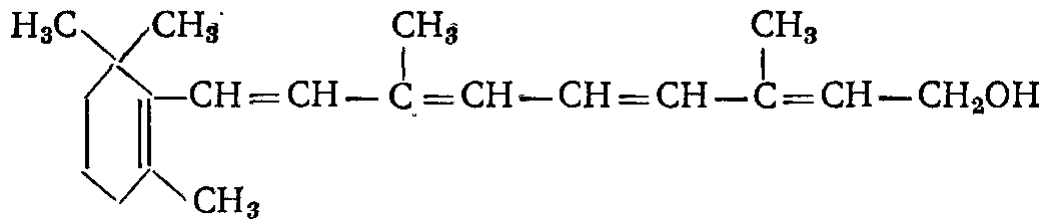
*Вітамін PP (нікотинамід).*



Відсутність вітаміну PP у їжі викликає пелагру. Найбільш багаті цим вітаміном дріжджі, висівки, печінка.

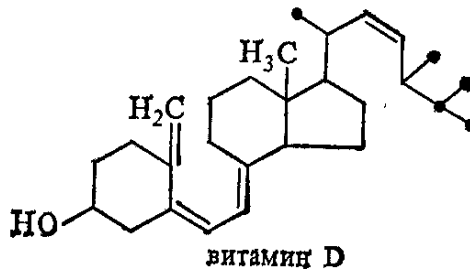
## Жиророзчинні вітаміни

### Вітаміни групи А.



Відсутність вітаміну А викликає порушення росту, пониження стійкості до захворювань, курячу сліпоту. Утворюється тільки у тканинах тваринного походження. У найбільшій кількості міститься у рибному жирі, печінці риб та морських тварин.

### Вітаміни групи D.



Нестача цих вітамінів приводить до захворювання рахітом. Зустрічається тільки у тваринних організмів.

## 3. Біологічна дія вітамінів

Вітамінна недостатність – це стан, що виникає внаслідок нестачі певного вітаміну в організмі. Розрізняють гіпо- і авітамінози, перші виникають внаслідок відносної (щодо норми) нестачі, другі – абсолютної. Нестачу одного вітаміну називають моногіповітамінозом, кількох – полігіповітамінозом.

Дефіцити вітамінів можуть бути екзо- і ендогенними. Екзогенні гіпо- чи авітамінози виникають внаслідок зменшення надходження вітамінів з їжею, через неправильну дієту, чи обробку і зберігання продуктів. Іншою причиною може бути зміна мікрофлори кишківника найчастіше внаслідок тривалого вживання антибіотиків, сульфаніламідів тощо.

Ендогенні дефіцити виникають через неспроможність засвоєння вітамінів клітинами організму. Причинами цього може бути руйнування потрібних сполук через підвищення кислотності шлунку (вітаміни В1, В5, С), порушення утворення транспортних білків (вітамін В12), зменшення надходження жовчі у верхні відділи тонкої кишки, що перешкоджає всмоктуванню жиророзчинних вітамінів, наявності атнів вітамінів тощо. Багато вітамінних недостатностей є вторинними щодо інших захворювань, наприклад, анорексії, розладів шлунково-кишкового тракту, що супроводжуються блюванням або/і діареєю. Часом вони виникають також через підвищення потреб організму, зокрема у час вагітності, лактації, запальних процесів, внаслідок тиреотоксикозу тощо.

Завдяки розширенню знань про раціональне харчування гіпо- і авітамінози стали досить рідкісними захворюваннями, їх можна вважати швидше соціо-екномічними, а не медичними проблемами. З іншого боку, існує ряд вроджених захворювань, що розвиваються в ранньому віці і нагадують за симптомами типові авітамінози, незважаючи на забезпечення пацієнтів всіма необхідними вітамінами. У деяких випадках, ці розлади лікуються магавітаміною терапією – введенням вітамінів у дозах, що в 50-100 разів перевищують фізіологічні потреби. Такі стани називаються вітамінзалежними. Існують також вітамінрезистентні стани, при яких не допомагає навіть мегавітамінна терапія. Причинами виникнення цих спадкових захворювань можуть бути різноманітні генетичні дефекти: такі, що порушують всмоктування і транспорт вітамінів, перетворення їх у коферменти або активні форми, а також мутації, які призводять до втрати активності білкової частини ферменту – апоферменту – або перешкоджають нормальній взаємодії коферменту і апоферменту.

#### Біодоступність вітамінів

Кількість вітаміну, яку організм може засвоїти із певного джерела, залежить не тільки від вмісту цього вітаміну, а й від його біодоступності. Вона залежить від ряду факторів, зокрема: ефективності травлення і часу

проходження їжі через шлунково-кишковий тракт, стану задоволення харчових потреб особи, методу приготування їжі (сира, варена, «готова до вживання»), джерела вітаміну (у складі додатку, збагаченої вітамінами їжі, їжі із природним вмістом вітаміну), іншої їжі, що вживається в той же час. Наприклад біодоступність провітаміну А  $\beta$ -каротину збільшується при вживанні їжі, багатої на жири.

Вміст вітамінів у свіжих сирих продуктах може бути високий, але багато із них нестійкі і руйнуються під час приготування, особливо чутливими є водорозчинні вітаміни. Наприклад, внаслідок тривалого нагрівання розкладається більшість тіаміну (вітаміну В1). Рибофлавін (вітамін В2) чутливий до ультрафіолетового випромінювання, через що його вміст знижується, якщо продукти довго зберігаються у прозорих контейнерах. Кисень реагує із аскорбіновою кислотою (вітаміном С), тому втрати цієї сполуки пов'язані із тривалим зберіганням чи приготуванням, особливо дрібно порізаних продуктів.

Продукти, такі як овочі і фрукти, містять багато ферментів що як синтезують вітаміни, так і руйнують їх. Після зривання цих рослин синтез припиняється, а руйнування продовжується. Оскільки ферменти деградації малоактивні при низьких температурах продукти рекомендується зберігати охолодженими. Щоб обмежити контакт із киснем – поміщати їх у закриті контейнери або обгортати плівкою. Мити овочі і фрукти краще до нарізання, ніж після, щоб не вимити багато водорозчинних вітамінів. Варити овочі рекомендується у невеликій кількості води, і поміщати їх туди після того, як вода закипить. Відвар із овочів можна використовувати для інших страв – супів, запіканок тощо. Вітаміни можуть руйнуватись внаслідок надто тривалої обробки або надто високої температури.

Деякі зі вітамінів потрапляють в організм у формі неактивних попередників – провітамінів – і далі перетворюються в активну форму. Так, наприклад, вітамін А не міститься у продуктах рослинного походження, проте у багатьох темно-зелених, яскраво-червоних, жовтих і оранжевих овочах і

фруктах є багато  $\beta$ -каротину – попередника вітаміну А. Під час розрахунку кількості вжитих вітамінів враховують не тільки джерела самого вітаміну, а й джерела провітаміну.

Антивітаміни – це речовини, які протидіють використанню організмом вітамінів. Частина антивітамінів поведуться як антиметаболіти, тобто вони схожі за будовою до відповідного вітаміну, і можуть заміщувати його у ферментативних системах, але не можуть виконувати його функцій. Решта ж діють іншими шляхами, наприклад, ферменти тіаміназа й аскорбіназа руйнують вітаміни В1 і С відповідно, а білок авідин зв'язує і інактивує біотин (вітамін Н).

Оскільки багато паразитичних бактерій також потребують вітамінів для росту, антивітаміни використовуються для лікування бактерійних інфекцій: наприклад, аналоги параамінобензойної кислоти (вітаміноподібної речовини, що є складовою фолієвої кислоти) – сульфаніламідни та їхні похідні. Антивітаміни також можуть допомагати в терапії раку, так аміноптерин (аналог фолієвої кислоти) має антинеопластичні властивості і може використовуватись у хіміотерапії. Кумарини – аналоги вітаміну К – діють як антикоагулянти, зокрема до цього ряду сполук належить варфарин. Антивітаміни також використовують у дослідних цілях для створення експериментальних авітамінозів у тварин.

### **Контрольні питання**

1. Що таке вітаміни?
2. Коли і як були відкриті вітаміни?
3. Яка функція вітамінів в організмі людини?
4. За якими ознаками класифікують вітаміни?
5. Яка номенклатура вітамінів?
6. Наведіть структурні формули кількох вітамінів.
7. Чому певні речовини можуть бути вітамінами для одного виду організмів та не бути вітамінами для інших?

8. До яких порушень призводить нестача вітамінів?
9. До яких порушень призводить надлишок вітамінів?
10. Що таке антивітаміни та для чого їх застосовують в медицині?

## Лекція № 12. Гормони.

### План:

1. Загальні відомості.
2. Класифікація гормонів.
3. Біологічна дія гормонів.

### 1. Загальні відомості

**Гормони** (від грецького *hormao* – стимулюю до руху, спонукаю) – це сполуки, які утворюються спеціалізованими клітинами і залозами внутрішньої секреції (ендокринними залозами) та регулюють метаболічні процеси в окремих органах та організмі в цілому. Це “справжні” гормони. До них належать: гормони гіпоталамуса і гіпофіза, щитоподібної залози, підшлункової залози, коркової частини наднирників, чоловічих та жіночих статевих залоз, епіфіза.

Біологічно активні сполуки (біорегулятори) утворюються в тканинах і органах, які не належать до ендокринної системи, називають біогенними стимуляторами (гістогормонами, гормоноподібними сполуками).

Термін “гормони” вперше використали У. Бейліс і Е. Стерлінг у 1902 р. стосовно до секретину (який на теперішній час відносять до гістогормонів).

*Ендокринологія* – це розділ біомедичної науки, який вивчає структуру і функцію ендокринних залоз, продукт їх секреції та інші сполуки, що виконують функцію хімічних “посередників” дії гормонів, а також наслідки надмірного або недостатнього утворення гормонів.

“Справжні” гормони мають такі загальні ознаки:

- 1 Дистантність дії – регулюють обмін і функції клітин на відстані від місця утворення.
- 2 Специфічність біологічної дії – один гормон за біологічним ефектом не може бути повністю замінений другим.

3 Висока біологічна активність – гормони діють в дуже низьких концентраціях, але викликають потужну клітинну відповідь. Базальний (не стимульований) рівень гормонів в крові  $10^{-6}$  –  $10^{-12}$  М. При стимуляції секреції концентрація гормонів зростає на декілька порядків.

4 Короткий час життя – час життя гормонів у крові декілька хвилин. Інактивацію здійснюють специфічні ферменти.

5 Гормони діють на клітини через взаємодію зі специфічними рецепторами, які можуть знаходитися або на плазматичній мембрані, або в середині клітини.

Рецептор – це одна або група білкових молекул, яка є високоспецифічною стосовно до відповідного гормону. У структурі рецептора є дві функціональні ділянки:

- 1) ділянка зв'язування з гормоном;
- 2) ділянка трансдукції (передачі) гормонального сигналу.

Клітини, які мають рецептор до гормону – це клітини-мішені відповідного гормону.

При порушенні функціонування рецепторів виникають ендокринні патології. Існує три типи таких захворювань, які зв'язані з:

- 1) недостатнім синтезом білків-рецепторів;
- 2) зміною структури рецептору (генетичний дефект);
- 3) блокуванням антитілами білків-рецепторів.

## **2. Класифікація гормонів**

У підтримці координації усіх метаболічних і фізіологічних процесів організму людини бере участь біля 100 гормонів і біогенних стимуляторів.

За хімічною будовою ці гормони можна поділити на 4 групи:

- 1) білково-пептидні гормони;
- 2) гормони – похідні амінокислот;

- 3) стероїдні гормони;
- 4) біорегулятори – похідні арахідонової кислоти (ейкозаноїди).

1 Білково-пептидні гормони можуть містити від 3 до 200 амінокислотних залишків. Їх умовно поділяють на чотири групи:

- пептиди (вазопресин, окситоцин);
- поліпептиди (АКТГ, глюкагон, інсулін, кальцитонін та інші);
- прості білки (пролактин, соматотропін, плацентарний лактоген);
- глікопротеїни (лютеїнізуючий, фолікулостимулюючий гормони та інші).

Гормони цієї групи, як правило, синтезуються у вигляді неактивних попередників – прогормонів, які активуються шляхом часткового протеолізу (розщеплення на активні фрагменти або відщеплення частини молекули).

Наприклад, інсулін синтезується з препроінсуліну, який послідовно перетворюється у проінсулін і далі в інсулін.

Іншим прикладом утворення гормонів з неактивних попередників може бути частковий протеоліз ПОМК (проопіомеланокортину), який є попередником деяких гормонів і нейропептидів гіпофіза – адреналокортикотропного гормону (АКТГ),  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -меланоцитстимулюючого гормонів (МСГ),  $\beta$ - і  $\gamma$ -ліпотропінів (ЛПГ),  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -ендорфіна.

Рецептори для білково-пептидних гормонів (та інших біорегуляторів) поділяють на два класи:

- 1) рецептори I класу – іонотропні рецептори. При взаємодії біорегулятора з таким рецептором відбувається відкриття іонічних каналів на плазматичній мембрані і генерація швидких іонічних потоків. Результатом цього є відповідна клітинна відповідь;

2) рецептори II класу – метаботропні рецептори. Результатом взаємодії біорегулятора з таким рецептором є зміна метаболічних процесів у клітині.

2 *Гормони – похідні амінокислот* – це низькомолекулярні водорозчинні сполуки, які мають у своєму складі аміногрупу. Вони утворюються в результаті метаболізму амінокислот. Прикладом гормонів цього класу є адреналін і тиреоїдні гормони, які утворюються з амінокислоти тирозину.

3 *Стероїдні гормони* – це жиророзчинні сполуки, похідні холестеролу. До них належать кортикостероїди, андрогени і естрогени.

4 *Біорегулятори* – похідні арахідонової кислоти – це гістогормони. До них належать простагландини, тромбоксани, лейкотрієни, простациклін.

Існують також інші типи класифікації гормонів. З біохімічної точки зору найбільш цікавою є класифікація залежно від клітинної локалізації рецептору і механізму реалізації гормонального сигналу. За цією класифікацією гормони поділяють на дві групи:

1) гормони, які не проникають в клітину і для них рецептор локалізований на поверхні плазматичної мембрани. До цієї групи належать білково-пептидні гормони та похідні амінокислот, будова і фізико-хімічні властивості яких не дозволяють проходити через біліпідний шар плазматичної мембрани. Ці гормони діють через сполуки, які утворюються в клітині у відповідь на дію гормону і є “представниками” гормону в клітині – це месенджери (або вторинні посередники);

2) гормони, які проникають крізь плазматичну мембрану і взаємодіють з рецепторами, які локалізовані в середині клітини (цитоплазмі, іноді в ядрі). До гормонів цієї групи належать ліпофільні сполуки – стероїдні та тиреоїдні гормони.

Дія гормонів пропорційна їх концентрації в крові. Таким чином, концентрація гормонів в крові повинна змінюватися відповідно до потреб організму.

Частково кількість активного гормону в крові визначається швидкістю інактивації гормону і видаленням його з комплексу “білок сироватки крові – гормон”.

Другим, найбільш важливим фактором, який визначає розміри пулу любого гормону в крові, є швидкість його секреції відповідною ендокринною залозою – тобто швидкість надходження гормону в кровоток.

Ендокринна система повинна постійно отримувати “інформацію” про концентрацію гормону в крові. Це забезпечується завдяки існуванню спеціального механізму регуляції секреції гормонів – механізму зворотного зв’язку.

Існує два види механізмів зворотного зв’язку регуляції секреції гормонів:

- 1) *негативний зворотний зв’язок;*
- 2) *позитивний зворотний зв’язок.*

1 Перший механізм бере участь в регуляції секреції практично всіх ендокринних органів. Другий механізм реалізується рідко, але також є важливим при певних ендокринних станах.

Розглянемо функціонування *регуляції за принципом негативного зворотного зв’язку*. Координуючим центром ендокринної системи є гіпоталамус, який отримує та інтегрує сигнали, що надходять з нервової системи. У відповідь на ці сигнали гіпоталамус секретує рілизинг гормони (ліберини), які транспортуються в аденогіпофіз. Кожний гіпоталамічний гормон регулює секрецію одного відповідного гормону гіпофіза – тропного гормону. Тропні гормони діють на відповідні ендокринні залози і стимулюють секрецію специфічних гормонів у кров. При підвищенні цих гормонів у крові, вони за принципом зворотного зв’язку інгібують секрецію і гормонів гіпофіза, і гормонів гіпоталамуса. Таким чином знижується секреція гормонів периферійних ендокринних залоз – реалізується принцип негативного зворотного зв’язку.

Прикладом може бути регуляція секреції тиреоїдних гормонів ( $T_3$  і  $T_4$ ).

Головні компоненти, які складають петлю негативного зворотного зв'язку – це  $T_3$ ,  $T_4$ , ТТГ і тироліберин.  $T_4$  і  $T_3$  гальмують свій власний синтез за механізмом зворотного зв'язку. Медіатором цього процесу може служити  $T_3$ , оскільки  $T_4$  у гіпофізі перетворюється в  $T_3$ , який подавляє секрецію ТТГ. У гіпоталамусі  $T_3$  (або, можливо,  $T_4$ ) гальмує утворення і секрецію тироліберина. Стимулом для підвищення секреції тироліберина і ТТГ є зниження концентрації тиреоїдних гормонів у крові.

Існує цікава взаємодія петель зворотного зв'язку для щитоподібної залози і соматостатину, який також забезпечує регуляторні механізми секреції  $T_3$  і  $T_4$ . А саме  $T_3$  і  $T_4$  підсилюють вивільнення соматостатину із гіпоталамуса, який також інгібує секрецію тиротропіна.

У маленьких дітей, які отримують терапію гормоном росту, іноді розвивається гіпотиреоз. Це пов'язано з тим, що СТГ стимулює секрецію соматостатина, який (за вище описаним механізмом) інгібує секрецію ТТГ і відповідно  $T_3$  і  $T_4$ .

У реалізації другого механізму – *за принципом позитивного зворотного зв'язку* можуть приймати участь не лише гормони, а й деякі метаболіти. Першим прикладом може бути регуляція концентрації глюкози в крові під дією інсуліну.

Після прийому їжі в крові зростає концентрація глюкози, яка в свою чергу стимулює секрецію інсуліну. Підвищення концентрації інсуліну призводить до зниження рівня глюкози в крові. Після чого концентрація інсуліну знижується. Тобто реалізується механізм позитивного зворотного зв'язку – “чим більше, тим більше; чим менше, тим менше”.

Транспорт гормонів у крові залежить від їх розчинності. Гідрофільні гормони (наприклад, білково-пептидні) транспорту-ються у вільному стані. Стероїдні і тиреоїдні гормони транспортуються в комплексі з білками плазми крові:

- специфічними транспортними білками (транспортні низькомолекулярні глобуліни, тироксинзв'язуючий білок, транскортин – білок для транспорту кортикостероїдів);

- неспецифічними транспортними білками – альбумінами.

### 3. Біологічна дія гормонів

Існують два основні механізми дії гормонів:

- 1) мембранно-цитозольний;
- 2) цитозольний.

**3.1 Мембранно-цитозольний механізм дії** характерний для білково-пептидних гормонів і похідних амінокислот.

За фізико-хімічними властивостями це гормони, які не здатні проходити через біліпідний шар плазматичної мембрани в цитозоль. Саме тому для них рецептори знаходяться на поверхні клітини. Реалізацію дії цих гормонів у клітині забезпечують специфічні молекули, які утворюються в цитозолі у відповідь на дію гормону. Ці молекули називають месенджерами, або вторинними посередниками дії гормону. Месенджер є повноважним представником гормону в клітині. Вторинними посередниками дії гормонів можуть бути такі молекули, як цАМФ, цГМФ, ІТФ (інозитолтрифосфат), ДАГ (диацилгліце-рол), іони  $Ca^{2+}$ .

Першою молекулою, що була відкрита як месенджер, став цАМФ. У 1957 р. Сазерленд відкрив, що цАМФ є вторинним посередником дії адреналіну.

Нижче наведена таблиця, в якій подані гормони і відповідні вторинні посередники дії цих гормонів у клітині.

	Вторинний посередник	Приклади біорегуляторів
--	----------------------	-------------------------

1	цАМФ	Глюкагон, АКТГ, ТТГ, гонадотропіни, гонадоліберин, тироліберин, МСГ, вазопресин та інші
2	цГМФ	$\alpha$ -передсердний Na уретичний пептид, ацетилхолін, серотонін, NO, брадикінін
3	ІТФ, ДАГ, $Ca^{2+}$	Гастрин, тироліберин, вазопресин, ангіо-тензин II, паратгормон, лейкотрієни

цАМФ як вторинний посередник дії гормонів

Послідовність процесів, які відбуваються при активації синтезу цАМФ у клітині під дією гормону має такий вигляд.

Система, яка забезпечує синтез цАМФ – аденілатциклаза система – складається з трьох компонентів: рецептора, регуляторного білка – трансдуктора (G-білка) і каталітичної субодиниці – аденілатциклази.

Гормон зв'язується з рецептором, який знаходиться на поверхні плазматичної мембрани. У результаті цього процесу відбуваються конформаційні зміни в структурі рецептора, які передаються на спеціальний білок – трансдуктор (G-білок). Цей білок знаходиться у плазматичній мембрані і передає інформацію про зв'язування гормону з рецептором до ферменту аденілатциклази (АДЦ).

Сигнальні G-білки здатні зв'язувати ГТФ і ГДФ. У неактивному стані вони зв'язані з ГДФ. При активації ГДФ заміщується на ГТФ.

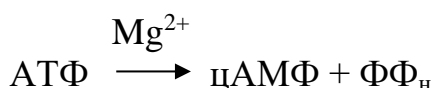
Існує декілька видів G-білків:

- 1)  $G_s$  – це G-білки, які стимулюють аденілатциклазу;
- 2)  $G_i$  – це G-білки, які інгібують аденілатциклазу;
- 3)  $G_o$  – G-білок з невідомою функцією;
- 4)  $G_t$  – це трансдуктин, який бере участь в АДФ-рибозилування при дії холерного токсину;

- 5)  $G_q$  – це G-білки, які активують фосфоліпазу С.

Аденілатциклаза – фермент, який є глікопротеїном.

Після активації цей фермент каталізує реакцію синтезу цАМФ із АТФ:



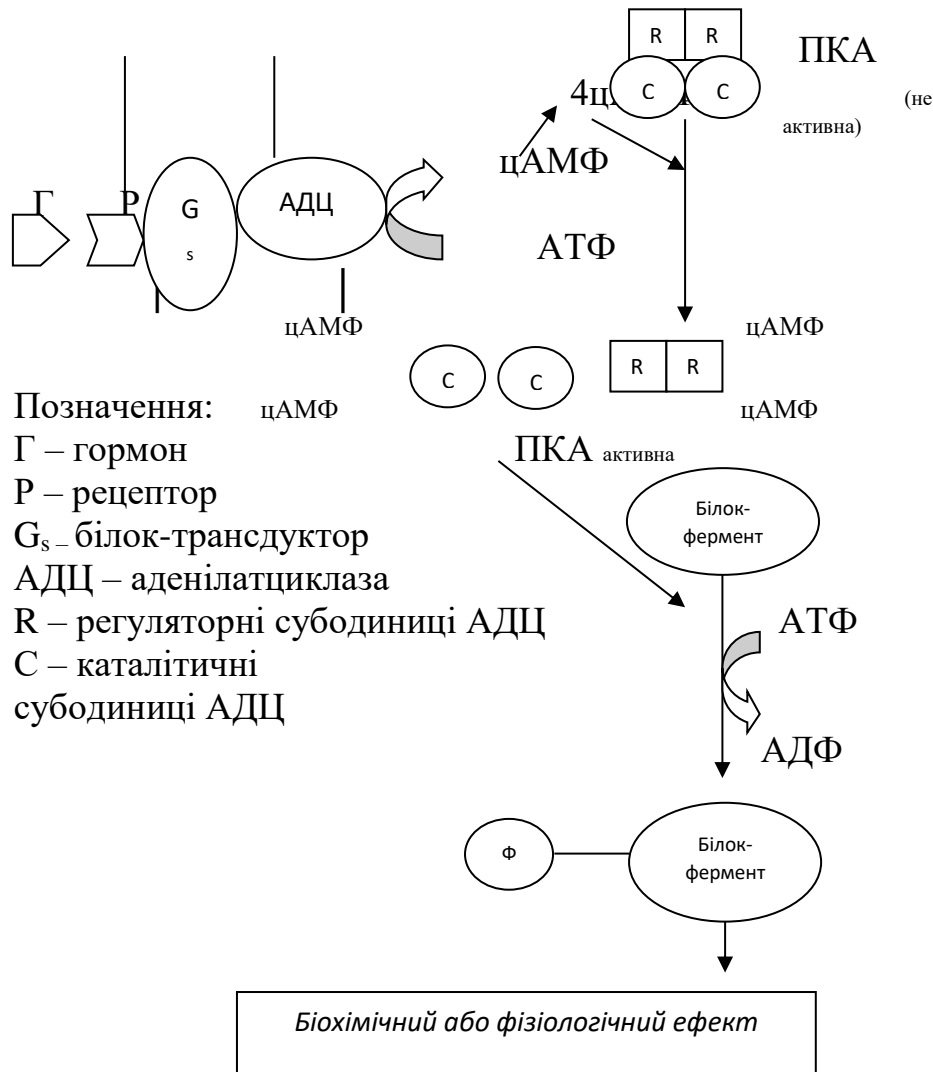
Вважають, що цАМФ є найважливішим вторинним посередником дії біорегуляторів.

У результаті концентрація цАМФ у цитозолі швидко досягає максимальних значень ( $\approx 10^{-6}M$ ).

Далі цАМФ активує цАМФ-залежну протеїнкіназу (ПКА). ПКА містить 4 субодиниці: дві R-регуляторні і дві С – каталітичні. При активації 4 молекули цАМФ приєднуються до 2R-субодиниць і відбувається дисоціація ПКА – 2С субодиниці відділяються. У такому вигляді ПКА активна. Після активації цей фермент фосфорилує (за участі АТФ) біологічно активні білки – ферменти, рецептори, каналцеві білки, ядерні гістони, фактори транскрипції та інші.

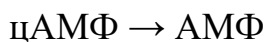
Фосфорилування відбувається, як правило, за сериновими, треоніновими або тирозиновими залишками цих білків. У результаті це призводить до активації або інактивації вказаних білків і виникає відповідна клітинна відповідь.

Схематично цей процес зображений нижче.



Після припинення дії біорегулятора для відновлення початкового стану метаболізму в клітинах існують ферменти, які забезпечують зниження концентрації цАМФ і дефосфорилування білків:

- 1) фосфодіестераза – каталізує розщеплення цАМФ:



Цей фермент активується під дією інсуліну.

Встановлений цікавий факт інгібування цього ферменту кофеїном, тобто кофеїн пролонгує дію гормонів, для яких цАМФ є вторинним посередником (наприклад, адреналіна).

- 2) фосфатази – каталізують дефосфорилування білків.

Таким чином, функціонування фосфодіестерази і фосфатаз повністю знімає вплив, який викликаний дією гормону.

цГМФ як вторинний посередник дії гормонів

Синтез цГМФ каталізує гуанілатциклаза, яка в клітині знаходиться як в мембранно-зв'язаному, так і в розчинному станах. Так, наприклад, 90% активності гуанілатциклази клітин тонкого кишечника знаходиться у мембранах, 10% – в цитозолі. У легенях і печінці лише 20% гуанілатциклазної активності знаходиться в мембранах.

У результаті активації гуанілатциклази концентрація цГМФ в клітині підвищується (до  $10^{-7}M$ ). цГМФ активує цГМФ-залежну протеїнкіназу (ПК-G). Ця протеїнкіназа складається з двох субодиниць, які при активації не дисоціюють (як у випадку з ПКА). ПК-G в активному стані фосфорилує клітинні білки, що призводить до певної клітинної відповіді.

У клітині цГМФ викликає ефекти протилежні цАМФ. цГМФ, наприклад, активує фосфодіестеразу, яка гідролізує цАМФ, стимулює проліферацію клітин (цАМФ пригнічує), регулює клітинний цикл.

Через цГМФ-залежний механізм діє такий важливий біорегулятор, як NO. Молекула NO має властивості класичного месенджера. Так в міоцитах гладеньких м'язів NO активує цитоплазматичну гуанілатциклазу. цГМФ, який утворюється, активує ПК-G, що призводить до зниження рівня  $Ca^{2+}$ , розслаблення м'язів і розширення судин (це реалізується лише в разі дії через гуанілатциклазу).

Інозитолтрифосфат (ІТФ), диацилгліцерол (ДАГ) та іони  $Ca^{2+}$  як вторинні посередники (фосфоінозитидна система)

Дія деяких гормонів у клітині реалізується через утворення таких месенджерів як ІТФ, ДАГ та іони  $Ca^{2+}$ .

При взаємодії гормону з рецептором, через білок-трансдуктор Gq відбувається активація мембранно-зв'язаного ферменту фосфоліпази C. Цей фермент гідролізує фосфотидилінозитол-4,5-дифосфат (ФІ-4,5ДФ). У результаті гідролізу ФІ-4,5ДФ утворюються ІТФ і ДАГ.

ІТФ спричиняє вихід іонів  $\text{Ca}^{2+}$  з ендоплазматичного ретикулуму (або саркоплазматичного ретикулуму) в цитозоль через стимуляцію відкриття мембранних каналів для кальцію.

Далі іони  $\text{Ca}^{2+}$  зв'язуються з кальцій-зв'язуючим білком – кальмодуліном, який присутній практично в усіх клітинах. Комплекс  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін здатний регулювати активність багатьох  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулін-залежних ферментів (різних протеїнкіназ, аденілатциклазу, фосфодіестеразу та інші). Зміна активності цих ферментів призводить до певної клітинної відповіді.

ДАГ – це другий вторинний посередник фосфоінізитидної системи, який активує мембранно-зв'язану протеїнкіназу С. Ця протеїнкіназа фосфорилує білки і виникає відповідна клітинна відповідь.

Припинення передачі гормонального сигналу через ІТФ, ДАГ і  $\text{Ca}^{2+}$  здійснюється через:

- 1) Інактивацію ІТФ і ДАГ.

Від ІТФ послідовно відщеплюються три фосфатні групи і він перетворюється в інозитол.

ДАГ розщеплюється до фосфатидної кислоти або гліцеролу і жирних кислот.

- 2) Дефосфорилування білків клітини протеїнфосфата-зами.

Мембранно-цитозольний механізм дії гормонів реалізується дуже швидко. Це пояснюється каскадною організацією процесів – клітинна відповідь досягається через послідовність активації ферментів. На кожному новому етапі в геометричній прогресії зростає кількість активованих молекул – лавиноподібна активація. Такий каскад нагадує піраміду, на вершині якої одна молекула гормону, а у основи – велика кількість молекул активованих ферментів. Саме тому, наприклад, ефект адреналіну підсилюється і досягається дуже швидко – зв'язування кількох молекул адреналіну призводить до миттєвого виходу в кров декількох грамів глюкози (підсилення  $\approx 25$  млн. разів).



## Ca<sup>2+</sup>-месенджерова система

Іонам Ca<sup>2+</sup> належить центральна роль в регуляції багатьох клітинних функцій. Як месенджер Ca<sup>2+</sup> може функціонувати самостійно (не лише у складі фосфоінозитидної системи).

Зміна концентрації внутрішньо-клітинного вільного Ca<sup>2+</sup> є сигналом для активації або інгібування ферментів, які в свою чергу регулюють метаболізм, скорочувальну і секреторну активність, адгезію, клітинний ріст.

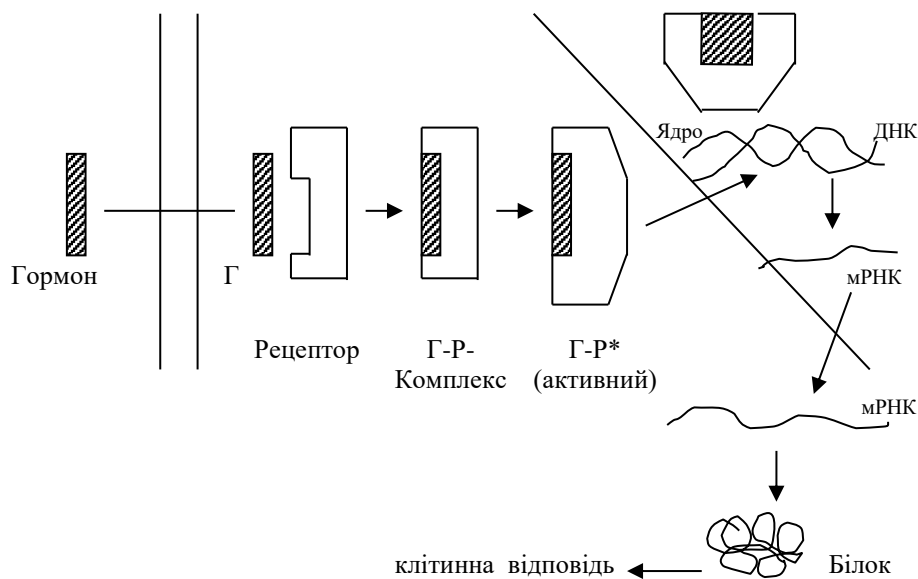
Джерела Ca<sup>2+</sup> можуть бути внутрішньо- і позаклітинні. Вони постачають Ca<sup>2+</sup> у відповідь на нейрогормональні сигнали. Ca<sup>2+</sup> зв'язується з кальмодуліном і комплекс Ca<sup>2+</sup>-кальмодулін активує Ca<sup>2+</sup>-кальмодулін-залежну протеїнкіназу. Ця протеїнкіназа фосфорилує внутрішньоклітинні ферменти – “мішені”, тим самим регулює їх активність, що призводить до певної біохімічної або фізіологічної відповіді.

**3.2 Цитозольний механізм дії** властивий для гормонів, які здатні проходити через ліпідний шар плазматичної мембрани. Цей внутрішньоклітинний механізм реалізується при дії стероїдних і тиреоїдних гормонів. Яким чином названі гормони транспортуються в клітину невідомо, вважається, що завдяки пасивній дифузії.

У цитозолі гормон зв'язується з рецептором – утворюється гормон-рецепторний (Г-Р) комплекс. Далі Г-Р комплекс активується. Результатом такої активації є зміна конформації рецептора, що дозволяє йому зв'язуватися з відповідними сайтами ядерного хроматину. Таке зв'язування призводить до зміни (активації / інгібування) синтезу мРНК і білків – реалізується специфічна біохімічна або фізіологічна відповідь.

Прикладом можуть бути дія кортизолу (глюкокортикоїд) і альдостерона (мінералокортикоїд). Дія кортизолу через цитозольний механізм запускає в печінці синтез білків-ферментів глюконеогенезу; альдостерон стимулює синтез мембранних транспортних білків для Na<sup>+</sup> і, таким чином активує реабсорбцію Na<sup>+</sup> в нирках.

Схематично цитозольний механізм зображений нижче/



Тиреоїдні гормони в клітинах зв'язуються з рецепторами, які локалізовані в ядерному хроматині і їх наявність не залежить від наявності гормону. Взаємодія гормону з рецептором стимулює синтез мРНК, на якій синтезуються білки, що відповідають за клітинну реакцію на дію  $T_3$  і  $T_4$ .

Таким чином, стероїдні і тиреоїдні гормони стимулюють транскрипцію генома (на відміну від білково-пептидних гормонів і похідних амінокислот, які діють на посттранскрипційні процеси). Саме тому клітинні реакції у відповідь на дію стероїдних і тиреоїдних гормонів розвиваються повільно і для гальмування їх дії також потрібен час.

### Контрольні питання

1. Що таке гормони?
2. Які спільні ознаки «справжніх» гормонів?
3. Дайте визначення поняттю рецептора в ендокринології.?
4. Як класифікують гормони?
5. Де може бути розміщений гормональний рецептор?
6. Як здійснюється регуляція секреції гормонів?
7. Опишіть мембранно-цитозольний механізм дії гормонів.

8. Опишіть цитозольний механізм дії гормонів.
9. Як діє  $\text{Ca}^{2+}$ -месенджерова система?
10. Як пов'язані гормони і біосинтез білка?

## Лекція № 13. Енергетичний обмін.

### План:

1. Етапи енергетичного обміну.
2. Активовані переносники.
3. Метаболічні шляхи та їх регуляція.
4. Цикл трикарбонових кислот.
5. Дихальний ланцюг.

### 1. Етапи енергетичного обміну

Енергетичний обмін організмів здійснюється у три послідовних етапи:

- а) підготовчий;
- б) безкисневий;
- в) кисневий;

Підготовчий етап здійснюється у цитоплазмі клітин одноклітинних організмів та у шлунково-кишковому тракті багатоклітинних організмів. Молекули білків, жирів, вуглеводів розщеплюються за участю ферментів на простіші сполуки: білки на амінокислоти, вуглеводи на моносахариди і т. д. Енергія розсіюється у вигляді теплоти.

Безкисневий етап – ферментативне розщеплення простих органічних сполук у клітинах. Прикладом такого є гліколіз (від грец. *glykos* — солодкий і *lysis* — розпад) — багатоступінчасте безкисневе розщеплення Глюкози на дві молекули пірвіноградної або молочної кислоти у м'язових клітинах. У процесі розпаду глюкози беруть участь 13 різних ферментів. Під час гліколізу виділяється 200 кДж енергії. 84 кДж використовується для синтезу 2-х молекул АТФ, а решта (116 кДж) використовується у вигляді теплоти.

Спиртове бродіння – тип перетворення глюкози, коли вона розпадається на дві молекули етилового спирту та дві молекули вуглекислого газу.

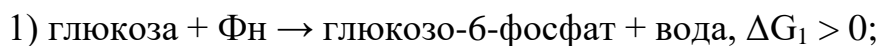
Молочно-кисле (молочне) бродіння – вид безкисневого бродіння.

Кисневий (аеробний) етап здійснюється на мембранах мітохондрій. Важливе місце в аеробному енергетичному обміні належить циклу Кребса, названому так на честь англійського біохіміка Х. Кребса, який відкрив цей процес у 1937 р. На початку циклу пірвіноградна кислота реагує з щавлевооцтовою, утворюючи лимонну кислоту. Остання через низку послідовних реакцій перетворюється на інші кислоти. Внаслідок таких перетворень відтворюється щавлевооцтова кислота, яка знов реагує з пірвіноградною і цикл знов повторюється. У кожному циклі Кребса утворюється одна молекула АТФ. Крім того, в ході біохімічних реакцій циклу від органічних кислот відщеплюються атоми Гідрогену. Ці атоми відновлюють певні сполуки.

## 2. Активовані переносники

У клітині постійно відбувається велика кількість ендергонічних реакцій, це стає можливим тільки завдяки їх спряженню із екзергонічними. Таким чином значення зміни вільної енергії обох процесів додаються і сумарне  $\Delta G < 0$ .

У більшості реакцій джерелом вільної енергії є розщеплення фосфодіестерних зв'язків аденозинтрифосфату. Як приклад можна розглянути фосфорилування глюкози (перша реакція гліколізу):



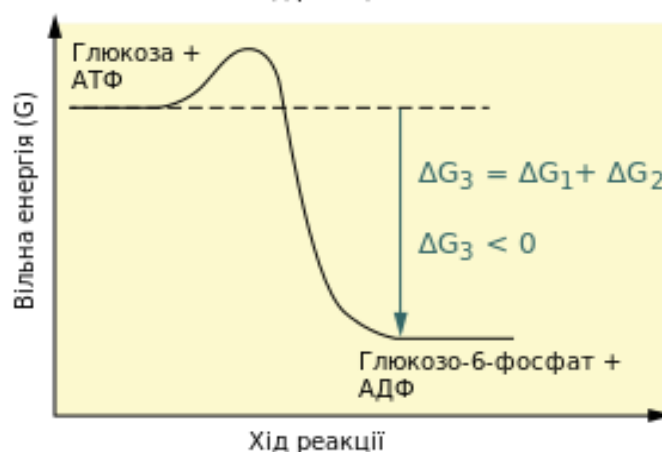
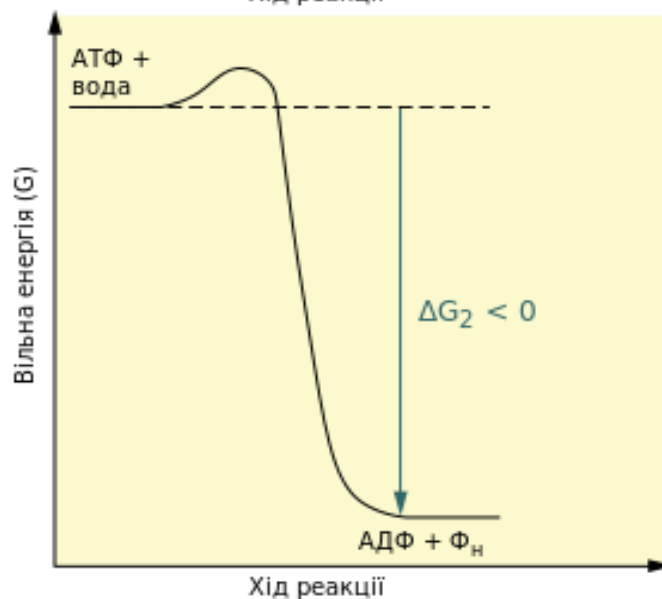
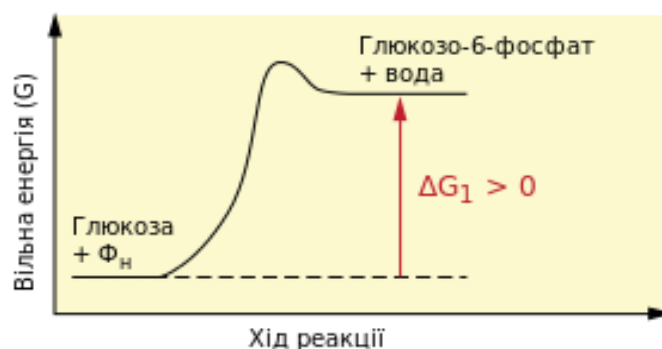
Для реакції гідролізу АТФ:



Оскільки  $|\Delta G_1| < |\Delta G_2|$ , то сумарна зміна вільної енергії спряженої реакції буде від'ємною.

Гідроліз АТФ дає багато енергії з двох причин. По-перше, це пов'язано із особливістю самої молекули: три фосфатні групи в молекулі АТФ мають негативний заряд і відштовхуються між собою, в такому стані її можна порівняти із стиснутою пружиною. Відщеплення одного фосфату – енергетично вигідний процес, як вистрілювання пружини. Тому стандартна

зміна вільної енергії для гідролізу АТФ до АДФ має негативне значення  $-7,3$  ккал/моль. Другою причиною є те, що співвідношення концентрацій АТФ/АДФ у клітині значно більше за рівноважне, тому в реальних умовах розщеплення одного моль АТФ дає приблизно 13 ккал енергії. Проте для проходження деяких реакцій, наприклад полімеризації нуклеотидів у нуклеїнову кислоту, цієї енергії недостатньо, тому відбувається відщеплення пірофосфату із утворенням АМФ, при цьому  $\Delta G = -26$  ккал/моль.



Спряження ендергонічної реакції синтезу глюкозо-6-фосфату  
та екзергонічної гідролізу АТФ (автор рисунка – Zlir'a)

Зворотний процес до гідролізу АТФ – фосфорилування АДФ є ендергонічним процесом, що у свою чергу спряжений із екзергонічними реакціями, такими як окиснення органічних речовин. Таким чином АТФ є переносником енергії від одних метаболічних реакцій до інших. Швидкість обігу АТФ в організмі дуже велика, кожна клітина щохвилини гідролізує і знову синтезує близько 10 мільйонів молекул цієї речовини. М'язові волокна під час роботи використовують весь свій запас АТФ менш ніж за хвилину. Якби регенерація АТФ із АДФ була б неможливою, людині для життєдіяльності щодня була б потрібна маса цієї речовини майже рівна масі її тіла.

В метаболічних реакціях беруть участь також інші активовані переносники, наприклад нікотинові коферменти НАД<sup>+</sup> та НАДФ<sup>+</sup>. Вони переносять електрони та протони, за цією здатністю коферменти не відрізняються між собою, проте вони мають дещо різні функції. НАД переважно використовується для реакцій окиснення, тому в клітині підтримується високе співвідношення окисненої і відновленої форми (НАД<sup>+</sup>/НАДН(Н<sup>+</sup>)). Натомість НАДФ у більшості випадків діє як відновник завдяки низькому співвідношенню НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН(Н<sup>+</sup>). До інших активованих посередників належать ацетил-кофермент А, ФАДН<sub>2</sub>, кабрксильнований біотин, S-аденозилметіонін, УДФ-глюкоза тощо. Більшість активованих переносників є похідними вітамінів.

### **Каталіз метаболічних реакцій**

Із термодинамічних показників, таких як зміна вільної енергії, можна зробити висновок тільки про можливість проходження певної реакції, але вони нічого не говорять про швидкість, з якою вона протікатиме. Наприклад сахароза менш термодинамічно стабільна, ніж суміш глюкози та фруктози, проте спонтанний гідроліз ( $\Delta G_0 = -7$  ккал/моль) відбувається надзвичайно

повільно. Стерильний розчин сахарози може зберігатись тривалий час у майже незмінному стані, через те, що він є кінетично стабільним.

Для нормальної життєдіяльності в клітині щосекунди повинна відбуватись безліч хімічних реакцій, проходження яких за нормальних умов може займати роки. Для їх пришвидшення використовуються ферменти – каталізатори білкової природи. Ферменти ніяк не впливають  $\Delta G$ , вони не можуть зробити ендергонічні процеси екзергонічними, також вони не зміщують рівноваги реакції, а тільки прискорюють момент її надходження, при чому самі не змінюються у процесі.

Основний механізм дії ферментів полягає у зменшенні енергії активації. Перетворення вихідних речовин у продукти реакції майже завжди передбачає наявність високоенергетичного перехідного стану, який створює бар'єр для перебігу реакції. Ферменти побудовані таким чином, що зв'язування їхнього активного центру із речовиною у перехідному стані є енергетично вигідним, що й дозволяє зменшити активаційний бар'єр. Крім того, білкові каталізатори орієнтують субстрати таким чином, що вони можуть легко реагувати між собою. Завдяки цим властивостям ферменти прискорюють хімічні перетворення у трильйони раз ( $10^{12}$ — $10^{14}$ ).

Ферменти високоспецифічні, зазвичай один фермент каталізує одну реакцію, і кожна реакція каталізується одним ферментом, хоча є багато винятків. Активність багатьох ферментів може регулюватись. Крім білків роль каталізаторів у клітині можуть виконувати молекули РНК (рибозими), іони металів тощо.

### **3. Метаболічні шляхи та їх регуляція**

Серії реакцій в клітині переважно об'єднуються у метаболічні шляхи, в яких продукт одного перетворення стає субстратом для наступного. Зазвичай ферменти одного метаболічного шляху групуються разом, утворюючи великі мультиензимні комплекси.

Деякі шляхи забезпечують розщеплення складних органічних речовин і запасання енергії у формі хімічних зв'язків АТФ, в результаті чого його концентрація в клітині підтримується на досить високому рівні. Також в цих реакція відновлюються НАД і НАДФ. Сукупність таких метаболічних шляхів називається катаболізмом (дисиміляція, енергетичний обмін).

Інші шляхи полягають у синтезі складних молекул із простіших попередників (наприклад полімерів із мономерів), вони завжди потребують енергії і описуються загальним терміном анаболізм (асиміляція, пластичний обмін). Зв'язними ланками між катаболізмом та анаболізмом є АТФ та інші нуклеотидтрифосфати. Інколи виділяють ще так звані амфіоблічні шляхи – перехрестя катаболізму та анаболізму.

Хоча уявлення про метаболізм як сукупність окремих шляхів зручне для його вивчення і систематизації, воно надто спрощене, щоб відповідати реальності. Багато із проміжних продуктів є частиною кількох шляхів. Через це метаболізм найкраще описується як складна сітка взаємопов'язаних реакцій, в якій зміна концентрації навіть однієї речовини викликає суттєві наслідки у багатьох її частинах.

Для того, щоб величезна кількість метаболічних реакцій працювали злагоджено, на користь клітині, вони повинні бути регульованими. Така регуляція забезпечується основними шляхами: активацією або пригніченням синтезу певних ферментів, та зміною їхньої активності. Перший метод повільніший і дає стійкіші результати, другий дозволяє миттєву відповідь.

Багато ключових ферментів метаболічних шляхів є алостеричними, тобто такими, що крім активного центру мають додатковий сайт для зв'язування регуляторних молекул, що змінюючи конформацію білка впливають на його активність. Алостеричні модулятори можуть бути як активуючими так і інгібуючими.

Окрім того, регуляція метаболічних шляхів може відбуватись шляхом зміни доступності субстратів. Наприклад, багато клітин можуть розщеплювати глюкозу тільки в тоді, коли на них діє інсулін, що стимулює

транспорт цієї речовини із крові. В еукаріотичних клітинах протилежно напрямлені метаболічні шляхи часто розподілені по різних компартментах. Наприклад, окиснення жирних кислот відбувається у мітохондріях, а синтез – у цитоплазмі. Перехід субстратів із одного компартменту в інший може слугувати точкою контролю.

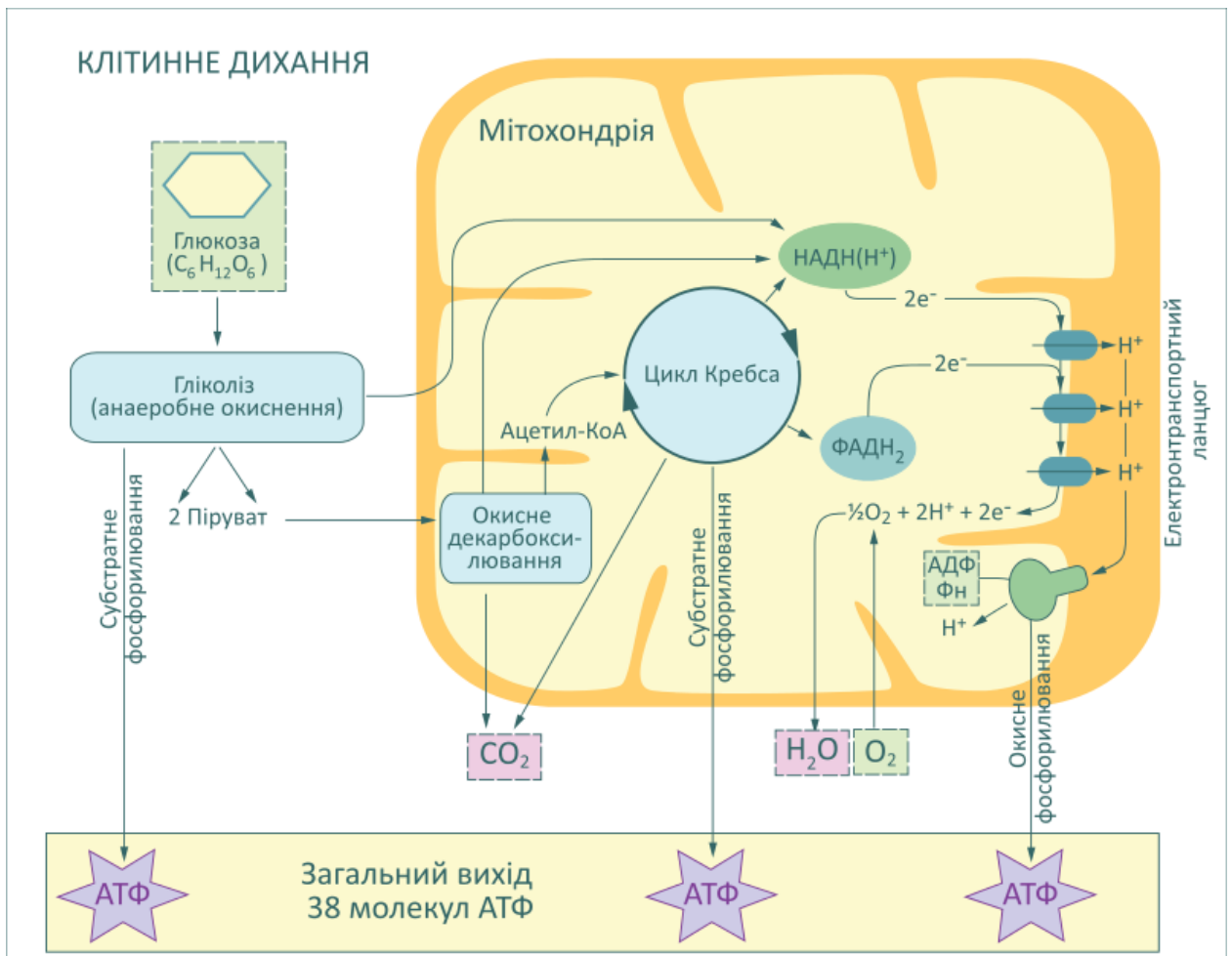
Оскільки одним із першочергових завдань метаболізму є підтримання гомеостазу (динамічної сталості внутрішніх умов), більшість його регуляторних шляхів організовані за принципом негативного зворотного зв'язку: метаболічний шлях пригнічується його кінцевим продуктом, що діє на один із перших ферментів цього шляху. Наприклад амінокислота ізолеїцин синтезується із треоніну у п'ять кроків. Коли в клітині виробляється більше ізолеїцину, ніж потрібно для синтезу білків, його надлишок пригнічує перший фермент цього метаболічного шляху і синтез припиняється до того часу, поки концентрація амінокислоти не зменшиться.

#### **4. Цикл трикарбонових кислот**

Реакції катаболізму – це окиснення органічних речовин, тобто відщеплення від них електронів. Кінцевим акцептором цих електронів можуть виступати ендогенні органічні речовини, наприклад пірвіноградна кислота, такий тип катаболізму називається бродінням переважно протікає за відсутності кисню і є основним шляхом отримання енергії для багатьох мікроорганізмів. Якщо у серії катаболічних реакцій кінцевим акцептором електронів є екзогенні речовини, то вона називається клітинним диханням. Дихання поділяється на аеробне, при якому акцептором виступає кисень, та анаеробне, акцепторами є інші речовини, переважно неорганічні –  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{SeO}_4^-$  тощо, але інколи й органічні, наприклад фумарат. Усі типи клітинного дихання включають ланцюги транспорту електронів.

Аеробне дихання хемоорганогетеротрофних організмів можна поділити на три стадії:

Підготовчий етап – перетравлення, розщеплення біополімерів до їх мономерів. Цей етап відбувається у травній системі, або внутрішньоклітинно у лізосомах. У хімічних реакціях не виділяється достатньої кількості енергії для синтезу АТФ, вся вона втрачається у формі тепла. Продуктами підготовчого етапу є амінокислоти, моносахариди, жирні кислоти, гліцерол та інші речовини.



Основні етапи клітинного дихання на прикладі розщеплення глюкози (вихідні речовини на зеленому тлі, продукти (крім АТФ) – на рожевому) (автор рисунка – Zlir'a)

Безкисневий (анаеробний етап) – розщеплення мономерів до ще менших молекул, переважно ацетил-КоА, на цьому етапі у реакціях субстратного фосфорилування синтезується певна кількість АТФ та відновлюється НАД або/і ФАД. Одним із основних метаоблічних шляхів другого етапу аеробного дихання є гліколіз, у якому перетворюється глюкоза та інші сполуки.

Кисневий (аеробний етап) включає цикл Кребса та електронтранспортний ланцюг, відбувається у мітохондріях. На цьому етапі органічні речовини окиснюються до вуглекислого газу, а всі відщеплені від них електрони та протони переносяться на кисень, внаслідок чого утворюється вода. На цьому етапі відбувається як субстратне так і окисне фосфорилування і синтезується найбільша кількість АТФ.

**Цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса, цитратний цикл)** – центральна частина загального шляху катаболізму, циклічний біохімічний процес аеробних організмів, в ході якого відбувається перетворення двох- і трьохвуглецевих сполук, що утворюються як проміжні продукти в живих організмах при розпаді вуглеводів, жирів і білків, до CO<sub>2</sub>. При цьому звільнений водень прямує в ланцюг тканинного дихання, де надалі окислюється до води, беручи безпосередню участь в синтезі універсального джерела енергії – АТФ.

Цикл Кребса – це ключовий етап дихання всіх клітин, що використовують кисень (аеробне дихання), центр перетину безлічі метаболічних шляхів в організмі. Окрім значної енергетичної ролі циклу відводиться також і істотна пластична функція, тобто це важливе джерело молекул-попередників, з яких в ході інших біохімічних перетворень синтезуються такі важливі для життєдіяльності клітини з'єднання як амінокислоти, вуглеводи, жирні кислоти та ін.

Цикл перетворення лимонної кислоти в живих клітинах був відкритий і вивчений німецьким біохіміком Гансом Кребсом, за цю свою роботу він (спільно з Фріцем Ліпманом) був удостоєний Нобелівської премії з фізіології та медицини 1953 року.

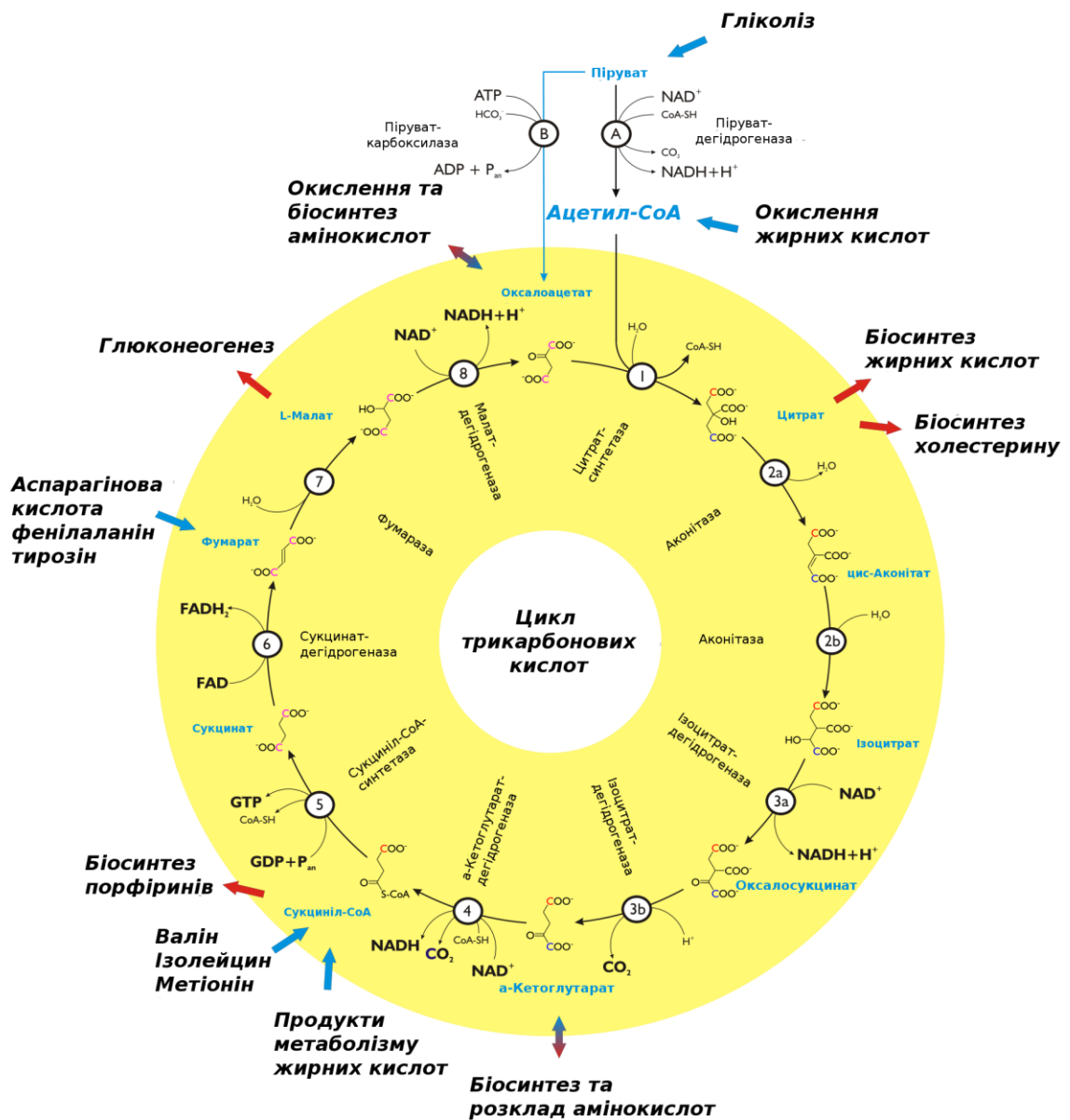
У еукаріотів всі реакції циклу Кребса протікають усередині мітохондрій, причому ферменти, що їх каталізують, окрім одного, знаходяться у вільному стані в мітохондріальному матриксі, виняток складає сукцинатдегідрогеназа, яка локалізується на внутрішній мітохондріальній мембрані, вбудовуючись в ліпідний бішар. У прокаріотів реакції циклу протікають в цитоплазмі.

Узагальнена схема циклу Кребса подана нижче.

Загальне рівняння одного обороту циклу Кребса:



До циклу залучають й деякі амінокислоти. Процес їх окиснення починається з їх дезамінування, тобто відщеплення аміногрупи. Решта вуглецевого ланцюга піддається подальшим перетворенням і в кінці кінців набуває виду циклу Кребса. Так, наприклад, аланін, після дезамінування дає піровиноградну кислоту. Глутамінова кислота – альфа-кетоглутарову, а аспарагінова – щавлевооцтову. Ці 3 амінокислоти залучаються до циклу Кребса безпосередньо. Інші амінокислоти, крім реакції дезамінування повинні пройти ще кілька додаткових реакцій, перш ніж вони зможуть брати участь у циклі Кребса.



## 5. Дихальний ланцюг

Дихальний, або електрон-транспортний ланцюг (також відомий під назвою «електронно-транспортний ланцюжок», «ланцюжок електронної передачі») – біохімічні реакції, виробництва АТФ, основного «палива» клітини, необхідного для її роботи. Тільки два джерела енергії доступні до живих організмів: окислювально-відновлювальні реакції і сонячне світло (фотосинтез). Організми, які використовують окислювально-відновлювальні реакції для отримання АТФ називаються хемотрофами. Організми, які використовують сонячне світло для отримання АТФ називаються

фототрофами. Як хемотрофи, так і фототрофи використовують електронні транспортні ланцюжки для перетворення енергії на АТФ.

Дихальний ланцюг мітохондрій:

Комплекс I (НАД·Н-дегідрогеназний комплекс) окиснює НАД·Н, відбираючи в нього два електрони та переносячи їх на розчинний в ліпідах убіхінон, який всередині мембрани дифундує до комплексу III. Водночас, комплекс I перекачує 2 протони та 2 електрони з матриксу в міжмембранний простір мітохондрії.

Комплекс II (Сукцинатдегідрогеназа) не перекачує протони, але забезпечує вхід у ланцюг додаткових електронів завдяки окисненню сукцинату.

Комплекс III (Цитохром-bc<sub>1</sub>-комплекс) переносить електрони з убіхінону на два водорозчинних цитохроми c, розміщених на внутрішній мембрані мітохондрії. Убіхінон передає 2 електрони, а цитохроми за один цикл переносять по одному електрону. Водночас туди також переходять 2 протони убіхінону та перекачуються комплексом.

Комплекс IV (Цитохром c оксидаза) каталізує перенесення 4 електронів з 4 молекул цитохрому на O<sub>2</sub> та перекачує водночас 4 протони в міжмембранний простір. Комплекс складається з цитохромів a й a<sub>3</sub>, які, окрім гему, містять йони міді.

Кисень, що поступає в мітохондрії з крові, зв'язується з атомом заліза в гемі цитохрому A<sub>3</sub> в формі молекули O<sub>2</sub>. Кожен із атомів кисню приєднує по два електрони та два протони й перетворюється в молекулу води.

### **Контрольні питання**

1. Що таке енергетичний обмін?
2. Наведіть етапи енергетичного обміну?
3. Що таке активовані переносники?
4. Поясніть спряження ендергонічних та екзергонічних реакцій.
5. Чи можуть ферменти змінити енергію Гіббса для реакції?

6. Що таке метаболічні шляхи?
7. Як здійснюється регуляція метаболічних шляхів?
8. Поясніть зв'язок катаболізму та анаболізму.
9. Опишіть цикл Кребса. Де він протікає?
10. Розкрийте основні стадії дихального ланцюга.

## Лекція № 14. Біохімія крові.

### План:

1. Характеристика основних білкових фракцій крові.
2. Фракціонування білків сироватки крові.
3. Гемоглобін: структура, властивості, похідні.
4. Ферменти крові.

Кров – рідка сполучна тканина, що бере участь у забезпеченні безперервного зв'язку між органами та системами організму, обміні продуктами життєдіяльності організму з навколишнім середовищем. Кров містить рідку речовину – плазму та формені елементи – клітини крові (еритроцити, лейкоцити і тромбоцити). Кількість крові в організмі людини становить 4,5-5 л (1/13 маси тіла).

Кров надходить в усі частини організму та виконує такі важливі функції:

- 1) *транспортну* – перенесення різних речовин між органами і тканинами (кисню, оксиду вуглецю, поживних речовин, медіаторів, ферментів, електролітів, кінцевих продуктів обміну, гормонів тощо. Ці речовини транспортуються у вільному стані або в комплексі з білками;
- 2) *поживну* – кров забезпечує транспорт поживних речовин (вуглеводів, ліпідів, амінокислот та ін.) до тканин;
- 3) *екскреторну* – ця функція тісно пов'язана з транспортною функцією; кров забезпечує виведення з тканин та органів кінцевих продуктів метаболізму (сечовини, сечової кислоти, аміаку тощо);
- 4) *дихальну* – ця функція пов'язана з транспортною функцією; кров забезпечує транспорт  $O_2$  та  $CO_2$  між тканинами та легенями;
- 5) *регуляторну* – кров бере участь у регуляції кислотно-основного стану організму, містить гормони та білки, які беруть участь у процесах координації біохімічних та фізіологічних процесів в організмі;

б) *захисну* – кров містить компоненти (лейкоцити, імуноглобуліни, система комплементу), які захищають організм від чужорідних агентів; система коагуляції захищає організм від втрати крові;

7) *терморегуляторну* – кров бере участь у перерозподілі тепла в усьому організмі.

## **1. Характеристика основних білкових фракцій крові**

Білки плазми крові – це динамічна система, яка перебуває в рівновазі з білками тканин. Їх кількісний та якісний склад відображає стан білкового обміну в цілому організмі. У плазмі крові міститься більше 300 різних білків.

Функції білків крові:

- підтримують колоїдно-осмотичний (онкотичний) тиск крові;
- беруть участь у функціонуванні згортальної та антизгортальної систем крові;
- беруть участь у підтримці сталості рН (буферні властивості);
- визначають в'язкість крові;
- беруть участь в транспорті різних сполук (гормонів, ліпідів, жирних кислот, пігментів, мінеральних речовин, жиророзчинних вітамінів);
- є носіями природного та набутого імунітету;
- можуть бути використані як пластичний матеріал для синтезу білків тканин.

Основна маса білків плазми крові синтезується в печінці – це альбуміни (10-16 г/доб),  $\alpha$ -глобуліни, частина  $\beta$ -глобулінів, фібриноген, компоненти системи згортання крові (II, V, VII, IX, X, XI фактори). У клітинах імунної системи синтезується більша частина  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів.

Загальна кількість білків плазми становить 65-80 г/л. Можливі добові коливання в межах 10-20 г/л. У новонароджених кількість загального білка в крові 50-60 г/л. До 3 років це значення досягає нормального рівня.

Зменшення (*гіпопротеїнемія*) або збільшення (*гіперпротеїнемія*) загального білка плазми та окремих білкових фракцій можуть бути зумовлені

багатьма причинами. Ці зміни не є специфічними, але відображають загальну характеристику патологічного процесу (запалення, некроз, новоутворення), динаміку та ступінь тяжкості захворювання. Тому визначення концентрації загального білка та окремих фракцій має велике клініко-діагностичне значення.

Важливе значення також має визначення альбумін-глобулінового коефіцієнта (А/Г коефіцієнт, або білковий коефіцієнт). У нормі співвідношення кількості альбумінів до кількості глобулінів становить: А/Г= 1,2 – 2,0. Зменшення цього значення можливе як за рахунок збільшення концентрації альбумінів, так і в разі підвищення кількості глобулінів крові. Так, наприклад, це може бути результатом пригнічення синтезу альбумінів у печінці або втрати білка із сечею, а також у разі підвищення синтезу  $\gamma$ -глобулінів у відповідь на інфекцію.

## **Основні білкові фракції**

### **1.1. Альбуміни**

Частка альбумінів – 40-50 г/л ( 52-65% загального білка).

Функції альбумінів:

1) беруть участь у підтримці онкотичного тиску крові, таким чином, беруть участь у регуляції водного обміну між кров'ю та позаклітинним простором. При зниженні концентрації альбумінів менше ніж 30 г/л онкотичний тиск зменшується та виникають набряки;

2) беруть участь у транспорті вуглеводів, ліпідів, гормонів, пігментів, мінеральних речовин.

Вони зв'язують вільні жирні кислоти і транспортують їх. Таке зв'язування забезпечує зниження концентрації фізіологічно активних вільних жирних кислот у 10 000 разів. Тому зниження кількості альбумінів може бути однією з причин розвитку жирової інфільтрації печінки.

Відомо, що половина всього кальцію крові зв'язана альбумінами. Динамічна рівновага між іонізованим та зв'язаним Са також залежить від концентрації альбумінів.

Такі лікарські препарати, як пеніцилін, сульфаніламід, аспі-рин утворюють комплекси з альбумінами, що забезпечує більш тривале перебування цих сполук у крові, тобто пролонгує їх дію.

Альбуміни також мають різні специфічні центри для зв'язування з гормонами (тиреоїдними, стероїдними, інсуліном). Встановлено, що насичення альбумінів одним гормоном не пригнічує зв'язування з іншим. Кількість альбумінів регулює вміст вільних гормонів, які є активними. Таким чином, регулюється ступінь активності деяких гормонів. Зниження кількості альбумінів призводить до серйозних метаболічних та фізіологічних розладів, пов'язаних із зростанням гормональної активності;

1) мають буферні властивості, які зумовлені наявністю вільних аміно- та карбоксильних груп у структурі білка;

2) можуть виконувати резервну та пластичну функції. Встановлено, що при аліментарній недостатності білка альбуміни можуть бути використані тканинами як пластичний матеріал для побудови власних білків.

Значне зниження концентрації альбумінів (до 5 г/л) можливе при захворюваннях нирок з вираженим нефротичним синдромом.

## **1.2. Глобуліни**

Це гетерогенна суміш білкових молекул, в якій виділяють  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобуліни. Кожна з цих фракцій містить специфічні білки, які виконують певні біохімічні функції. Нормальне значення концентрації глобулінів у сироватці крові 20-30 г/л.

### ***$\alpha$ -Глобуліни***

За допомогою електрофорезу на папері виділяють дві фракції  $\alpha_1$ - ((4,5 $\pm$ 0,2) г/л) та  $\alpha_2$ - глобуліни ((5,6 $\pm$ 0,2) г/л).

До  **$\alpha_1$ -глобулінів** належать  $\alpha_1$ -антитрипсин,  $\alpha_1$ -кислий гліко-протеїн, альфа-фетопротеїн та інші.

$\alpha_1$ -Антитрипсин (2-2,5 г/л) – це глікопротеїн (природний інгібітор протеїназ). Його біологічна функція реалізується шляхом зв'язування з ферментами трипсином, хімотрипсином, плазміном, тромбіном, що призводить до пригнічення активності цих протеїназ. Антитрипсин належить до білків гострої фази. У гострій фазі захворювання в печінці спостерігається підвищення синтезу цього білка. Зростання кількості цього білка спостерігається також в разі надходження у кров великої кількості протеаз, наприклад, при гострому панкреатиті. Його концентрація зростає при запальних процесах (інфекційні захворювання, гострі гепатити, цирози печінки в активній формі, некротичні процеси, гострі та хронічні панкреатити) та механічному ураженні тканин. Вміст антитрипсину в крові підвищується також при злоякісних новоутвореннях (рак шийки матки, лімфогранулематоз тощо).

Спадкові порушення синтезу  $\alpha_1$ -антитрипсину призводять до розвитку емфіземи легень у людей віком 20-40 років та неонатального гепатиту, наслідком якого може бути цироз печінки. Причиною емфіземи є відсутність механізмів інгібування еластази (також протеїнази), яка бере участь у деструктивних процесах у легенях.

$\alpha_1$ -Кислий глікопротеїн (орозомукоїд, AGP –  $\alpha_1$ -acid glycoprotein) – високомолекулярний білок, фізіологічна роль якого до кінця ще не встановлена, але існує точка зору про наявність у нього імуномодуляторних властивостей – AGP може зв'язуватися з ендогенними та екзогенними медіаторами запалення. Орозомукоїд може захищати організм в умовах підвищеної продукції цитокінів запалення (наприклад, при ендотоксичному шоці). У період розвитку запальної реакції концентрація цього білка зростає у 2- 4 рази, тому AGP також належить до білків гострої фази.

Підвищення концентрації  $\alpha_1$ -кислого глікопротеїну спостерігається при запаленнях, злоякісних пухлинах, хронічному больовому синдромі. Зниження – в ранньому дитячому віці, при прийманні контрацептивів, генетичних дефектах.

*Альфа-фетопротеїн (АФП,  $\alpha$ -Fetoprotein)* – глікопротеїн сироватки крові, який починає вироблятися на 5-му тижні розвитку плода. За будовою АФП подібний до альбумінів і виконує аналогічну функцію в організмі плода. В акушерстві та гінекології цей білок є одним із показників стану розвитку плода та наявності спадкової патології. Визначення концентрації АФП у крові матері разом з рівнем  $\beta$ -хоріонічного гонадотропіну (ХГЧ) та вільного естрадіолу належить до «потрійного тесту» діагностики ризику відхилень у розвитку плода.

В онкології АФП використовують як один з ембріональних імунологічних маркерів злоякісних пухлин (онкофетальний антиген). У дорослих цей білок визначається в крові у високих концентраціях у разі доброякісних або злоякісних проліфера-тивних процесів у клітинах, в яких він виробляється в ембріо-нальному періоді. Так, при гепатоцелюлярній карциномі концен-трація цього білка може зрости у 100 разів (80-90% пацієнтів), при хронічному гепатиту – у 10 – 25 разів (30% пацієнтів). Крім того, визначення концентрації АФП призначають для виявлення метастазування пухлини в печінку, оцінки терапії злоякісних пухлин, скринінгу груп ризику (пацієнтів з цирозом печінки, дефіцитом  $\alpha_1$ -антитрипсину).

До  **$\alpha_2$ -глобулінів** належать гаптоглобін,  $\alpha_2$ -макроглобулін, церулоплазмін, С-реактивний білок.

*Гаптоглобін (Hr)* – глікопротеїн, біологічною функцією якого є зв'язування вільного гемоглобіну (Hb), що вивільняється при внутрішньосудинному гемолізі. Таким чином, Hr перешкоджає втраті організмом гемоглобіну тому, що комплекс Hr-Hb не може пройти крізь ниркові клубочки. Комплекс Hr-Hb за декілька хвилин видаляється клітинами РЕС. Залізо, яке вивільняється, надходить у кров, зв'язується трансферином та транспортується до клітин кісткового мозку для синтезу Hb. Крім того, встановлено, що комплекс Hr-Hb має високу пероксидазну активність та бере участь у функціонуванні антиоксидантної системи організму.

Цей білок синтезується в печінці і належить до білків гострої фази. Його кількість зростає і є наслідком стимуляції синтезу інтерлейкінами при всіх ексудативно-запальних процесах. Вміст Нр свідчить про стан сполучної тканини – кількість цього білка зростає при деструктивних змінах у тканині та знижується при терапії глюкокортикоїдами. Збільшення концентрації гаптоглобіну можливе при нефротичному синдромі, пухлинах, холестазі, колагенозах, лімфогранулематозі тощо. Зниження концентрації цього білка спостерігається при гострих і хронічних захворюваннях печінки, при усіх видах гемолізу, дефіциті глюкозо-6-фосфатдегідрогенази тощо.

*α<sub>2</sub>-Макроглобулін (АМГ, α<sub>2</sub>-сіромукоїд)* – це глікопротеїн, білок гострої фази з великою молекулярною масою, який синтезується в підшлунковій залозі, є інгібітором протеаз (як і антитрипсин, але з більш широким спектром активності). Він інактивує плазмін, а також знижує активність тромбіну. Встановлено, що АМГ транспортує цитокіни (інтерлейкіни, інтерферони, стимуліни, фактори некрозу пухлин, інгібіни, фактори росту). Крім того, він має антиоксидантні властивості, зв'язує інсулін, у дітей підвищується при нефротичному синдромі.

Визначення цього білка у крові не має самостійного значення. У комплексі з іншими показниками (С-реактивний білок, сіалові кислоти та ін.) відображає наявність запального процесу, насамперед при ревматизмі та ревматоїдному артриті. Зниження концентрації АМГ спостерігається при ураженнях підшлункової залози, інфаркті міокарда.

*Церулоплазмін* – мідьвмісний білок, який містить по 8 іонів  $\text{Cu}^+$  та  $\text{Cu}^{2+}$ . Він є головним мідьвмісним металопротеїном крові (містить 95% міді сироватки крові та 3% міді організму). Цей білок виконує декілька функцій. По-перше, церулоплазмін зв'язує і забезпечує транспорт міді у крові. По-друге, він має ферментативні властивості – є оксидазою аскорбінової кислоти, адреналіну, норадреналіну, ДОФА, серотоніну, інактивує активні форми кисню (антиоксидантна властивість). Також він може каталізувати окиснення  $\text{Fe}^{2+}$  до  $\text{Fe}^{3+}$ , саме тому його ще називають фероксидазою.

Церулоплазмін належить до білків гострої фази. Зростання концентрації цього білка у крові спостерігається при гострих та хронічних інфекційних захворюваннях, цирозі, гепатиті, інфаркті міокарда, лімфогранулематозі, деяких злоякісних пухлинах, у хворих на шизофренію.

Недостатність церулоплазміну є результатом пригнічення його синтезу в печінці та спостерігається при хворобі Вільсона-Коновалова або тяжких ураженнях печінки. Дефіцит цього білка може бути також наслідком його втрати організмом (нефротичний синдром).

*C-Реактивний білок (CRP)* – отримав назву завдяки здатності вступати в реакцію преципітації з С-полісахаридом пневмококів (цей важливий механізм раннього захисту організму від інфекції). Цей білок належить до білків гострої фази, є чутливим індикатором ураження тканин при запаленні, некрозі, травмі.

CRP синтезується переважно у печінці. У сироватці крові здорової людини він міститься в дуже низькій концентрації, тому не виявляється звичайними методами. Швидке підвищення концентрації С-реактивного білка (в сотні разів) спостерігається при запальних процесах різної етіології та локалізації, інфекційних захворюваннях, травмах, пухлинах, які супроводжуються некрозом та запаленням. Після інфаркту міокарда зростання кількості цього білка спостерігається вже на 2-й день захворювання (при стенокардії збільшення вмісту CRP не спостерігається). С-реактивний білок також виявляється в крові у гострій фазі ревматизму, при колагенозах, захворюваннях на рак, бактеріальній та вірусній інфекції. При переході захворювання в хронічну фазу концентрація С-реактивного білка у крові знову практично знижується до 0 і підвищується при загостренні процесу.

Відносно нова можливість використання визначення CRP у крові – це оцінка ризику розвитку атеросклерозу та його ускладнень. Для цього використовують дуже чутливі методи, які дають змогу оцінити зміну концентрації білка в інтервалі < 10 мг/л.

Зниження концентрації  $\alpha$ -глобулінів спостерігається при тяжких дистрофічних процесах у печінці, цирозах, мієломі. Підвищення вмісту  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -глобулінів у крові спостерігається при усіх гострих запальних процесах. Збільшення фракції  $\alpha_2$ -глобулінів є сигналом загострення хронічного захворювання, спостерігається в перші години інфаркту міокарда.

### **$\beta$ -Глобуліни**

До складу цієї фракції входять трансферин, гемопексин,  $\beta_2$ -мікроглобулін, ліпопротеїди низької щільності, компоненти системи комплементу (C3).

*Трансферин (Tf)* – це глікопротеїн плазми, який синтезується в печінці і є основним транспортером іонів заліза. Синтез Tf в печінці залежить від функціонального стану органа, потреб та резервів заліза в організмі. У нормі приблизно 30% цього білка зв'язано із залізом; кожна молекула білка містить 2 атоми металу. 1 г трансферину зв'язує 1,25 мг заліза. Трансферин має велику спорідненість до заліза, тому теоретично в 1 літрі крові міститься лише 1 атом вільного заліза. Вміст Tf у жінок на 10% вищий ніж у чоловіків. Концентрація його знижується у людей похилого віку. При дефіциті заліза в разі приймання естрогенів концентрація трансферину у крові також зростає. Цей білок належить до білків гострої фази, але відповідь на гострий запальний процес супроводжується зниженням його вмісту. Так, наприклад, при лихоманці синтез Tf пригнічують інтерлейкіни. Зниження вмісту трансферину супроводжує такі захворювання, як хронічні запальні процеси, цироз, злоякісні новоутворення, приймання андрогенів та кортикостероїдів, гемохроматоз, мієлома тощо.

*Гемопексин (Р-глобулін)* – білок, який зв'язує вільний гем гемопротейнів (гемоглобіну, міоглобіну, каталази) та транспортує його в клітини РЕС печінки для реутилізації. Це перешкод-жає виведенню гему нирками і втраті заліза із сечею.

У клініко-лабораторній діагностиці гемопексин вважають кращим показником гемолізу ніж гаптоглобін, тому що цей білок не належить до білків

гострої фази. Концентрація гемопексину знижується при гемолізі, хворобах печінки та нирок; підвищується – при запаленні.

*β2-Мікроглобулін (beta2-МГ)* – низькомолекулярний білок поверхневих антигенів клітинних ядер. Це компонент білків першого класу головного комплексу гістосумісності. Beta2-МГ має антиоксидантні властивості. У крові його концентрація 2,4 мг/л, із сечею виділяється приблизно 130 мкг/л. Підвищення вмісту цього білка спостерігається при злоякісних захворюваннях, ревматоїдному артриті, інфаркті міокарда, опіках, аутоімунних захворюваннях, порушеннях клітинного імунітету (наприклад, СНІД), трансплантації органів тощо. У сечі концентрація beta2-МГ підвищується при діабетичній нефропатії, інтоксикації важкими металами (наприклад, кадмієм).

### **γ-Глобуліни**

Ця фракція містить основну масу антитіл (імуноглобулінів), що забезпечують гуморальну захисну реакцію організму. Відомо 5 класів імуноглобулінів (Ig): IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Імуноглобуліни різних класів відрізняються за біологічними властивостями, а саме: за здатністю до зв'язування з антигеном.

#### *Функції імуноглобулінів:*

IgG (59-75 мкмоль/л) – основні антитіла вторинного імунітету. Вони становлять 80% усіх імуноглобулінів сироватки крові. Тобто це основні імуноглобуліни сироватки крові, які забезпечують захист організму від багатьох бактерій, вірусів та їх токсинів. IgG – це єдині імуноглобуліни, які здатні проникати крізь плаценту в організм плода. Відомо чотири підкласи IgG, які відрізняються за структурою важких ланцюгів.

IgA (19-25 мкмоль/л) – трапляються в сироватці крові і є основними антитілами в серозно-слизових секретах (слині, бронхіальному слизі, слюзах, жіночому молозиві, слизовій оболонці кишечника).

IgM (0,8-1,2 мкмоль/л) – основні антитіла первинного імунітету. Це потужний активатор системи комплементу. Імуноглобулінами цього класу є

антитіла Вассермана, ревматоїдний фактор, холодіві аглютини та ізогемаглютини. Ці імуноглобуліни першими починають синтезуватися в організмі плода та при імунізації дорослих більшістю антигенів.

IgD (0,26 мкмоль/л) – представлені на поверхні В-лімфоцитів, беруть участь у розпізнаванні антигену.

IgE (0,3-30 нмоль/л) – представлені на поверхні тучних клітин та базофілів. Існує точка зору, що вони беруть участь в імунному захисті від гельмінтів і в реакціях гіперчутливості миттєвого типу. До складу цієї фракції входять реакіни, які беруть участь в алергічних реакціях.

При електрофорезі імуноглобуліни рухаються в зоні  $\gamma$ -глобулінів, але IgA та IgM знаходяться у фракціях  $\beta$ - та  $\alpha_2$ - глобулінів.

IgG, IgA, IgD, IgE секретуються головним чином плазматичними клітинами, IgM – переважно лімфоцитами. Основну масу імуноглобулінів складають IgG.

Кількість  $\gamma$ -глобулінів у плазмі крові залежить від морфо-логічної зрілості та функціональної повноцінності імунореак-тивної тканини. У новонародженого кількість  $\gamma$ -глобулінів така сама, як і у матері. На першому році життя дитини  $\gamma$ -глобуліни представлені в основному імуноглобулінами матері IgG. Після народження їх кількість поступово знижується, і, починаючи з 4 місяців, закінчується синтез власних IgG.

Відомі захворювання, при яких порушена продукція певних класів Ig. Практично завжди зміни рівня Ig зумовлені порушенням швидкості синтезу або секреції цих молекул. Причини таких змін численні, та їх обговорення не є предметом цього курсу лекцій.

### **1.3. Деякі «індикаторні» білки крові**

До цих білків можна віднести тропонін Т та міоглобін, які виявляються в сироватці крові при інфаркті міокарда.

*Тропонін Т* належить до скорочувальних білків м'язів. У крові навіть при важкому фізичному навантаженні не спостерігається суттєвих змін його концентрації. Тому тропонін Т розглядають виключно як кардіоспецифічний

маркер. При інфаркті міокарда зростання концентрації цього білка спостерігається через 3-4 години після больового нападу. Максимальне зростання концентрації – через 3-4 доби. Специфічність методів визначення концентрації тропоніну Т – 90-100%, що значно вище, ніж визначення інших маркерів, таких, як креатинфосфокіназа (КФК), лактатдегідрогеназа (ЛДГ), міоглобін. Крім того, концентрація тропоніну Т після початку інфаркту міокарда зростає значно більше, ніж активність названих ферментів (КФК та ЛДГ). Також зростання концентрації тропоніну Т спостерігається при гострій алкогольній інтоксикації (але не хронічній).

Визначення концентрації *міоглобіну* має значення не лише для встановлення діагнозу інфаркт міокарда, а й з прогностичною метою. Максимальне значення концентрації цього білка виявляють через 4-6 годин після початку захворювання. Встановлено, що висока концентрація міоглобіну в перші години після початку розвитку інфаркту міокарда свідчить про поганий прогноз.

## **2. Фракціонування білків сироватки крові**

Для визначення білків сироватки крові та виявлення парапротеїнів використовують метод електрофорезу. Цей метод був розроблений А. Тиселіусом, який у 1948 р. за це важливе для медичної практики відкриття отримав Нобелівську премію з хімії.

Електрофорез належить до напівкількісних методів досліджень, що пояснюється деякими технологічними етапами методики. Виходячи з міжнародних стандартів, оцінку результатів проводять візуально шляхом порівняння з електрофореграмою сироватки крові у нормі. Кількісні дані необхідні лише для запису результатів та спостереження динаміки.

Принцип електрофоретичного розділення білків сироватки крові (та інших біологічних рідин) полягає в різниці руху молекул у постійному електричному полі залежно від значення заряду та молекулярної маси. У клінічній практиці найчастіше використовують електрофорез на

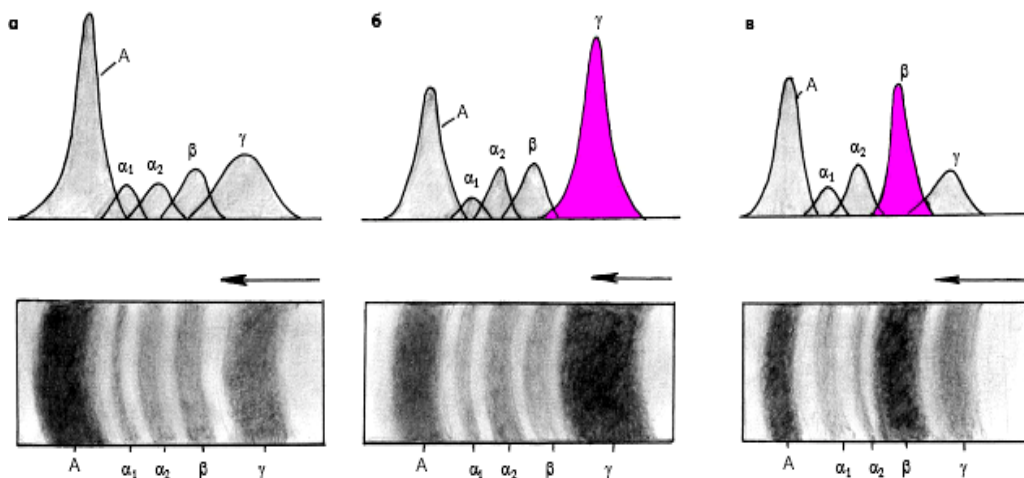
хроматографічному папері, ацетатцелюлозних мембранах, різних гелях, комбінованих носіях. Електрофорез на папері – це найпростіший метод фракціонування білків, але він має деякі суттєві недоліки.

Для електрофорезу використовують різні прилади, які обладнані комп'ютером, електронним кольоровим сканером, мініатюрною фотокамерою, що підвищує точність досліджень.

Напрямок руху білкових молекул при електрофорезі залежить від значення рН буферного розчину та іонної сили середовища. При рН=8,6 або 8,9 та іонній силі 0,08-0,15 моль/л усі білки сироватки крові мають негативний заряд та рухаються від катода до анода.

Після закінчення електрофоретичного розділення смужки паперу або плівки висушують та профарбовують (наприклад, бромфеноловим синім). Таким чином, отримують смужки, які мають назву електрофореграми, або протеїнограми. Інтенсивність забарвлення відповідає концентрації окремих фракцій та визначається за допомогою фотометра або денситометра. На основі отриманих результатів будують графіки кількісного співвідношення окремих фракцій.

На рисунку наведена електрофореграма (протеїнограма, денситограма) білків сироватки крові здорової людини, яку отримують за допомогою електрофорезу на папері (5 фракцій).



Електрофореграма білків сироватки крові у нормі (а) та при мієломі (б, в)

Результати фіксують у відносних одиницях (%) або абсолют-них значеннях концентрації (г/л). Для отримання достовірних значень та зменшень вірогідності похибок визначення концен-трації проводять у г/л. Для цього відсотковий вміст окремих фракцій перемножують на значення концентрації загального білка у сироватці крові.

Як правило, для фракціонування білків крові використо-вують сироватку, оскільки фібриноген плазми дає смужку в зоні  $\beta_2$ -глобулінів, що ускладнює ідентифікацію деяких білків крові, а також може внести похибку при визначенні парапротеїнів.

За допомогою найпростішого методу електрофорезу на папері в сироватці крові здорової людини виявляють 5 фракцій:

- альбуміни (35-45 г/л, 54-58%);
- глобуліни:  $\alpha_1$  (3-6 г/л, 6-7%),
- $\alpha_2$  (4-9 г/л, 8-9%),
- $\beta$  (6-11 г/л, 13-14%),
- $\gamma$  (7-15 г/л, 11-12%).

При використанні агарозного гелю спостерігають 8 фракцій, при електрофорезі в поліакриламідному гелі – до 17 білкових фракцій. Ще більшу кількість можна отримати за допомогою імуноелектрофорезу, який є найбільш інформативним для вияв-лення мінімальних концентрацій аномальних імуноглобулінів (парапротеїнів), наприклад, при мієломі або хворобі Вальден-стрема.

На агарових пластинах виділяють 6 фракцій – бета-зона поділяється на дві  $\beta_1$ - та  $\beta_2$ -.

Основні білки, які входять до складу кожної фракції, такі:

*Альбумінова:* альбуміни;

*Альфа-1-зона:* альфа-1-антитрипсин, орозомукоїд, альфа-1-антихімотрипсин;

*Альфа-2-зона:* гаптоглобін, церулоплазмін, альфа-2-макро-глобулін, альфа-ліпопротеїни;

*Бета-1-зона:* трансфери-гемопексин;

*Бета-2-зона:* беталіпопротеїн, С3-компонент комплементу;

*Гамма-зона:* IgG, IGA, Ig M, IgD, IgE.

Рухомість деяких білків може змінюватись (особливо альбумінів) при їх зв'язуванні з лікарськими препаратами або іншими лігандами (наприклад, білірубіном). Це призводить до формування додаткових смуг на електрофореграмі.

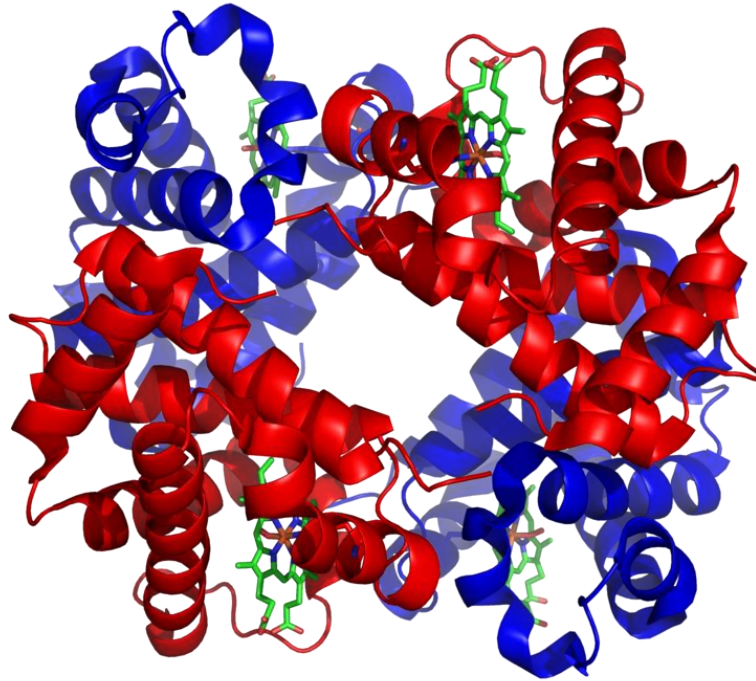
Протеїнограми розглядають як додатковий діагностичний тест, тому що їх значення для діагностики та контролю лікування досить суперечливе. Виняток існує лише для парпротеїнемії, коли використання електрофорезу має значну діагностичну цінність.

### **3. Гемоглобін: структура, властивості, похідні**

Гемоглобін (Hb) – складний білок класу хромопротеїнів, який є гемопротеїном.

Гемоглобін має дві основні фізіологічні функції:

- 1) дихальну – бере участь у транспорті кисню та вуглекислого газу;
- 2) забезпечує сталість рН (гемоглобінова буферна система є найбільш потужною системою підтримки рН крові).



Структура гемоглобіну людини. Субодиниці  $\alpha$  та  $\beta$  забарвлено червоним та синім, а залізовмісні гемові групи – зеленим (автор рисунку – Zephyris)

Нв – це олігомерний білок, який складається з чотирьох субодиниць, або протомерів. Кожна субодиниця містить гем, що зв'язаний з білковою частиною через залишок гістидину. До складу молекули Нв входять по два поліпептидних ланцюги різних видів. Так, основний гемоглобін дорослої людини – НвА<sub>1</sub> (96-99% усього гемоглобіну) – містить два  $\alpha$ - та два  $\beta$ -ланцюги ( $\alpha_2\beta_2$ ). Також у крові міститься НвА<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ), вміст якого становить 2-3%, фетальний гемоглобін НвF ( $\alpha_2\gamma_2$ ), кількість якого – 2-3%. Частина НвА<sub>1</sub> глікозильована – це глікозильований гемоглобін НвА<sub>1c</sub>, який утворюється в результаті неферментативного глікування гемоглобіну залишками глюкози. Нормальна концентрація НвА<sub>1c</sub> – 4-7%.

У чоловіків концентрація гемоглобіну в нормі становить 130–160 г/л, у жінок – 120-150 г/л.

*Похідні гемоглобіну.* До заліза, яке міститься в молекулі Нв, приєднується кисень – утворюється *оксигемоглобін* – НвО<sub>2</sub> (валентність заліза

не змінюється, воно залишається двовалентним). У вигляді  $\text{HbO}_2$  транспортується значна частина кисню.

Інтенсивність утворення  $\text{HbO}_2$  залежить від парціального тиску крові, значення рН, концентрації  $\text{CO}_2$  та вмісту 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ). Різниця парціального тиску  $\text{O}_2$  між альвеолярним повітрям та міжклітинною рідиною, куди кисень потрапляє з крові, дорівнює 65 мм рт.ст. Ця значна різниця забезпечує перехід кисню із альвеол у кров і далі – в міжклітинну рідину.

Крім того, функціонування цитохромоксидази дихального ланцюга призводить до безперервного використання кисню і зниження парціального тиску кисню в мітохондріях до 4 – 5 мм рт.ст. Таким чином, практично створюється «кисневий вакуум» у мітохондріях, що спрямовує потік кисню в клітини.

Зв'язування гемоглобіну з різними лігандами, такими, як  $\text{H}^+$  (при зниженні рН) та  $\text{CO}_2$  призводить до конформаційних змін у молекулі гемоглобіну і змінює спорідненість  $\text{Hb}$  до кисню. У тканинах  $\text{CO}_2$  витісняє  $\text{O}_2$  з гемоглобіну, в легенях, навпаки, кисень витісняє  $\text{CO}_2$  з крові в альвеолярне повітря. Це явище відоме під назвою *ефект Бора*. Цей ефект також бере участь у регуляції рН крові. У капілярах тканин відбувається приєднання протона до гемоглобіну, і, таким чином, це запобігає закисненню середовища. Крім того, в тканинах збільшення кількості  $\text{H}^+$  (при утворенні вугільної кислоти із  $\text{CO}_2$ ) знижує спорідненість  $\text{Hb}$  до кисню. У капілярах легень, навпаки, протон вивільняється, і  $\text{O}_2$  зв'язується з  $\text{Hb}$ .

2,3-ДФГ – метаболіт, який утворюється з 1,3-ДФГ (проміжний продукт гліколізу) та знижує спорідненість гемоглобіну до кисню, що сприяє вивільненню  $\text{O}_2$  у тканинах. Гемоглобін, який віддає кисень, має назву *дезоксигемоглобін, або відновлений гемоглобін (HHb)*.

Приєднання вуглекислого газу призводить до утворення *карбгемоглобіну  $\text{HbCO}_2$*  ( $\text{CO}_2$  з'єднується з N-кінцевими групами гемоглобіну). У складі цього похідного транспортується до 20%  $\text{CO}_2$ .

Молекула гемоглобіну може утворювати комплекси з іншими газами. Так, комплекс гемоглобіну з чадним газом – *карбоксігемоглобін (HbCO)* є міцною сполукою. Спорідненість Hb до CO у 200 разів вище, ніж до кисню, тому утворення кар-боксігемоглобіну блокує утворення оксигемоглобіну і транс-порт кисню. Саме тому навіть незначні кількості чадного газу в повітрі є небезпечними для життя. У крові людини, яка живе у місті, концентрація карбоксігемоглобіну становить менше ніж 2%. У крові людей, які палять, ця концентрація зростає до 10%.

При деяких патологічних станах, наприклад при отруєннях потужними окисниками (перманганат калію, бертолетова сіль, сульфаніламідні препарати та ін.), залізо у складі гему окиснюється до тривалентного стану – утворюється *метгемо-глобін MetHb*. Цей похідний гемоглобіну не може зв'язувати кисень. У нормі в еритроцитах міститься до 2% метгемоглобіну, який утворюється в результаті аутоокиснення. Така незначна кількість не пригнічує газообміну. Накопиченню метгемоглобіну перешкоджає функціонування ферменту *метгемоглобінредуктази*, яка відновлює MetHb.

*Метгемоглобінемія* (підвищення концентрації MetHb) може мати спадковий характер (при дефіциті метгемоглобінредуктази) та розвиватися внаслідок надходження в організм значної кількості окисників – нітритів, аніліну, нітробензолу та ін. (розвивається гостра токсична метгемоглобінемія).

При порушенні синтезу гемоглобіну виникають *гемоглобінопатії* і *таласемії*, які мають спадковий характер і належать до «молекулярних хвороб».

*Гемоглобінопатії* є наслідком зміни кількісного або якісно-го амінокислотного складу поліпептидних ланцюгів гемоглобіну, тому вони належать до *якісних гемоглобінопатій*.

*Таласемії* зумовлені порушенням швидкості синтезу поліпептидних ланцюгів гемоглобіну без зміни їх структури, тому вони ще мають назву *кількісні гемоглобінопатії*. Деколи спостерігається наявність цих двох патологій у одного хворого.

Для гемоглобінопатій і таласемій характерний синдром еритропатій, який супроводжується: скороченням тривалості життя еритроцитів, підвищеним гемолізом, порушенням функцій еритроцитів. Відомо близько 300 аномальних гемогло-бінів, але не всі патології мають клінічні прояви. Перші аномальні гемоглобіни називали за літерами латинського алфавіту, але, оскільки існує велика кількість патологічних форм, до назв цих гемоглобінів почали включати назви місць їх відкриття (Москва, Boston) або назви шпиталів.

Найчастіше при гемоглобінопатіях спостерігаються гемоглобіни S, C, D, E, H.

HbS – гемоглобін, в якому в 6-му положенні  $\beta$ -ланцюга глютамінова кислота (Глу) замінена на валін (Вал). Валін має неполярний радикал, тому така заміна призводить до зниження розчинності гемоглобіну. Внаслідок синтезу HbS змінюється структура еритроцитів – кристалізація гемоглобіну у вигляді тектоїдів супроводжується розтягненням оболонки і вони наби-рають форми серпа. Тому ця патологія має назву *серпоподібно-клітинна анемія*. У результаті спостерігаються підвищення в'язкості крові, зменшення швидкості кровотоку, зниження механічної резистентності еритроцитів – вони втрачають здат-ність проходити через дрібні капіляри. Такі еритроцити застря-ють у капілярах, руйнуються і утворюють тромби, наслідком чого є хронічна капілярнопатія.

HbC – гемоглобін, в якому в 6-му положенні  $\beta$ -ланцюга глу-тамінова кислота (Глу) замінена на лізин (Ліз). Цей гемоглобін також кристалізується в еритроцитах, які гемолізують, резуль-татом чого є розвиток анемії. Високий вміст HbC призводить до розвитку легкої форми гемолітичної анемії.

HbD – гемоглобін, в 121-му положенні бета-ланцюга якого глютамінова кислота (Глу) замінена на глютамін (Глн). При висо-кому вмісті такого аномального гемоглобіну розвивається легка форма гемолітичної анемії.

HbE – гемоглобін, в 26-му положенні  $\beta$ -ланцюга якого глю-тамінова кислота (Глу) замінена на лізин (Ліз). Внаслідок дефі-циту нормальних  $\beta$ -

ланцюгів за симптоматикою ця гемогло-бінопатія подібна до  $\beta$ -таласемії і супроводжується розвитком мікроцитарної гіпохромної анемії та наявністю мішенеподібних еритроцитів. Бувають також більш тяжкі форми цієї патології, які супроводжуються вираженою спленомегалією.

HbM – існує група гемоглобінів, у яких структурний дефект (амінокислотна заміна) перешкоджає відновленню метгемоглобіна до гемоглобіну. У таких гемоглобінах метгемоглобінредуктаза не може відновити тривалентне залізо до двовалентного стану, тому в еритроцитах спостерігається накопичення метгемоглобіну.

Таласемії (греч. *thalassa* – море і гемо...) – це найбільш поширені спадкові захворювання людини. Залежно від того, порушення синтезу яких ланцюгів гемоглобіну спостерігається при цій патології, таласемії прийнято поділяти на дві групи:  $\alpha$ - та  $\beta$ -таласемії. Альфа-таласемія обумовлена порушенням синтезу  $\alpha$ -ланцюгів Hb (внаслідок делеції або інактивації одного з чотирьох генів альфа-ланцюгів глобіну). Бета-таласемія розвивається внаслідок порушення синтезу  $\beta$ -ланцюгів.

При *альфа-таласемії* в організмі дорослої людини формуються бета<sub>4</sub>-тетрамери – це гемоглобін H (HbH). Ці тетрамери нестабільні, крива дисоціації оксигемоглобіну не має S-подібної форми. У хворих спостерігається мікроцитарна гіпохромна анемія. Гемолітичні прояви захворювання обумовлені кількістю таких тетрамерів.

При *бета-таласемії* надлишок  $\alpha$ -ланцюгів гемоглобіну не утворює тетрамерів,  $\alpha$ -ланцюги Hb зв'язуються з мембранами еритроцитів та пошкоджують їх. Гомо- та гетерозиготи мають різні за тяжкістю клінічні прояви. Варіації симптомів можуть бути від тяжкої анемії з клінічною симптоматикою, яка не дозволяє людині жити довше ніж до 20 років (анемія Кулі), до легкої мікроцитарної анемії.

#### 4. Ферменти крові

Визначення активності ферментів крові є важливим інструментом діагностики захворювань. На цей час у клініці використовується визначення активності певного набору ферментів. Саме тому ми розглянемо характеристики тих ферментів крові, які мають найбільшу цінність для встановлення діагнозу, отримання інформації про перебіг захворювання та терапії з прогностичною метою.

Як правило, для визначення активності ферментів крові використовують сироватку, ферментний склад якої відносно постійний та має різне походження.

Ферменти сироватки (плазми) крові умовно поділяють на три групи:

1) *індикаторні (клітинні, маркерні) ферменти* – локалізовані в клітинах тканин, потрапляють у кров у результаті фізіологічного старіння та руйнації клітин або в результаті підвищення проникливості клітинних мембран. У крові міститься декілька десятків індикаторних ферментів. У нормі клітинні ферменти у крові мають невелику активність та не виконують специфічних функцій. При надходженні у кров вони інактивуються протеазами сироватки і тканин. Активність цих ферментів зростає при ураженні органів, коли спостерігається потужна руйнація клітинних мембран. Ферменти цієї групи поділяють на *неспецифічні та органо-специфічні*.

Неспецифічні індикаторні ферменти каталізують універсальні реакції метаболізму та локалізовані в більшості органів і тканин. Органоспецифічні ферменти містяться лише в тих органах і тканинах, де відбуваються специфічні реакції, властиві лише для клітин цього органа. Саме тому підвищення активності цих ферментів у крові свідчить про органну локалізацію патологічного процесу;

2) *секреторні (плазмоспецифічні) ферменти* – синтезуються в печінці, виділяються у кров, де виконують певні фізіологічні функції (ферменти системи згортання крові, фібринолізу, холінестераза, церулоплазмін, протеази ренін-ангіотензинової та калікреїнової систем тощо);

3) *екскреторні ферменти* – синтезуються в печінці, підшлунковій залозі, слизовій оболонці кишечника. Поява цих ферментів у крові пов'язана з природною руйнацією клітинних структур, у яких вони утворюються (лужна фосфатаза, лейцинамінопептидаза, ентерокиназа, ГГТП, трипсин, ліпаза та ін.).

Виділяють декілька типів зміни активності ферментів у крові: гіперферментемія, гіпоферментемія та дисферментемія.

*Гіперферментемія* – підвищення активності ферментів у сироватці крові. Це може бути наслідком: 1) надходження ферментів у кров з пошкоджених органів і тканин; 2) підвищення каталітичної активності ферментів як безпосередньо у пошкодженому органі, так і при надходженні в кров'яне русло.

*Гіпоферментемія* – зниження активності ферментів крові, що є результатом пригнічення синтезу ферментів у тканинах. Цей вид зміни активності ферментів характерний лише для окремих ферментів, наприклад, для холінестерази.

*Дисферментемія* – цей тип характеризує появу деяких ферментів у крові, активність яких у нормі відсутня. Такі зміни можуть бути характерні для деяких органоспецифічних ферментів, наприклад, сорбітолдегідрогенази, фруктозомоно-фосфатальдолази та ін.

### **Використання визначення активності деяких індикаторних ферментів крові**

Визначення активності індикаторних ферментів у сироватці крові особливе значення має для діагностики захворювань внутрішніх органів. Класичним прикладом є використання ферментів для діагностики уражень міокарда. З діагностичної точки зору при *інфаркті міокарда* важливо визначити активності таких ферментів сироватки крові, як КФК, АсАТ, ЛДГ, гідроксибутиратдегідрогеназа.

Динаміка змін активності цих ферментів у разі наявності захворювання така: активність АсАТ зростає через 4-6 годин з моменту нападу, максимальне збільшення активності (у 4–5 разів) спостерігається через 24-36 годин.

**Креатинфосфокіназа** (КФК, креатинкіназа – КК) у крові людини може бути наявна в різних формах: КФК-ММ, КФК-МВ, КФК-ВВ. ММ – це м'язовий ізофермент, ВВ – мозковий, МВ – має високу активність у міокарді. Крім того, в сироватці крові м'ястяться макро-КФК типу 1 (зв'язані з імуноглобуліном), макро-КФК типу 2 (мітохондріальна форма).

Оскільки ізоферменти КФК мають велику активність переважно в скелетних м'язах, міокарді і ЦНС, визначення загальної активності КФК та ізоферментів має значення для діагностики захворювань ЦНС, міопатій та інфаркту міокарда.

Зростання активності КФК при інфаркті міокарда починається через 2 – 3 години після початку нападу, максимум спостерігається через 13 – 30 годин (у 5 – 10 разів перевищує норму). Особливе значення має визначення активності МВ-КФК. Якщо активність МВ-КФК становить більше ніж 5% від загальної активності КФК, ураження міокарда можна вважати доведеним. У гострому періоді інфаркту міокарда співвідношення МВ-КФК/загальна КФК підвищується від 3 до 40 %. На жаль, у нашій країні визначення ізоферментного спектра можливе не в усіх клініко-діагностичних лабораторіях.

Крім того, високе діагностичне значення має визначення співвідношення активностей КФК/АсАТ, яке використовується для диференціальної діагностики інфаркту міокарда та уражень скелетних м'язів. При ураженні скелетних м'язів це співвідношення дорівнює приблизно 27 (13-56); про патологію кардіоміоцитів свідчить значення близько 5 (2 – 9).

У хворих на інфаркт міокарда активність ЛДГ у сироватці крові підвищується через 8 – 10 годин після початку нападу та досягає максимуму через 24-28 годин. Загальна активність ЛДГ у таких хворих залишається підвищеною вдвічі довше, ніж активність інших ферментів. Підвищення

загальної активності ЛДГ при інфаркті міокарда спричинено насамперед зростанням активності ізоферментів ЛДГ<sub>1</sub> та ЛДГ<sub>2</sub>. Крім того, значення співвідношення активності ЛДГ<sub>1</sub>/ЛДГ<sub>2</sub> стає більше одиниці, тоді як у нормі активність ЛДГ<sub>2</sub> вища. Слід відмітити, що при зазначеній патології спостерігається незначне підвищення активності й інших ізоферментів ЛДГ.

Фермент ЛДГ міститься практично в усіх органах, тому підвищення загальної активності може спостерігатися при патологічних станах різної локалізації. Діагностичне та про-гностичне значення мають визначення як загальної активності цього ферменту, так і активності ізоферментів. Підвищення загальної активності ЛДГ та ЛДГ<sub>1</sub> і ЛДГ<sub>2</sub> спостерігається не лише при гострому інфаркті міокарда, а також при гемолізі, анемії, гострому некрозі нирок. Активність ЛДГ<sub>3</sub> зростає при тромбозі артерії легень, ниркових захворюваннях, злоякісних пухлинах. Значна кількість захворювань печінки супроводжується підвищенням активності ЛДГ<sub>4</sub> і ЛДГ<sub>5</sub> (гепатити, цирози тощо).

Визначення активності амінотрансфераз *АлАТ* і *АсАТ* в сироватці крові має важливе значення також для діагностики *захворювань печінки*. Значне підвищення активності цих ферментів спостерігається при гострому вірусному гепатиті. Встановлено, що при цій патології домінує активність АлАТ. При внутрішньопечінковому холестазі, цирозі печінки, метастазах карциноми активність АсАТ у крові підвищена і більша, ніж АлАТ.

При захворюваннях печінки у крові також зростає активність глутаматдегідрогенази, органоспецифічних ферментів – цистази, урокінази, сорбітолдегідрогенази, орнітинкарбомойл-трансферази, глутаматдегідрогенази.

Підвищення активності *лужної фосфатази* спостерігається при двох видах патологій: захворюваннях кісток, які супроводжуються проліферацією остеобластів та хворобах з явищами холестазу. Крім того, визначення активності лужної фосфатази має велике значення для діагностики рахіту у дітей.

Підвищення активності *кислої фосфатази* спостерігається при новоутвореннях у передміхуровій залозі, тромбоемболіях, гемолітичних станах, ураженнях кісток метастазами тощо.

У крові людини також міститься *альфа-амілаза*, яка має різне походження, тобто двох типів: панкреатична (P) та сли-ни (S). У практично здорової людини активність цих двох ізoenзимних типів приблизно однакова. Вищеназаний фермент зв'язаний з білками плазми крові. Активність альфа-амілази значно зростає при захворюваннях підшлункової залози (гострому панкреатиті); незначне підвищення активності спостере-ігається при холециститі, захворюваннях нирок, простатиті, черепно-мозкових травмах, пневмонії, діабетичному кето-ацидозі, в післяопераційний період тощо.

### **Контрольні питання**

1. Які речовини забезпечують виконання кров'ю її функцій?
2. Як білкові фракції крові впливають на її фізико-хімічні властивості?
3. Охарактеризуйте альбуміни.
4. Охарактеризуйте глобуліни.
5. Що таке імуноглобуліни?
6. Опишіть методику фракціонування білків крові.
7. Опишіть структуру гемоглобіну.
8. Поясніть поняття таласемії.
9. Які групи ферментів присутні в крові?
10. Які речовини в крові називають індикаторними?

## **Лекція № 15. Біохімія імунної системи.**

### **План:**

1. Характеристика основних механізмів імунітету.
2. Поняття про антитіла.
3. Лімфокіни.
4. Система комплементу.
5. Набутий імунітет.
6. Генетичні основи різноманітності імунної системи.
7. Автоімунні реакції.

### **1. Характеристика основних механізмів імунітету**

Клітини і молекули імунної системи розпізнають величезну кількість різноманітних сторонніх клітин і речовин, відрізняючи їх від клітин і речовин власного організму. Сторонні (або змінені "свої") структури, проти яких розвивається захисна реакція імунної системи, називаються антигенами. Після ідентифікації антигенів функціональні елементи імунної системи нейтралізують і видаляють їх.

Типовими антигенами є сторонні білки і полісахариди. Вони можуть бути в плазматичній мембрані чужих клітин або потрапляти в організм у вільному вигляді. Антигенні властивості проявляють і нуклеїнові кислоти та складні ліпіди. Ділянку високомолекулярного антигену, яка визначає імунну реакцію, називають антигенною детермінантою, а також епігоном. Наприклад, на молекулі полісахаридного антигену детермінанта, яку розпізнає рецептор В-лімфоцита, відповідає 5-6 залишкам моносахаридів. А на молекулах глобулярних білків-антигенів розпізнається детермінанта із 4-6 амінокислотних залишків. Антигенні детермінанти білків часто формуються із залишків амінокислот, які знаходяться далеко один від одного в поліпептидному ланцюгу, але зближені внаслідок просторової укладки на

поверхні молекули білка. Молекули високомолекулярних антигенів можуть мати значну кількість антигенних детермінант різної структури.

Такі низькомолекулярні сполуки, як лікарські препарати і їх метаболіти, можуть спричинити імунну реакцію, якщо вони асоційовані з білком чи полісахаридом. Ці низькомолекулярні речовини називаються гаптенами. У цьому випадку не обов'язково, щоб гаптен був приєднаний до чужого біополімера. Він може бути зв'язаний з білком чи полісахаридом даного організму, які самі по собі не викликають реакції імунної системи, тобто є "своїми".

Постійний нагляд за антигенним складом клітин і тканин організму з метою розпізнавання "чужого" здійснюють лімфоїдні клітини. На поверхні їх є білки-рецептори, які розпізнають і специфічно зв'язують чужі антигени. На поверхні В-лімфоцитів рецепторними молекулами служать мембранні форми імуноглобулінів. Вони розпізнають чужі антигени. Білки-рецептори Т-лімфоцитів розпізнають тільки ті "свої" клітини, що несуть і свої, і чужі антигенні детермінанти. Зв'язування антигену з рецептором на поверхні лімфоцитів запускає активацію, проліферацію й диференціацію клітин.

Т-лімфоцити видозмінюються у ряд субпопуляцій з різноманітними функціями – Т-хелпери, Т-супресори і цитотоксичні Т-ефектори. Перші дві субпопуляції Т-клітин виконують регуляторні функції, а цитотоксичні Т-ефектори зв'язуються зі своїми клітинами-мішенями і руйнують їх (клітинний імунітет). В-лімфоцити перетворюються в плазматичні клітини, які синтезують і секретують у плазму крові імуноглобуліни (антитіла), специфічні до антигену, який зумовив їх появу (гуморальний імунітет). Число видів антитіл з різною специфічністю в організмі людини оцінюється в  $10^7$ - $10^8$ . Кожна плазматична клітина живе всього 2-3 дні, але разом клітини одного клону (нащадки одного В-лімфоцита) встигають виробити величезну кількість антитіл.

У результаті взаємодії антитіл із розчинними молекулами-антигенами утворюються мульtimoлекулярні комплекси. Ці комплекси ендоцитуються і

перетравлюються тканинними макрофагами. Антитіла взаємодіють і з антигенами поверхні чужих клітин, що призводить до активації системи комплементу. Остання функціонує подібно до системи згортання крові і шляхом ланцюга ферментативних реакцій зумовлює утворення великої кількості пор у плазматичній мембрані, а в результаті – лізис клітин.

Таким чином, в основі імунологічного розпізнавання лежить взаємодія рецепторів поверхневої мембрани імунокомпетентних клітин чи антигеноспецифічних молекул, які секретуються цими клітинами, з відповідними їм ділянками антигенів. Імунна система організму за допомогою антитіл, системи комплементу, цитотоксичних Т-ефекторів, а також ряду інших лімфоїдних клітин та їх продуктів виявляє та знищує "чуже".

Ушкодження імунної системи знижують опірність організму людини до інфекцій. Імунологічна недостатність може бути наслідком дефіциту стовбурових клітин лімфоїдного ряду, порушень розмноження і диференціації Т- чи В-лімфоцитів, дефіциту системи комплементу.

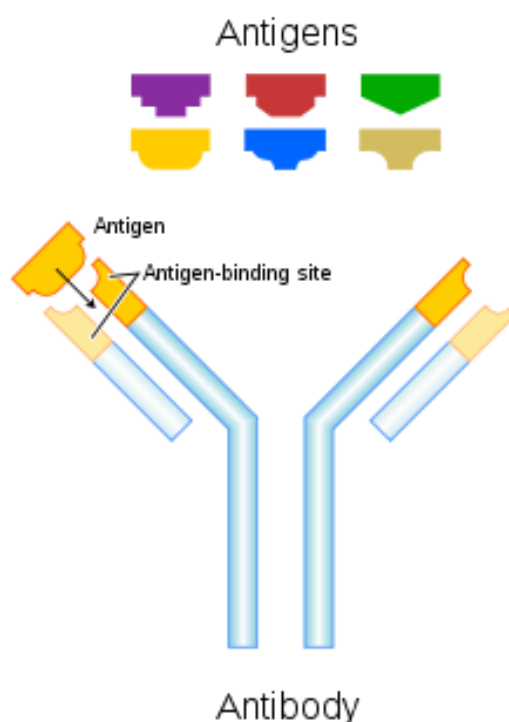
Розрізняють первинні і вторинні імунодефіцитні стани. У людей з імунологічною недостатністю спостерігається висока частота утворення злоякісних пухлин. Надзвичайно сильна імунна відповідь на сторонні антигени призводить до ушкодження тканин організму (реакцій гіперчутливості). При автоімунних захворюваннях імунна система атакує молекули і клітини власного організму. Порушення імунологічної толерантності може бути спонтанним або викликаним дією екзогенних факторів.

## **2. Поняття про антитіла**

Антитіла, або імуноглобуліни (Ig), – це розчинні білки сироватки крові, які відносяться до фракції  $\gamma$ -глобулінів. Відомо 5 класів імуноглобулінів: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. Класи IgG і IgA діляться на підкласи.

Молекули антитіл складаються із легких (L) і важких (H) поліпептидних ланцюгів. Легких ланцюгів існують 2 види:  $\kappa$  (каппа) і  $\lambda$  (лямбда), а важких –

5 ( $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ), за якими і визначають 5 класів Ig. Молекулярна маса легких ланцюгів – 22500, а важких – від 53000 до 75000. До складу антитіл входить по парі легких і важких ланцюгів одного виду. Молекули IgG, IgD і IgE мономерні, а IgA і IgM – олігомерні, тобто містять декілька мономерів із 4-х ланцюгів. Усі імуноглобуліни є глікопротеїнами з ковалентно зв'язаними олігосахаридними ланцюгами. Вуглеводна частина визначає швидкість розпаду антитіл, що здійснюється в гепатоцитах.



Кожне антитіло зв'язується тільки з одним специфічним антигеном

У молекулах антитіл поліпептидні ланцюги з'єднані між собою дисульфідними зв'язками; крім того, і легкі, і важкі ланцюги містять внутрішньоланцюгові дисульфідні зв'язки. В олігомерних Ig мономерні з'єднані між собою і з додатковим J-ланцюгом також дисульфідними зв'язками. У всіх легких і важких поліпептидних ланцюгів розрізняють константні C-ділянки з незмінною амінокислотною послідовністю, характерною для всіх антитіл даного класу (у тварин одного виду), і варіабельні V-ділянки, амінокислотна послідовність яких різна в антитіл різної специфічності. V-ділянки включають близько 110 амінокислотних залишків з

N-кінця легких ланцюгів і близько 120 залишків у важких ланцюгах. Дослідження просторової структури антитіл показали, що поліпептидні ланцюги побудовані із компактних доменів, подібних за амінокислотною послідовністю і просторовою структурою. У межах кожного домену поліпептидний ланцюг утворює антипаралельну  $\beta$ -складчасту структуру, стабілізовану водневими зв'язками. Константна ділянка важких ланцюгів складається із трьох (IgG, IgA, IgD) або чотирьох (IgM, IgE) доменів, а варіабельна ділянка утворює окремий домен. Легкі ланцюги складаються з двох доменів – константного (C) і варіабельного (V). Домени зв'язані невеличкими гнучкими ділянками поліпептидного ланцюга (шарнірними).

У кожному ланцюгу в межах варіабельного домену є три невеликих сегменти, амінокислотна послідовність яких особливо мінлива. Саме ці гіперваріабельні ділянки одного легкого і одного важкого ланцюга разом формують центр зв'язування антигену. Він має форму заглибини різних розмірів, поверхні якої утворені гіперваріабельними послідовностями амінокислот, що забезпечує величезну різноманітність антигенних (активних) центрів. У мономерних молекулах IgG, IgD і IgE є 2 активні центри з однаковою специфічністю (двовалентна молекула), а в олігомерних IgA і IgM – відповідно більше.

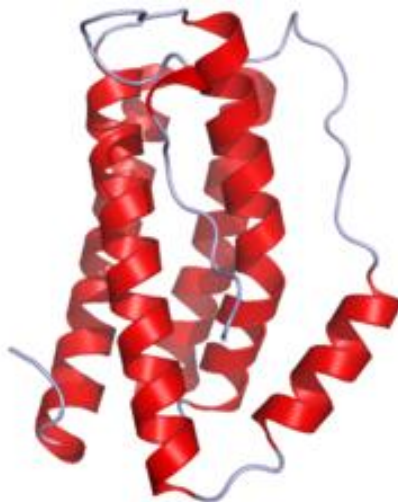
Реакція зв'язування антитілами антигенів характеризується високою специфічністю і відбувається аналогічно взаємодії субстрату з активним центром ферменту. Як сказано вище, антитіло зв'язується тільки з фрагментом антигену, антигенною детермінантою. Взаємодія здійснюється за рахунок водневих зв'язків, гідрофобних, електростатичних і вандерваальсових сил. Чим більша просторова відповідність (комплементарність) активного центру антитіла і антигенної детермінанти, тим міцніше зв'язування антитіла з антигеном. Молекула антитіла, що має високу спорідненість до певного антигену, може зв'язувати з меншим ступенем спорідненості інші антигени, близькі за структурою детермінанти (перехресна реактивність).

При гідролізі молекул імуноглобулінів протеолітичним ферментом папаїном утворюються 3 фрагменти: 2 однакових Fab-фрагменти з центрами зв'язування антигену і Fc-фрагмент. Останній включає константні домени важких ланцюгів, які відповідають за вторинні біологічні функції антитіл: зв'язування й активацію комплементу, зв'язування з Fc-рецепторами на поверхні макрофагів, поліморфноядерних лейкоцитів опасистих клітин, здатність проникати через плацентарний бар'єр. Оскільки Ig різних класів відрізняються константними ділянками важких ланцюгів, біологічні властивості їх різні. Першими під час імунної реакції на антиген утворюються IgM. Вони особливо ефективні в процесі активації комплементу, аглютинації та фагоцитозі клітин. Тільки IgG здатні проникати через плацентарний бар'єр, що забезпечує новонароджену дитину захистом від інфекцій протягом перших декількох тижнів життя. IgG відіграють дуже важливу роль у протибактерійному імунітеті: нейтралізують розчинні бактеріальні токсини, зв'язуються з бактеріями і полегшують поглинання їх фагоцитами. При вторинній імунній відповіді синтезуються в основному IgG, IgA є головним секреторним антитілом і забезпечує захист слизових оболонок кишечника, дихальних шляхів від інфекцій. Майже весь IgD міститься на поверхні лімфоцитів і бере участь у їх дозріванні та активації. Антитіла класу IgE зв'язуються рецепторами опасистих клітин і базофілів, що відіграє дуже важливу роль у швидкому розвитку алергічних реакцій.

### **3. Лімфокіни**

У процесах активації, проліферації і диференціації клітин імунної системи беруть участь ряд факторів росту білкової природи – лімфокіни, цитокіни. Більшість із них утворюються Т-лімфоцитами. Рісткові фактори стимулюють проліферацію і клональну експансію лімфоцитів, а фактори диференціації забезпечують їх дозрівання у клітини з ефекторними функціями. Ряд факторів стимулюють утворення в кістковому мозку клітин-попередників гранулярних лейкоцитів, моноцитів і опасистих клітин. Ще ряд

факторів впливають на макрофаги. Надзвичайно широкий спектр ефектів проявляє імунний  $\gamma$ -інтерферон, який продукується активованими Т-лімфоцитами, інтерлейкін-1 – продукт макрофагів і фібробластів. На клітинах-мішенях є рецептори до відповідних лімфокінів.



Структура молекули інтерлейкіна-6

Структура і властивості факторів і їх рецепторів, молекулярні механізми передачі сигналів всередину клітин і реалізації клітинної відповіді інтенсивно вивчаються. Деякі дані про лімфокіни та інші фактори регуляції функцій клітин, що мають відношення до імунітету, наводяться у таблиці.

Лімфокіни	Основне клітинне джерело	Біологічні ефекти
1	2	3
Інтерлейкін-1 (ІЛ1)	Макрофаги, фібробласти	Стимулює проліферацію лімфоцитів (синергічно з інтерлейкіном-2). Сприяє дозріванню попередників В-лімфоцитів. Індукує диференціацію В-лімфоцитів у плазматичні клітини. Підвищує секрецію антитіл плазмоцитами й інтерлейкіну-2 Т-хелперами
Інтерлейкін-2 (ІЛ2)	Т-хелпери	Фактор росту Т-лімфоцитів, стимулює проліферацію всіх типів Т-клітин

Інтерлейкін-3 (ІЛ3)	Т-хелпери	Неспецифічний гемопоетин: стимулює розмноження і диференціацію в кістковому мозку клітин-попередників моноцитів, гранулярних лейкоцитів, опасистих клітин, мегакаріоцитів. Посилює проліферацію макрофагів і опасистих клітин
---------------------	-----------	---

1	2	3
Інтерлейкін-4 (ІЛ4)	Т-хелпери	Викликає переключення синтезу імуноглобулінів з ІgМ на ІgG, забезпечує високу швидкість синтезу і секреції ІgG. Індукує експресію на мембрані В-лімфоцитів білків ГКГС класу 2
Інтерлейкін-5 (ІЛ5)	Т-хелпери	Індукує утворення з високим рівнем секреції. Підвищує проліферацію і диференціацію еозинофілів
Інтерлейкін-6 (ІЛ6)	Макрофаги, моноцити, Т-лімфоцити	Багатофункціональний неспецифічний медіатор стимулює проліферацію Т- і В-лімфоцитів, гемопоетичних клітин-попередників (разом з ІЛ3).
Інтерлейкіни 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	Імунокомпонентні клітини	Різноманітні
γ-інтерферон	Т-лімфоцити	Індукує диференціацію міелоїдних клітин кісткового мозку у моноцити, макрофаги і гранулярні лейкоцити. Активує макрофаги, підвищує в них кількість Рс-рецепторів для імуноглобулінів. Стимулює експресію білків ГКГС класу 2 на клітинах ендотелію і різноманітних епітеліальних клітинах. Підвищує неспецифічну цитотоксичність природних клітин-кіллерів. Надає сусіднім клітинам резистентності до вірусної інфекції
Фактори супресії	Т-супресори	Пригнічують функції Т-хелперів
Лімфотоксин	Т-лімфоцити	Проявляє цитотоксичну дію на різні типи клітин, зокрема клітини пухлин

Фактор некрозу пухлин ( $\alpha$ )	Макрофаги, моноцити	Стимулює проліферацію клітин ендотелію, фібробластів, лімфоцитів; бере участь у запаленні; руйнує пухлинні клітини
Колонієстимулюючі фактори (КСФ):		
Ш-КСФ	Т-хелпери, макрофаги, фібробласти	Активує ріст і дозрівання гранулярних лейкоцитів і моноцитів, регулює активність зрілих нейтрофілів, еозинофілів, макрофагів
М-КСФ	Макрофаги, фібробласти	Активує ріст і дозрівання моноцитів і макрофагів

1	2	3
Г-КСФ	Макрофаги, фібробласти	Активує ріст і дозрівання гранулярних лейкоцитів
Фактори, які діють на макрофаги:		
ФХ	Т-лімфоцити	Фактор хемотаксису макрофагів
МАФ	Т-лімфоцити	Фактор активації макрофагів
МІФ	Т-лімфоцити	Фактор, який гальмує міграцію макрофагів

#### 4. Система комплементу

Система комплементу – це складний комплекс близько 20 білків сироватки крові, які синтезуються макрофагами або гепатоцитами і разом з антитілами та спеціалізованими клітинами беруть участь у захисті організму від інфекцій. Компоненти системи функціонують подібно до білкових факторів у процесах згортання крові та фібринолізу, утворюючи каскад ферментативних реакцій. За рахунок каскадного механізму на первинний сигнал розвивається багаторазово посилена відповідь. Активація системи комплементу відбувається або імунним комплексом антиген-антитіло (класичний шлях активації), або під дією патогенних мікроорганізмів чи їх ендотоксинів без участі антитіл (альтернативний шлях). Останній особливо важливий, коли в організмі ще не синтезувались антитіла. Обидва шляхи спричиняють утворення мембраноатакуючого комплексу, який зумовлює осмотичний лізис клітини-мішені. У процесі активації деякі білки системи

розщеплюються на активний фермент, що діє на наступний компонент системи, і невеликий пептид. Ці низькомолекулярні пептиди також є біологічно активними речовинами і виконують ряд важливих функцій.

Більшість білків системи комплементу позначаються буквами C з цифрою, яка, проте, не відповідає порядку їх у послідовності реакцій. При розщепленні компонента на 2 продукти більший отримує символ "в", а менший – символ "а". Під час активації комплементу класичним шляхом перший компонент білок – C1q зв'язує антитіло (IgM чи IgG), приєднане до антигену на поверхні бактерії. Молекула C1q має 6 центрів зв'язування антитіл, і конфігурація її схожа на пучок з 6 тюльпанів. C1q не проявляє ферментативної активності, але він асоціюється з білками C1r і C1s, які після активації проявляють протеолітичну активність і каталізують перетворення наступних компонентів системи. Утворюється комплекс (C4b2b) з активністю ферменту C3-конвертази. А при активації комплементу альтернативним шляхом також утворюється комплекс із C3-конвертазною активністю (C3bBb). Компонент C3 міститься в сироватці крові в найбільшій концентрації (1,2 г/л). Під дією C3-конвертаз він розщеплюється на C3b, який ковалентно зв'язується з мембраною, і низькомолекулярний пептид C3a. Утворений C3b сприяє подальшій активації C3. Ряд білкових факторів контролюють рівень C3-конвертаз і, таким чином, обмежують активність системи. Далі послідовність реакцій однакова для обох шляхів активації комплементу. На мембрані мікроорганізму відбувається самозбирання з білків C5b, C6, C7, C8, C9 активного комплексу, який пронизує подвійний ліпідний шар мембрани. Через трансмембранний канал усередину клітини потрапляють іони  $\text{Na}^+$  і вода, що зумовлює осмотичний лізис її.

Низькомолекулярні пептиди C3a і C5a, які вивільняються під час процесу активації комплементу, викликають дегрануляцію опасистих клітин, базофілів та еозинофілів, скорочують гладку мускулатуру, збільшують проникність стінок капілярів. C5a діє як хемотаксичний агент для поліморфноядерних лейкоцитів і моноцитів. Ці здатні до фагоцитозу клітини

містять рецептори до компонента C3b, зв'язаного з мембраною мікроорганізмів. Взаємодія рецепторів з C3b забезпечує адсорбцію бактерій на фагоцитах. Зв'язування антитіл з антигенами поверхні бактерій полегшує поглинання бактерій фагоцитами.

Рецепторними молекулами для антигенів на поверхні В-лімфоцитів є мембранні форми антитіл. Різниця між сироватковими і мембранними імуноглобулінами полягає тільки в наявності на мембранному варіанті в С-кінці важких ланцюгів невеликого фрагмента із залишків гідрофобних амінокислот, який пронизує подвійний ліпідний шар клітинної мембрани і, таким чином, міцно утримує білок на поверхні клітини. На поверхні одного В-лімфоцита рівномірно розміщено близько  $10^5$  молекул імуноглобулінів, ідентичних за антигенною специфічністю.

В організмі людини існує близько  $10^7$  клонів В-лімфоцитів. Кожний клон складають нащадки однієї клітини, специфічні до одної антигенної детермінанти. При потрапленні в організм антигену відбирається клон В-лімфоцитів, мембранні імуноглобуліни якого з високою спорідненістю зв'язують даний антиген. Практично для будь-якого природного чи синтетичного антигену в організмі знайдеться хоч би один клон клітин, здатний його зв'язувати. Та фактично на кожну антигенну детермінанту реагує не один клон лімфоцитів, а декілька чи навіть декілька десятків клонів, які відрізняються будовою активного центру антитіл і ступенем спорідненості до антигену. Така реакція імунної системи забезпечує надійність виконання захисної функції.

Приєднання антигену до специфічного імуноглобуліну-рецептора В-лімфоцитів служить сигналом для активації клітин цього клону, проліферації їх і диференціації в плазматичні клітини, які продукують антитіла, ідентичні антитілу – рецептору. Але ці процеси вимагають ще додаткових сигналів від Т-лімфоцитів і макрофагів. Частина активованих В-лімфоцитів клону не диференціюються в плазмоцити, а залишаються як клітини пам'яті і забезпечують швидкий розвиток імунної реакції при повторному надходженні

антигену в організм. Таким чином, антитіла утворюються до появи антигену, і він сам запускає селекцію клону клітин, який продукує спрямовані на нього антитіла. Завдяки цьому механізму клональної селекції в організмі накопичуються антитіла у достатньо високій концентрації, щоб ефективно боротися з інфекцією.

Білки-рецептори Т-лімфоцитів відрізняються від мембранних імуноглобулінів В-лімфоцитів, але мають подібну структуру. Вони складаються із двох поліпептидних ланцюгів – альфа і бета. Кожний ланцюг має константний і варіабельний домени. Близько до С-кінця ланцюгів є ділянка, багата гідрофобними амінокислотами, яка пронизує клітинну мембрану. Ланцюги з'єднані дисульфідним зв'язком. Крім того, рецептор нековалентно, але міцно зв'язаний з білком ТЗ, який має декілька поліпептидних ланцюгів і бере участь у передачі сигналу від рецептора всередину клітини.

На відміну від імуноглобулінів-рецепторів В-лімфоцитів рецептори Т-клітин не взаємодіють з вільним антигеном, а розпізнають розміщену на поверхні клітин комбінацію антигену з білками головного комплексу гістосумісності (ГКГС). Для закріплення в мембрані клітини молекула нативного білка-антигену надходить шляхом ендоцитозу в клітину, де зазнає часткової денатурації й протеолізу, а потім переміщується на поверхню й асоціюється з молекулами ГКГС. Такими клітинами, які презентують антиген Т-лімфоцитам, можуть бути макрофаги, В-лімфоцити, дендрити і клітини лімфоїдних органів, клітини Лангерганса шкіри. Зв'язування рецептора Т-лімфоцита з комплексом антигену і білків ГКГС на поверхні клітин, які презентують антиген, служить першим сигналом для активації лімфоцита. Другий сигнал – це дія білка інтерлейкіну-1, який виробляється макрофагами. У результаті проліферації і диференціації із відповідних попередників утворюються зрілі Т-хелпери, цитотоксичні Т-ефектори, Т-супресори і Т-клітини пам'яті.

Зв'язування антигенів із рецепторами лімфоцитів запускає перехід клітини із стану спокою в мітотичний цикл. Для цього сигнал із мембрани клітини передається в цитоплазму і ядро. Внутрьоклітинними посередниками в передачі сигналу служать інозитолтрифосфат і діацилгліцерол, іони  $Ca^{2+}$ , цГМФ. Але механізми реалізації сигналу, набір протеїнкіназ і їх субстратів, зміни в експресії генів вивчені ще недостатньо.

### **Молекули головного комплексу гістосумісності**

При дослідженні процесу відторгнення трансплантата під час пересадки органів і тканин була відкрита група генів, яку назвали головним комплексом гістосумісності (ГКГС). Гени ГКГС розміщені в 6-й хромосомі й існують у багатьох алельних варіантах. Число комбінацій різних алелів ГКГС досягає декількох мільйонів. Величезний поліморфізм генів ГКГС зумовлює такий же ступінь поліморфізму білкових продуктів ГКГС. Білки ГКГС розташовані на поверхні багатьох клітин. Оскільки з практичною метою (зокрема при трансплантації органів) їх визначають у лейкоцитах, комплекс називають також системою HLA (лейкоцитарні антигени людини). Пересадка органів і клітин між: особами, які не пов'язані близькими родинними зв'язками, частіше всього закінчується відторгненням трансплантата. Оскільки різні люди розрізняються за системою HLA, у реципієнта розвивається імунна відповідь на антигени донора. Підбір донора і реципієнта за антигенними властивостями білків ГКГС має важливе значення для успішного проведення трансплантації.

Відомі два класи білків ГКГС. Білки класу I побудовані із двох поліпептидних ланцюгів – великого і малого, а також містять приєднані ковалентними зв'язками олігосахариди. Великий ланцюг складається із трьох доменів, орієнтованих у міжклітинний простір, а С-кінець ланцюга закріплений у мембрані. Малий ланцюг – це білок бета-2-мікроглобулін, що має близько 100 амінокислотних залишків і укладається в окремий домен. Бета-2-мікроглобулін у дуже малій кількості міститься в сироватці крові, а також у сечі. Великий і малий ланцюги об'єднуються нековалентними зв'язками. Білки ГКГС класу I знайдені на мембрані всіх клітин, що містять

ядра. На кожній клітині є 2-3 варіанти білків, які розрізняються між собою 10-20% амінокислотних залишків. Білки класу I унікальні для кожної людини і служать маркерами імунологічної індивідуальності організму (білки індивідуальності).

Білки ГКГС класу II також складаються із двох поліпептидних ланцюгів ( $\alpha$  і  $\beta$ ), приблизно однакових за розміром, що мають по два позамембранні домени і C-кінцем закріплені в мембрані. Білки класу II менш поширені і знаходяться на поверхні деяких клітин, що мають відношення до імунітету – В-лімфоцитів, макрофагів, епітеліальних клітин тимуса і шкіри. У комплексі HLA розміщені ще й гени, які кодують декілька компонентів комплексу (їх позначають як гени і продукти класу III).

Відкриті як трансплантаційні, білки ГКГС виконують в організмі ряд важливих функцій. Вони беруть участь як поверхневі клітинні маркери у взаємодії між різноманітними лімфоїдними клітинами, а також між Т-лімфоцитами та клітинами, що презентують антиген. Так, рецептори Т-лімфоцитів розпізнають антиген, розміщений на поверхні клітини разом із білками ГКГС. Під час взаємодії утворюється тримолекулярний комплекс із антигену, глікопротеїну ГКГС і Т-клітинного рецептора. Детермінанти антигенів, які розпізнаються рецепторами Т-лімфоцитів, відрізняються від детермінант, які взаємодіють з рецепторами В-лімфоцитів і викликають утворення антитіл. Залежно від асоціації антигену з білками ГКГС класу I чи II, у взаємодію вступають різні популяції Т-лімфоцитів. Рецептори Т-хелперів реагують на антиген поряд з білками класу II, а рецептори цитотоксичних Т-ефекторів (Т-кіллерів) – на комплекс антигену з білками класу I. Таким чином, білки ГКГС ніби спрямовують цитотоксичний Т-ефектор на його "мішень", наприклад на клітину, заражену вірусом. Утворюється міцний контакт Т-ефектора і клітини-мішені, після чого лімфоцит викидає на мембрану клітини-мішені гранулу з білком перфорином. Останній утворює пори в клітинній мембрані клітини-мішені, через які всередину надходять вода й електроліти, що ініціює лізис клітини.

T-хелпери, активовані внаслідок взаємодії з комплексом антигену з білками ГКГС, виробляють різноманітні білкові фактори-лімфокіни – комунікаційні молекули імунної системи.

## **5. Набутий імунітет**

Як зазначено вище, головне для набутого імунітету – спроможність лімфоцитів виділяти антитіла, що є специфічними для кожного з мільйонів сторонніх агентів, які потрапляють в організм. Антигени, що стимулюють утворення антитіл, є зазвичай білками і поліпептидами, однак антитіла можуть утворюватись і до нуклеїнових кислот та ліпідів, якщо вони належать до складу нуклеопротеїнів та ліпопротеїнів. Антитіла можуть утворюватись і до дрібних молекул, якщо вони зв'язані з білками. Набутий імунітет складається з двох ланок: гуморального та клітинного імунітету. Гуморальний імунітет забезпечують імуноглобулінові антитіла, що циркулюють у крові і належать до  $\gamma$ -глобулінової фракції білків плазми. Імуноглобуліни, що їх утворюють В-лімфоцити, активують систему комплементу, атакують та нейтралізують антигени. Гуморальний імунітет є головним захисним механізмом у разі бактерійних інфекцій. У випадку клітинного імунітету задіяні Т-лімфоцити. Ці процеси простежуються під час реакцій гіперчутливості сповільненого типу та відторгнення трансплантата чужої тканини. Цитотоксичні Т-лімфоцити атакують та знищують клітини, що містять антиген, який їх активує. Знищення клітин відбувається шляхом уведення перфоринів та стимулюванням апоптозу. Клітинний імунітет є головним захисним механізмом у випадку інфекцій, спричинених вірусами, грибками та деякими бактеріями, наприклад, бацилою туберкульозу. Він також є важливим протипухлинним механізмом.

### **Розвиток імунної системи**

Під час фетального періоду попередники лімфоцитів виходять з кісткового мозку. Ті, що заселяють тимус, перетворюються під впливом мікрооточення тканин органа у лімфоцити, що відповідають за клітинний імунітет (Т-лімфоцити). У птахів попередники, що заселяють бурсу

Фабріціуса, лімфоїдну структуру поблизу клоаки, перетворюються на лімфоцити, що відповідають за гуморальний імунітет (В-лімфоцити). У ссавців немає бурси і трансформація у В-лімфоцити відбувається в еквівалентах бурси, наприклад у печінці плоду, а після народження – у кістковому мозку. Після перебування у печінці чи тимусі значна частина Т- та В-лімфоцитів мігрують у лімфовузли і кістковий мозок. Процеси дозрівання попередників лімфоцитів у тимусі та еквівалентах бурси і міграція у лімфовузли й інші тканини відбуваються у плоду та новонародженого; однак повільне утворення нових лімфоцитів зі стовбурової клітини – і в дорослому організмі.

Морфологічно Т- та В-лімфоцити розрізнити неможливо, ідентифікувати їх можна за допомогою маркерів, розміщених на клітинній мембрані. Представники В-клітин диференціюються у плазматичні клітини та В-клітини пам'яті. Розрізняють три головні види Т-лімфоцитів: цитотоксичні Т-клітини, Т-клітини хелпери та Т-клітини пам'яті. Крім того, є два підтипи клітин хелперів: Т-хелпери першого типу (Тн1) виділяють ІЛ-2 та у-інтерферон і пов'язані переважно з клітинним імунітетом; Т-хелпери другого типу (Тн2) виділяють ІЛ-4 та ІЛ-5 і взаємодіють переважно з В-клітинами щодо гуморального імунітету. Цитотоксичні Т-клітини руйнують трансплантовані й інші сторонні клітини, причому їхній розвиток регульований Т-хелперами. Більшість цитотоксичних Т-клітин мають на поверхні глікопротеїни СО8, а Т-клітини хелпери – глікопротеїн СВ4. Ці білки щільно зв'язані з рецепторами Т-клітин і можуть діяти як корецептори. Природні цитотоксичні клітини є також цитотоксичними лімфоцитами, хоча вони не належать до Т-клітин. Отже, є три головні види цитотоксичних лімфоцитів в організмі: осрТ-клітини,  $\gamma$ 5Т-клітини та МК-клітини.

Після контакту з антигеном невелика кількість активованих В- та Т-клітин залишаються у вигляді В- та Т-клітин пам'яті. Ці клітини швидко перетворюються в ефекторні клітини під час повторного контакту з тим самим антигеном. Здатність розвивати прискорену імунну відповідь у разі

повторного контакту з антигеном є ще однією важливою рисою набутого імунітету. Вона може зберігатися протягом тривалого часу в лімфоїдній тканині, де розвивалась імунна реакція, і ще довше у плазмі крові. В деяких випадках (наприклад, імунітет проти кору) вона може тривати все життя. Багато суперечок зумовлює питання збереження імунної пам'яті. За однією теорією, цей процес спричинений повторними контактами з антигеном, які призводять до слабкої імунної відповіді без розвитку інфекційного захворювання. Згідно з іншою теорією, клітини пам'яті мають дуже тривалий період життя завдяки періодичному впливу фактора росту нервів, що запобігає їхньому апоптозу. Фактор росту нервів виявляється у багатьох тканинах додатково до елементів нервової системи.

### **Розпізнавання антигену**

Кількість різних антигенів, що їх розпізнають лімфоцити в організмі, дуже велика. Здатність до розпізнавання є природженою і розвивається без контакту з антигеном. Стовбурові клітини диференціюються у мільйони різних Т- та В-лімфоцитів, кожний з яких може реагувати на певний антиген. У разі першого потрапляння антигену в організм він може зв'язуватись безпосередньо з відповідними рецепторами на В-клітинах. Однак повна гуморальна відповідь потребує взаємодії В-клітин з Т-клітинами хелперами. У випадку Т-клітин антиген захоплює антигенопрезентувальна клітина та частково руйнує. Його пептидний фрагмент представлений відповідним рецепторам на Т-клітинах. У кожному випадку стимулюється клітинний поділ з наступним утворенням клонів клітин, що реагують на цей антиген (клональна селекція).

### **Презентування антигену**

До антигенопрезентувальних клітин (АПК) належать спеціалізовані клітини, які називають дендритними клітинами, лімфовузлів та селезінки і дендритні клітини Лангерганса у шкірі. Макрофаги та самі В-клітини теж можуть виконувати функцію антигенопрезентувальних клітин. У антигенопрезентувальних клітинах поліпептидні продукти розпаду антигену

приєднуються до білкових продуктів генів основного комплексу гістосумісності і локалізовані на поверхні клітин. Сполуки, що кодовані генами МНС, називають лейкоцитарними антигенами людини. Гени МНС, що розміщені на короткому відрізку 6-ї хромосоми людини, кодують глікопротеїни; їх розділяють на два класи залежно від поширення та функції. Антигени першого класу містять 45 кДа важкий ланцюг, приєднаний нековалентним зв'язком до Р2-мікроглобуліну, кодованого генами, що розміщені поза МНС. Вони виявляються у всіх клітинах, що містять ядро. Антигени другого класу є гетеродимерами, що складаються з  $\alpha$ -ланцюгів масою 29-34 кДа. Вони виявляються в антигенопрезентувальних клітинах, зокрема В-клітинах, та в активованих Т-клітинах.

Білки першого класу МНС (МНС-I білки) переважно приєднуються до пептидних фрагментів, утворених з білків, що синтезуються у клітині. Пептиди, до яких нема толерантності, тобто ті, що походять з вірусів або є наслідком мутацій, розпізнавані Т-клітинами. Розпад цих білків відбувається у протеасомах – комплексі протеолітичних ензимів, кодованих генами групи МНС, після чого пептидні фрагменти зв'язуються з білками МНС в ендоплазматичній сітці. Білки другого класу МНС (МНС-II білки) переважно зв'язуються з пептидними продуктами позаклітинних антигенів, таких як бактерії, що проникають у клітину шляхом ендоцитозу, і руйнуються у пізніх ендосомах.

### **Рецептори Т-клітин**

Комплекси МНС білки-пептиди на поверхні антигенопрезентувальних клітин приєднуються до відповідних Т-клітин. Отже, рецептори Т-клітин повинні розпізнавати дуже широкий спектр комплексів. Більшість рецепторів на Т-клітинах, що циркулюють, складаються з двох поліпептидних одиниць, які позначають  $\alpha$  і  $\beta$ . Вони утворюють гетеродимери, що розпізнають МНС білки та фрагменти антигенів, з якими вони зв'язуються. Ці клітини називають  $\alpha$  і  $\beta$  Т-клітини. Близько 10% Т-клітин, що циркулюють у крові, містять рецептори, у складі яких є два інші поліпептиди, які позначають  $\gamma$  та  $\delta$ . Ці

клітини називають  $\gamma$  і  $\delta$  Т-клітини. Їх виявляють у значній кількості в слизовій шлунково-кишкового тракту. Відомо, що ці клітини є проміжною ланкою між системами вродженого та набутого імунітету завдяки цитокінам, що їх вони виділяють. Білки CD8 виявляють на поверхні цитотоксичних Т-клітин, що приєднуються до МНС-I білків, а CD4 простежуються на поверхні Т-клітин хелперів, що зв'язуються з МНС-II білками. Білки CD8 та CD4 посилюють приєднання МНС білків до рецепторів Т-клітин, а також прискорюють розвиток лімфоцитів, однак механізми цих впливів невідомі. Активовані CD8 цитотоксичні Т-клітини знищують клітини-мішені безпосередньо, тоді як активовані CD4 Т-клітини хелпери виділяють цитокіни для активування інших лімфоцитів.

Рецептори клітин оточені адгезивними молекулами і білками, що приєднуються до комплементарних білків у антигенопрезентувальних клітинах під час тимчасового контакту між двома клітинами з утворенням "імунологічного синапсу", що спричинює активування Т-клітини. Загалом сьогодні вважають, що для активування клітини необхідно два сигнали. Перший з них зумовлений приєднанням фрагментованого антигену до рецептора Т-клітини, другий є наслідком приєднання навколишніх білків "синапсу". Якщо перший сигнал надійшов, а другий – ні, то Т-клітина інактивується і не може реагувати.

### **В-клітини**

В-клітини можуть безпосередньо зв'язуватись з антигеном, однак для розвитку повного активування та утворення антитіл вони повинні взаємодіяти з Т-клітинами хелперами. Переважно задіяний підтип Тн2; Т-клітини хелпери диференціюються у Тн2 під впливом ІЛ-4. З іншого боку, ІЛ-12 зумовлює диференціювання у напрямі Тн1; ІЛ-2 спричинює проліферацію активованих Т-клітин. Активовані В-клітини проліферують та перетворюються на В-клітини пам'яті і плазматичні клітини. Плазматичні клітини виділяють велику кількість антитіл у кров. Антитіла циркулюють у складі глобулінової фракції плазми і, подібно до антитіл будь-якої локалізації, їх називають

імуноглобулінами. Очевидно, що імуноглобуліни є секретованою формою антигенозв'язувальних рецепторів на поверхні мембрани В-клітин.

### **Моноклональні антитіла**

Велику кількість імуноглобулінів може синтезувати одна плазматична клітина; якщо її з'єднати з пухлинною клітиною – утвориться "фабрика" антитіл. На практиці тварин імунізують певним антигеном або препаратом клітин. Після їхнього розтину із селезінок виділяють антитілопродукувальні клітини, які потім з'єднують з мієломними клітинами. Міелома – це пухлина з В-лімфоцитів, клітини якої легко зливаються з плазматичними клітинами, формуючи антитілоутворювальні гібридами, які добре ростуть та відтворюються. Клітини, що злилися, виділяють стандартними методами, і кожна з них дає початок клону клітин, що походить з єдиної клітини.

## **6. Генетичні основи різноманітності імунної системи**

Генетичні механізми утворення надзвичайно великої кількості різних конфігурацій імуноглобулінів у депонованих лімфоцитах організму є цікавою біологічною проблемою. Частково різноманітність пояснюють наявністю двох видів легких ланцюгів та восьми видів важких. Як зазначено вище, у кожному ланцюгу є ділянки значної варіабельності (гіперваріабельні ділянки). Варіабельні зони важких ланцюгів складаються з V-, B- та I-сегментів. У родині генів, що кодують ці ділянки, є декілька сотень різних кодувальних місць для V-сегмента, близько 20 для B-сегмента та 4 для I-сегмента. У разі дозрівання В-клітини одне V-, одне B- і одне I-кодувальні місця випадково вибираються та рекомбінують з утворенням гена, що відповідає за певну варіабельну ділянку. У легких ланцюгах простежується подібна варіабельна рекомбінація кодувальних місць, що відповідають за два варіабельні сегменти. Крім того, варіабельність 7-сегментів пов'язана з тим, що сегменти гена зв'язуються по-різному і загалом непередбачено (різноманітність, пов'язана з місцем зв'язку), а інколи простежується додавання нуклеотидів (різноманітність, пов'язана із вставкою у зв'язок). Було підраховано, що ці

механізми забезпечують утворення 108-1010 різних молекул імуноглобулінів. Додаткова варіабельність досягається завдяки соматичним мутаціям.

Подібна реорганізація генів та механізми зв'язування забезпечують різноманітність рецепторів Т-клітин. У людей  $\alpha$ -субодиниця має Y-ділянку, кодовану одним з 50 різних генів, та I-ділянку, теж кодовану одним з інших 50 різних генів. У  $\beta$ -субодиницях простежується Y-ділянка, кодована одним з 50 генів, B-ділянка, кодована одним з двох генів, та J-ділянка, кодована одним з трьох генів. Ці варіабельні ділянки дають змогу утворити 1015 різних рецепторів Т-клітин.

### **Розпізнавання власних структур**

Завжди було цікавим питання, чому Т- та В-клітини не утворюють антитіл та не руйнують клітини й органи власного організму. Згідно з сучасними поглядами власні антигени з'являються разом зі сторонніми, однак потім елімінуються у тимусі на ранніх етапах розвитку (клепальна делеція). З тих саме причин не відбуваються реакції відторгнення плоду як стороннього тіла організмом матері.

### **Генетичні основи різноманітності антитіл**

В організмі людини синтезуються мільйони різних видів антитіл. Очевидно, що різниця в структурі центрів зв'язування антигенів, зумовлена головним чином відмінностями в амінокислотних послідовностях варіабельних ділянок поліпептидних ланцюгів, які беруть участь у побудові центрів. Раніше вважали, що для кожного поліпептидного ланцюга всіх можливих антитіл існує окремий ген і повний набір генів передається з покоління в покоління. Але в геномі людини просто немає стільки ДНК, щоб кодувати десятки мільйонів різних антитіл на додачу до багатьох тисяч білків, які виконують інші функції в організмі. Вважають, що геном людини включає 50-100 тисяч різних генів.

Встановлено, що гени антитіл мають фрагментарну організацію, і величезна різноманітність антитіл в організмі забезпечується перетасуванням невеликого набору генних фрагментів. Ген для варіабельної ділянки легких

ланцюгів включає фрагменти (їх називають сегментами) V і J, а ген варіабельної ділянки важких ланцюгів – сегменти V, J і D. Ці сегменти існують у численних копіях. У геномі є декілька сотень V-сегментів і 4 J-сегменти для варіабельної ділянки легких к-ланцюгів, декілька сотень V-сегментів, 20 D-сегментів і 4 J-сегменти для варіабельної області важких ланцюгів. Сегменти розміщені в різних місцях геному, але можуть переміщуватись і збиратись з утворенням різноманітних комбінацій. У процесі диференціації В-лімфоцитів утворюється клон з якоюсь певною комбінацією сегментів у повному гені. Об'єднання сегментів має випадковий характер, тому число варіантів дорівнює добутку кількостей сегментів у геномі ( $3 \times 10^4$  для важких ланцюгів і 800 для легких ланцюгів).

Збір функціональних генів імуноглобулінів відбувається в два етапи. Спочатку V і J-сегменти легких ланцюгів чи V-, D- і J-сегменти важких ланцюгів об'єднуються за рахунок переміщень на рівні ДНК у повний ген V-домену, який зближується з одним із генів константних доменів. У результаті отримуємо повний ген легкого чи важкого ланцюга. Місця з'єднань сегментів у повний ген можуть зміщуватись на декілька нуклеотидів, що підвищує різноманітність амінокислотних послідовностей у ланцюгах. На другому етапі по всій довжині гена відбувається транскрипція. З утвореної РНК у процесі сплайсингу видаляються інтрони, а після цього в цитоплазмі на мРНК синтезується поліпептидний ланцюг. Легкі і важкі ланцюги, об'єднуючись у різних комбінаціях, утворюють антитіла. Таким чином, генерація різноманітності антитіл забезпечується рекомбінацією сотень сегментів V-генів, неточностями з'єднання сегментів у повний ген, випадковістю асоціації різних важких і легких ланцюгів у функціонально активні молекули антитіл.

Крім того, різноманітність антитіл зростає за рахунок соматичних мутацій різних типів у генах імуноглобулінів під час диференціації В-лімфоцитів у плазматичні клітини. Встановлено, що мутації у гіперваріабельних ділянках V-доменів з'являються на декілька порядків частіше, ніж середній темп мутацій в інших еукаріотичних генах. Механізми,

які зумовлюють велику частоту соматичних мутацій у V-генах імуноглобулінів, поки що не розкриті. Таким чином, вклад у генерацію різноманітності антитіл роблять два механізми – рекомбінаційний і мутаційний. Соматичні мутації можуть також підвищувати спорідненість антитіл до антигенів, але можуть і знижувати її або зумовлювати повну втрату здатності антитіл взаємодіяти з антигеном.

Аналогічно до генів імуноглобулінів організовані гени поліпептидних ланцюгів рецепторів T-лімфоцитів. Число клонів T-лімфоцитів із різною специфічністю складає  $8 \times 10^6$ .

## **7. Автоімунні реакції**

Іноді процеси елімінації антитіл проти власних антигенів не спрацьовують, унаслідок чого розвиваються різноманітні автоімунні захворювання, їх поділяють на опосередковані T- або B-клітинами, а також на органоспецифічні та системні. До таких захворювань належать цукровий діабет першого типу (антитіла до B-клітин острівців підшлункової залози), міастенія (антитіла до нікотинових холінергічних рецепторів) та розсіяний склероз (антитіла до основного білка мієліну і деяких інших компонентів мієліну).

У деяких випадках антитіла спрямовані проти рецепторів, здатні їх активувати, наприклад, антитіла до T8H-рецепторів підвищують активність щитоподібної залози і зумовлюють базедову хворобу.

Частина автоімунних реакцій пов'язана з утворенням антитіл до мікроорганізмів, які перехресно реагують з нормальними складовими організму (молекулярна мімікрія). Інші ж розвиваються завдяки "ефекту свідка", за якого T-клітини, що перебувають поблизу вогнища запалення, сенсibilізують. Це призводить до їхнього активування, якого в інших умовах не повинно бути. Однак щодо патогенезу автоімунних захворювань ще багато нез'ясовано.

## **Трансплантація тканин**

Система Т-лімфоцитів відповідає за відторгнення трансплантованої тканини. Якщо тканини, такі як шкіру або нирки, пересаджують від донора до реципієнта таких тканин, то трансплантат "приживається" і діє деякий час, однак потім відбувається некроз та "відторгнення", оскільки в організмі реципієнта розвиваються імунні реакції проти трансплантованої тканини. Зазвичай це простежується навіть тоді, коли донор та реципієнт є близькими родичами. Реакція відторгнення не відбувається тільки у випадку ідентичних близнюків.

Розроблено багато різних методів пригнічення реакції відторгнення трансплантованих органів у людей. Головна мета лікування – припинення відторгнень за умов запобігання розвитку інфекційних захворювань. Одним з методів є знищення Т-лімфоцитів шляхом ліквідації всіх швидко проліферувальних клітин такими ліками, як азатіоприн, антиметаболітами пурину, однак це робить хворих чутливими до інфекцій та раку. Інший метод – застосування глюкокортикоїдів, які пригнічують проліферацію цитотоксичних Т-клітин шляхом зменшеного виділення ІЛ-2 Т4-клітинами, проте це може бути ускладнене остеопорозом, психічними розладами та іншими ознаками синдрому Кушінга. Ще один метод – застосування циклоспорину або такроліму (РК-506). Активування рецепторів Т-клітин у нормі збільшує концентрацію внутрішньоклітинного кальцію, що діє через кальмодулін, активуючи кальцинеурин. Кальцинеурин дефосфорилує фактор транскрипції МР-АТ, який рухається до ядра та підвищує активність генів, що кодують ІЛ-2 та споріднені стимулювальні молекули. Однак ці сполуки пригнічують усі імунні реакції, опосередковані Т-клітинами, а циклоспорин спричинює ураження нирок та рак. Новим та перспективним напрямом лікування реакцій відторгнення є досягнення ареактивності Т-клітин із застосуванням ліків, які блокують другий сигнал костимуляції, потрібний для нормального активування. Клінічно ефективні препарати з такою дією можуть бути дуже важливими для хірургів, що займаються трансплантацією.

## **Інші клінічні кореляції**

З нагромадженням знань про імунну систему було описано понад 50 синдромів імунодефіциту, пов'язаних з порушеннями функції імунокомпетентних клітин. Такі зміни виявляються різними за важкістю станами – від помірного збільшення частоти інфекцій до важких, зазвичай смертельних випадків.

Злоякісна трансформація теж може відбутись на різних стадіях дозрівання лімфоцитів. Більша частина (якщо не всі) випадків хронічного лімфоїдного лейкозу пов'язані з неконтрольованою проліферацією В-лімфоцитів, хоча мієлома розвивається в разі пухлинної проліферації клонів зрілих плазматичних клітин. Деякі випадки гострого лімфоїдного лейкозу пов'язані з пухлинною трансформацією Т-клітин.

Синдром набутого імунодефіциту (СНІД), який сьогодні є однією з головних проблем людства, унікальний у тому, що ВІЛ (вірус імунодефіциту людини) – ретровірус, що спричинює захворювання – приєднується до СВ4 та зумовлює значне зменшення кількості СВ4 Т-клітин хелперів. Втрата лімфоцитів хелперів призводить, відповідно, до порушення проліферації СВ8 та В-клітин з втратою імунної функції та загибелі від інфекцій, зумовлених непатогенною флорою, або злоякісних пухлин.

## **Контрольні питання**

1. Охарактеризуйте механізми гуморального імунітету.
2. Що таке антитіло і які його імунні властивості?
3. У чому полягають функції лімфокінів? Як їх класифікують?
4. Як працює система комплементу?
5. Охарактеризуйте поняття гістосумісності. Чим воно визначається?
6. Опишіть механізми виникнення набутого імунітету.
7. Чим зумовлена різноманітність механізмів імунних реакцій? Як вони виникають?
8. Як організм розпізнає власні тканини?

9. Що таке автоімунні реакції?

10. Які фактори слід враховувати при трансплантації органів і тканин?

## **Лекція № 16. Біохімія органів і тканин людини.**

### **План:**

1. Біохімія м'язів.
2. Біохімія сполучної тканини.

### **1. Біохімія м'язів**

На м'язи припадає 40-45 % маси тіла. Вони вивчаються науковцями протягом кількох століть. З початку ХХ століття м'язи почали досліджувати як біохімічний комплекс. Але і зараз, в кінці ХХ століття, інтерес до них не зменшився. Крім біохіміків, м'язи вивчають біофізики, фізіологи, а також спеціалісти із спорту.

Морфологічно м'язи у хребетних тварин поділяють на поперечно-смугасті, або скелетні, та гладенькі. Поперечносмугасті м'язи скорочуються лише на 1/3 від вихідної величини, тоді як гладенькі м'язи, скорочуючись, можуть зменшувати свій поздовжній розмір навіть у декілька разів, наприклад, м'яз матки під час пологів. Відповідно гладенькі м'язи скорочуються повільніше – через декілька секунд, поперечносмугасті – через кілька мілісекунд. Під час скорочення скелетні м'язи можуть виконувати роботу, вкорочуючись при цьому на певну відстань. Таке скорочення називають ізотонічним. М'язи, які не можуть укорочуватись під час скорочення (не можуть виконувати фізичної роботи), розвивають тільки напруженість. Про такі м'язи говорять, що вони скорочуються за ізометричним принципом. Прикладом такого скорочення може бути зміна напруженості коротких міжхребцевих м'язів при піднятті вантажів. Для всіх видів скорочення м'язів характерним є виділення певної кількості теплової енергії, спричиненої структурними перебудовами в міоцитах. Функції і властивості м'язів зумовлені їх хімічною структурою.

В м'язах розрізняють 3 види білків: білки саркоплазми, білки міофібрил і білки строми.

У саркоплазмі м'язів містяться білки, що розчиняються у воді або сольових розчинах. Донедавна в цих білках розрізняли міогенну, альбумінову, глобулінову та міоглобінову фракції. Але ці фракції не однорідні. Так, міогенна фракція включає в себе ряд ферментів гліколізу. Неоднорідними є й інші білки саркоплазми. Зокрема тут виявлено білки-ферменти, що знаходяться в мітохондріях і відповідають за тканинне дихання. Міоальбумін саркоплазми за хімічними властивостями нагадує альбумін плазми крові. Міоглобін м'язів – типовий хромопротеїн, що, як і гемоглобін, з'єднується з киснем і забезпечує процес дихання м'язів. Червоний колір м'язів зумовлений великим вмістом у них міоглобіну. Міоглобін має в 5 разів більшу спорідненість із киснем, ніж гемоглобін. Це сприяє забезпеченню значного резерву кисню в м'язовій тканині при його нестачі.

#### **Білки м'язової тканини**

*Білки міофібрил.* До складу міофібрил входять такі білки: міозин (56-60 %), актин (20-25 %), тропоміозин (10-15 %) і тропоніновий комплекс (4-6 %).

*Білки строми* в поперечносмугастих м'язах представлені переважно колагеном, нейрокератином, еластином тощо. Ці білки входять до складу сполучнотканинних елементів стінок судин, нервів та сарколеми.

*Ліпіди.* У м'язах знаходяться нейтральні жири, стериди, фосфоліпіди. Нейтральні жири входять у простір між структурами м'язових волокон і відіграють роль резервного жиру. Їх вміст дуже непостійний.

Холестерин і фосфоліпіди є обов'язковими складовими компонентами всіх м'язів і входять до складу клітинних мембран. Вміст фосфоліпідів і холестерину в м'язах збільшується під час тренування.

#### **Екстрактивні речовини м'язів**

Скелетні м'язи містять ряд важливих екстрактивних речовин: нуклеотиди (АТФ, АДФ, АМФ, ТТФ, УТФ, ЦТФ, інозинмонофосфат), креатинфосфат, креатинін, карнозин, ансерин, карнітин тощо.

Серед них креатин та креатинфосфат мають пряме відношення до скорочення м'язів. В їх синтезі беруть участь 3 амінокислоти: аргінін, гліцин,

метіонін. Утворення їх починається в нирках, а завершується в печінці і м'язах. Карнозин і ансерин – це імідазольні дипептиди, які підвищують ефективність роботи іонних насосів м'язової тканини, сприяють збільшенню амплітуди м'язового скорочення, проявляють виражену антиоксидну дію.

З амінокислот у м'язах найбільше глютамінової кислоти та глютаміну.

Безазотні екстрактивні речовини м'язів представлені переважно вуглеводами та продуктами їх обміну. Найбільше в м'язах глікогену. У людини вміст глікогену в м'язах знаходиться в межах 0,4-0,8 %, але під впливом тренування він може збільшуватися до 1,5-3 %. Втоmlені м'язи містять незначну кількість глікогену.

Під час роботи глікоген м'язів розпадається на глюкозу, тріозофосфорні ефіри та інші проміжні продукти гліколізу, в тому числі молочну кислоту.

*Мінеральні речовини.* Загальний вміст мінеральних речовин в м'язах на сиру масу становить 1,0-1,5 %. Із катіонів у м'язах переважають  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , є також мідь, марганець, цинк; з аніонів – найбільше фосфатів та сульфатів. За рахунок іонів у м'язах підтримуються сталість рН і осмотична рівновага та здійснюється специфічний вплив на їх збудливість та скоротливість. Зниження концентрації солей у м'язах призводить до зменшення їх збудливості.

### **Будова філаментів і міофібрил**

Саркоплазма поперечносмугастих м'язових волокон містить поздовжньо орієнтовані міофібрили, побудовані з білкових філаментів (ниток) 2-х типів – товстих і тонких. Скорочення м'язових волокон здійснюється саме за рахунок ковзання товстих і тонких ниток назустріч одні одним. Їх довжина при цьому залишається незмінною. Хімічну енергію для такого ковзання ниток постачає процес гідролізу АТФ до АДФ і фосфату.

Скорочення і розслаблення м'язових волокон регулюються концентрацією іонів  $Ca^{2+}$  у саркоплазмі. Таким чином, скоротлива система м'язів забезпечує перетворення хімічної енергії в механічну.

Товсті філаменти складаються з довгих паличкоподібних молекул білка міозину. Приблизно 400 паличкоподібних молекул міозину об'єднуються в товстий філамент. Молекули розміщені паралельно, причому половина з них звернена голівками до одного кінця філамента, а друга половина – до іншого. По довжині філамента молекули дещо зсунуті одна відносно одної, їхні голівки розташовані по спіралі й утворюють виступи на поверхні ниток. Голівки відсутні в серединній частині філамента. Довжина товстих міозинових філаментів – приблизно 1,5 мкм, діаметр – 10-14 нм.

До складу тонких філаментів входять білки актин, тропоміозин і тропонін.

Міофібрили містять приблизно 2500 філаментів. Товсті й тонкі філаменти розміщені в міофібрилах упорядкованим чином. На 1 товсту міозинову нитку припадає 2 тонких (при поздовжньому розрізі). На поперечному розрізі тонкі філаменти утворюють шестикутник, у центрі якого розташований товстий філамент. У саркомері, структурній одиниці міофібрили, товсті міозинові нитки розміщені в смузі А, їх обидва кінці вільні, а тонкі нитки – у І-смузі й одним кінцем прикріплені до Z-пластинок. Тонкі нитки заходять на деяку відстань у смугу А, перекриваючись із товстими нитками. При скороченні міофібрил ділянка перекриття ниток значно збільшується. У повністю скороченому стані весь саркомер перетворюється на зону перекриття.

### **Молекулярні механізми скорочення м'язового волокна**

Скорочення м'яза ініціюється потенціалом дії, який поширюється від нейром'язового синапсу в обох напрямках вздовж м'язового волокна. Через систему Т-трубочок нервовий сигнал передається на цистерни саркоплазматичної сітки і спричиняє зміни проникності мембран для іонів  $\text{Ca}^{2+}$  і вихід їх у саркоплазму. У стані спокою концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  у саркоплазмі становить менше як  $10^{-7}$  моль/л. Внаслідок виходу іонів  $\text{Ca}^{2+}$  із цистерн концентрація їх у саркоплазмі швидко досягає  $10^{-5}$  моль/л, тобто зростає в сотні раз. Іони  $\text{Ca}^{2+}$  приєднуються до кальційзв'язувальної субодиниці тропоніну

тонких філаментів, що зумовлює зміну конформації білка. Це, у свою чергу, спричиняє переміщення молекули тропоміозину по жолобку тонкого філаменту, в результаті чого на молекулах глобулярного актину в складі F-актину відкриваються центри зв'язування з голівками міозину товстих ниток.

Міозинові голівки із зв'язаними в АТФазному центрі молекулами АТФ приєднуються до найближчих молекул G-актину тонких ниток. Утворюються поперечні містки. Внаслідок взаємодії актину і міозину АТФазний центр міозинових голівок активується, гідролізує АТФ до АДФ і Фн, які вивільняються з каталітичного центру. Це супроводжується зміною конформації міозину, згинанням голівки молекули в ділянці шарніру. - Оскільки міозинова голівка зв'язана з молекулою актину, її рух протягує тонкий філамент вздовж міозинового. Зв'язування в АТФазному центрі голівки міозину нової молекули АТФ викликає розрив поперечних містків і відновлення вихідної конформації молекули міозину. Зв'язування голівки з наступною молекулою актину тонких ниток починає новий цикл. Амплітуда кожного такого переміщення становить близько 11 нм, а частота – приблизно 50 разів на секунду. Одночасна, але не синхронна робота великої кількості міозинових голівок зумовлює за рахунок енергії гідролізу АТФ ковзання тонких і товстих ниток назустріч одні одному і як результат цього – скорочення м'язового волокна.

Коли на волокно перестають надходити нервові імпульси, вихід  $\text{Ca}^{2+}$  із цистерн припиняється, а АТФаза мембран саркоплазматичної сітки, що функціонує як кальцієва помпа, переносить іони  $\text{Ca}^{2+}$  за рахунок енергії АТФ (проти градієнта концентрації) із саркоплазми назад у цистерни.

Вміст цієї  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази в мембрані ретикулума становить 95 % усіх білків мембрани. При зниженні концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у саркоплазмі до  $10^{-7}$  моль/л комплекс  $\text{Ca}^{2+}$ -тропонін дисоціює, тропоміозин зсувається по жолобку тонкого філаменту на вихідне місце, блокуючи центри зв'язування на молекулах актину голівок міозину. Всі поперечні містки розриваються, і волокно розслаблюється. Таким чином, АТФ необхідний і для скорочення

м'язів, і для їх розслаблення. При недостатці АТФ містки між актином і міозином не розриваються і філаменти фіксуються в з'єднаному положенні (контрактура м'яза). Цим пояснюється трупне окоченіння після смерті.

### **Скорочення гладеньких м'язів**

Клітини гладеньких м'язів (міоцити) містять тонкі актинові й товсті міозинові філаменти, але вони не утворюють упорядкованих міофібрил, як у поперечносмугастій м'язовій тканині. Тонкі філаменти містять тропоміозин, але в них немає тропоніну. Для скорочення гладеньких м'язів необхідним є підвищення концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазмі міоцитів. Це досягається надходженням позаклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  через потенціалзалежні  $\text{Ca}^{2+}$ -канали. При концентрації  $10^{-5}$  моль/л іони  $\text{Ca}^{2+}$  зв'язуються з білком кальмодуліном і їх комплекс активує фермент кіназу міозину. Остання каталізує реакцію фосфорилування легких ланцюгів міозину, після чого відбувається взаємодія голівок міозину з актиновими нитками, в результаті скорочуються міоцити. Швидкість скорочення гладенької м'язової тканини в 100-1000 разів менша, ніж у поперечносмугастих м'язах, що зумовлено повільним включенням механізму взаємодії міозину з актином. При зниженні концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в міоцитах комплекс  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулінкіназа дисоціює, а від міозину відщеплюються фосфорні залишки під дією фосфатази. Активність кінази міозину зменшується при включенні аденілатциклазної системи.

### **Джерела енергії м'язової роботи**

Джерелом енергії для скорочення і розслаблення м'язів усіх типів є АТФ. У стані спокою м'язи містять близько 5 мкмоль АТФ на 1 г тканини й у 3-8 разів більше іншої високоенергетичної сполуки – креатинфосфату. Останній утворюється з АТФ і креатину за реакцією, яку каталізує креатинкіназа:

Реакція зворотна: коли наявний у м'язах АТФ використовують для роботи, креатинфосфат під дією креатинкінази швидко передає фосфатну групу на АДФ, завдяки чому відновлюється вихідний рівень АТФ. Утворення АТФ із креатинфосфату і АДФ – це найшвидший шлях генерації АТФ в умовах

скорочення м'язів. Крім м'язової тканини, креатинфосфат синтезується тільки в нервовій, але в значно меншій кількості.

Таким чином, м'язи, порівняно з іншими тканинами, запасують більший рівень макроергічних сполук, що має значення для дуже швидкого переходу скелетних м'язів від стану спокою до максимальної активності, коли потреба в АТФ зростає у 20-200 разів. Але запасу АТФ і креатинфосфату вистачає тільки на 6-10 с інтенсивної роботи скелетних м'язів. Ресинтез АТФ у м'язах, які працюють, забезпечується, залежно від умов, окисним або субстратним фосфорилуванням.

Так, при легкій і помірній фізичній роботі скелетні м'язи покривають енергетичні затрати шляхом окисного фосфорилування, тобто за рахунок аеробного окиснення таких субстратів, як глюкоза, вільні жирні кислоти і кетонів тіла. При тривалій м'язовій роботі поступово зменшується використання глюкози, а збільшується – жирів, які мобілізуються з жирових депо.

При максимальних фізичних навантаженнях, наприклад, під час спринтерського бігу, доставка кисню до м'язів стає недостатньою для забезпечення енергетичної потреби. Основним шляхом ресинтезу АТФ стає анаеробний гліколіз. Глікоген м'язів і глюкоза крові розпадаються до молочної кислоти. При цьому 1 залишок глюкози забезпечує утворення 2-х молекул АТФ. Анаеробний розпад глікогену досягає максимального рівня через 40-50 с безперервної роботи м'яза. Посилення гліколізу ініціюється збільшенням рівня АМФ, який є активатором фосфофруктокінази – основного регуляторного ферменту гліколізу. АМФ утворюється в аденілаткіназній реакції, оскільки при скороченні м'язів збільшується вміст АДФ.

При напруженій фізичній роботі накопичення в м'язовій тканині молочної кислоти і відповідне зниження рН, а також підвищення температури внаслідок виділення тепла знижують ефективність обміну. Молочна кислота дифундує у кров і захоплюється печінкою та серцем. У серцевому м'язі, в якому є ізофермент лактатдегідрогенази ЛДГ<sub>1</sub>, молочна кислота окиснюється

в піровиноградну і далі аеробним шляхом. У печінці частина лактату окиснюється, а частина перетворюється шляхом глюконеогенезу в глюкозу, яка виходить у кров і потрапляє в м'язи, де використовується для відновлення запасів глікогену (цикл Корі).

Ці процеси перебігають у відновний період після інтенсивної м'язової роботи, коли завдяки частому і глибокому диханню в організм надходить додатковий кисень, який використовується для окиснення лактату, пірувату, інших субстратів і для відновлення нормальної концентрації у м'язах АТФ і креатинфосфату.

М'язові волокна поділяють на червоні, білі та проміжні. М'язи людини здебільшого містять усі 3 типи волокон, але в різних співвідношеннях.

Саркоплазма червоних волокон містить багато міоглобіну та численні мітохондрії. Саме міоглобін забарвлює м'язові волокна в червоний колір. Цей гемовмісний білок має значно вищу спорідненість із киснем, ніж гемоглобін, а крива насичення киснем міоглобіну – гіперболічної форми. Тому міоглобін приймає кисень від оксигемоглобіну і зберігає у зв'язаному вигляді. У процесі скорочення м'яза, коли потреба в кисні зростає і внутрішньоклітинний парціальний тиск кисню падає,  $O_2$  дисоціює з комплексу з міоглобіном і використовується для тканинного дихання в мітохондріях. Дуже багато міоглобіну в м'язах китів, дельфінів, тюленів, що дає їм можливість запасати необхідну кількість кисню для перебування тривалий час під водою.

Білі волокна містять менше міоглобіну та мітохондрій, але більше глікогену і гліколітичних ферментів. Тому для червоних волокон характерне аеробне окиснення субстратів, а для білих – анаеробний розпад глікогену і глюкози. Крім того, в білих волокнах більша АТФазна активність міозину. М'язи, в яких переважають червоні волокна, скорочуються повільніше, але довго і без ознак втоми. М'язи, що складаються здебільшого з білих волокон, швидко переходять від стану спокою до максимальної активності, скорочуються значно швидше, але раніше втомлюються, оскільки вичерпуються запаси глікогену, а глюкоза з крові надходить повільно. У

різних людей співвідношення червоних, білих і проміжних волокон в одних і тих самих м'язах неоднакове, що визначає спортивні можливості, наприклад здатність бігти на короткі чи довгі дистанції.

### **Енергетичний обмін у серцевому м'язі**

Скоротливі клітини серцевого м'яза (міокарда) містять усі структури, характерні для волокон поперечносмугастого скелетного м'яза: ядра, міофібрили, побудовані з актинових і міозинових філаментів, мітохондрії, саркоплазматичну сітку. Але, порівняно зі скелетними м'язовими волокнами, міофібрил менше, а мітохондрій значно більше. Останні становлять близько 40 % сухої маси серця. Для роботи серцевого м'яза характерне постійне ритмічне чергування процесів скорочення і розслаблення. Необхідний АТФ утворюється майже повністю за рахунок окисного фосфорилування, тобто аеробним шляхом. У стані спокою серце споживає за 1 хв 8-10 мл  $O_2$  на 100 г тканини, що приблизно в 15 разів більше від споживання кисню іншими тканинами.

Субстратами окиснення в міокарді є широке коло сполук: вищі жирні кислоти, глюкоза, кетоніві тіла, молочна і піровиноградна кислоти, які постачаються кров'ю. Але головним субстратом є жирні кислоти, особливо в стані спокою. На окиснення жирних кислот використовується 60-70 % спожитого міокардом кисню. При фізичному навантаженні відносний внесок жирних кислот в енергетичний обмін міокарда знижується, але абсолютне їх споживання навіть зростає. Під час навантаження збільшується утилізація глюкози і молочної кислоти, яка надходить у венозну кров із скелетних м'язів. Так, при інтенсивній фізичній роботі частка лактату в енергетичному обміні міокарда може досягати 65-90 %. Відповідний напрямок лактатдегідрогеназної реакції, тобто перехід молочної кислоти в піровиноградну, забезпечується наявним у серцевому м'язі ізоферментом ЛДГ<sub>1</sub>, який використовує як субстрат лактат. Потім піруват зазнає окиснювального декарбоксилування в мітохондріях. Утилізуючи молочну кислоту, серце не тільки отримує енергію, а й сприяє підтриманню постійної величини рН крові. Серцевий і скелетні

м'язи містять ферменти окиснення ацетоацетату і бета-гідроксибутирату (кетонових тіл), частка яких у продукції енергії становить до 5 %.

Креатинфосфат у серцевому м'язі відіграє подвійну роль: енергетичного резерву і переносить енергію з мітохондрій до міофібрил. Синтезований шляхом окисного фосфорилування в мітохондріях АТФ переноситься транслоказаю через внутрішню мембрану мітохондрій і під дією креатинкінази, яка зв'язана з внутрішньою стороною зовнішньої мембрани, передає макроергічний фосфатний залишок креатину з утворенням креатинфосфату. Останній дифундує в цитоплазму до міофібрил, де розчинна форма креатинкінази каталізує взаємодію креатинфосфату з АДФ, утвореним при скороченні.

Креатинкіназа складається з 2-х субодиниць (М і В) та існує в 3-х ізоферментних формах: ММ, МВ і ВВ. У серцевому м'язі є всі 3 ізоферменти: в мітохондріях – ММ-форма, а в цитоплазмі – МВ- і ВВ-форми. Ізофермент МВ є в серці й відсутній у всіх інших тканинах організму (ММ-форма – переважно в скелетних м'язах, а ВВ-форма здебільшого в мозку). При ураженні міокарда ізоферменти креатинкінази надходять у кров і визначення їх має діагностичне значення.

## **2. Біохімія сполучної тканини**

### **Колаген, еластин і протеоглікани сполучної тканини**

Сполучна тканина надзвичайно поширена в організмі. Вона є у всіх органах і служить основою для їх утворення та виправлення пошкоджень. До сполучнотканинних утворень відносять шкіру, підшкірну жирову тканину, кістки, зуби, фасції, строму паренхіматозних внутрішніх органів, нейроглію, стінки великих кровоносних судин тощо.

Усі різновиди сполучної тканини містять клітини, волокнисті структури і основну міжклітинну речовину.

Волокна побудовані із фібрилярних білків колагену і еластину, а вуглеводно-білкові комплекси, протеоглікани, утворюють основну

міжклітинну речовину. Вуглеводними компонентами протеогліканів є гетерополісахариди глікозаміноглікани (стара назва мукополісахариди). Основні низькомолекулярні компоненти сполучної тканини – вода й іони натрію. Вміст волокнистих структур, основної речовини й води неоднаковий у різних видах сполучної тканини. В середньому частка основної міжклітинної речовини в організмі складає 20 % маси тіла, а вся сполучна тканина – близько 50 % маси тіла. З віком у сполучній тканині зменшується вміст води і глікозаміногліканів, а зростає вміст колагену; одночасно змінюються фізико-хімічні властивості волокон.

Макромолекули, із яких побудовані волокнисті структури, і основна речовина сполучної тканини, синтезуються в клітинах (фібробластах, хондробластах тощо). Після виходу із клітин в міжклітинний простір окремі макромолекули внаслідок міжмолекулярної взаємодії утворюють складніші структури (комплекси протеогліканів, волокна, агрегати протеогліканів, глікопротеїнів і волокнистих елементів). Розпад макромолкул відбувається під дією ферментів лізосом (протеїназ, глікозидаз, сульфатаз). Швидкість оновлення для глікозаміногліканів складає декілька днів чи тижнів, а для колагену – декілька місяців.

В основі ряду спадкових захворювань (мукополісахаридозів) лежить відсутність чи недостатня активність різних ферментів, які розщеплюють окремі глікозаміноглікани; останні накопичуються в сполучній тканині. Інші спадкові хвороби, досить рідкісні, зумовлені порушеннями утворення колагенових волокон, дефектами в їх структурі (синдром Марфана, Елерса-Данлоса, незавершений остеогенез). При недостатності в організмі вітаміну С також порушується формування колагенових волокон, проявляються клінічні симптоми цинги. Та значно поширенішими є системні хвороби сполучної тканини (колагенози), які розвиваються внаслідок автоімунних порушень і характеризуються пошкодженнями як волокнистих структур, так і основної міжклітинної речовини, клітин і мікроциркуляторного русла.

Фібрилярний білок колаген – найпоширеніший білок в організмі людини. На його частку припадає 25-33 % усього білка, тобто приблизно 6 % маси тіла. Молекула колагену (іноді її називають тропоколагеном) має довжину близько 300 нм, товщину – 1,5 нм, молекулярну масу приблизно 300 000 дальтон, вона побудована з трьох поліпептидних ланцюгів, що мають форму лівозакрученої спіралі з трьома амінокислотними залишками на один виток, тобто відрізняється від альфа-спіралі глобулярних білків. Три лівоспіральних ланцюги разом закручуються у праву спіраль, як кабель.

Кожний ланцюг містить приблизно 1000 амінокислотних залишків, з яких 33 % становить гліцин, близько 21 % – пролін і окипролін, 11 % – аланін і тільки приблизно 35 % – усі інші амінокислоти. Послідовність амінокислот у ланцюзі досить регулярно повторюється: майже у кожному 3-му положенні знаходиться залишок гліцину, часто зустрічаються трипептидні фрагменти – гліцин-Х-пролін, гліцин-Х-окипролін, гліцин-пролін-окипролін, де Х – інші амінокислоти. Окипролін, за винятком колагену і еластину, дуже рідко зустрічається в інших білках. Колаген містить ще одну рідкісну амінокислоту – оксилізін.

Колаген – складний білок, глікопротеїн, в якому до частини залишків оксилізіну поліпептидного ланцюга 0-глікозидним зв'язком приєднуються вуглеводи – моносахарид галактоза або дисахарид галактозилглюкоза.

В організмі людини відкрито 12 типів колагенів, які відрізняються первинною структурою, набором ланцюгів у молекулі, вмістом вуглеводів, органною та тканинною локалізаціями. Перші 4 типи більше поширені, а інші знайдені в невеликих кількостях і ще мало вивчені.

Надзвичайно високий вміст у колагені гліцину – амінокислоти, в якій відсутня R-група, й імінокислот (проліну та окипроліну), які утворюють вигини в поліпептидних ланцюгах, що зумовлює унікальну структуру молекули колагену – триланцюгову спіраль. Між ланцюгами за рахунок СО- і NH-груп пептидних зв'язків, а також ОН-групи окипроліну, виникають водневі зв'язки, які стабілізують спіраль. Молекули колагену (тропоколагену)

розташовуються регулярним чином у поздовжньому і поперечному напрямках і утворюють фібрили, з яких послідовно формуються пучки фібрил, волокна і пучки волокон. Молекули в паралельних ланцюжках фібрили зміщені одна відносно одної приблизно на  $1/4$  довжини (64 нм). Цим зумовлюється характерна для колагенових фібрил поперечна посмугованість з періодом повторюваності 64 нм.

У колагенових фібрилах утворюються поперечні ковалентні зшиви. Спосіб їх виникнення такий. Спочатку мідьвмісний фермент лізілоксидаза каталізує реакцію окиснювального дезамінування залишків лізину й оксилізину з утворенням альдегідних форм – аллізину і оксиаллізину. Останні взаємодіють між собою або з іншими залишками лізину чи оксиаллізину, утворюючи поперечні зшиви декількох типів (рис.). Поперечні зв'язки зшивають як попептидні ланцюги у молекулі тропоколагену, так і розміщені поряд у фібрилах молекули.

При рідкісній спадковій хворобі (синдром Елерса-Данлоса, тип V) внаслідок відсутності чи зниженої активності лізілоксидази в колагенових фібрилах зменшене число поперечних зв'язків і механічні властивості волокон погіршені.

Колагенові фібрили різними способами організовані у волокнах сполучної тканини, залежно від їх біологічної функції.

Зокрема, у сухожиллях фібрили розміщені у вигляді поперечно-зв'язаних пучків колагену типу I, які надзвичайно міцні і практично не розтягуються.

При кип'ятінні у воді нерозчинних колагенових волокон отримують розчин желатини. Деякі ковалентні зв'язки колагену гідролізуються, в результаті чого утворюється суміш розчинних поліпептидів, які можуть перетравлюватись протеолітичними ферментами шлунково-кишкового тракту. Катаболізм тканинного колагену починається з дії специфічних колагеназ, які розщеплюють певні пептидні зв'язки у всіх 3 ланцюгах тропоколагену. Утворені поліпептиди розчинні у воді і гідролізуються

тканинними протеїназами до амінокислот. Про інтенсивність розпаду колагену судять на основі вмісту вільного оксипроліну в крові і сечі. Підвищений розпад колагену при деяких ураженнях сполучної тканини, суглобів і кісток супроводжується збільшенням секреції оксипроліну.

### **Біосинтез колагену**

Поліпептидні ланцюги молекул колагену синтезуються на рибосомах, зв'язаних із мембранами ендоплазматичного ретикулума, в клітинах фібробластичного ряду сполучної тканини. Спочатку синтезуються високомолекулярні попередники (проколагени), які мають додаткові пептидні послідовності з обох кінців ланцюга. Амінокислотний склад цих ділянок (пропептидів) відрізняється від складу основного ланцюга. Зокрема, вони містять залишки цистеїну. Одночасно з ростом поліпептидного ланцюга відбувається реакція гідроксилювання деяких залишків проліну і лізину, яку каталізують, відповідно, пролін- і лізингідроксилаза. Для дії ферментів необхідні як субстрати молекулярний кисень і альфа-кетоглутарова кислота, а як кофактори – іон  $Fe^{2+}$  і аскорбінова кислота. При недостатності в організмі вітаміну С гальмуються гідроксилювання і утворення поперечних зв'язків, а в результаті погіршуються механічні властивості колагенових волокон. Аналогічні зміни спостерігаються при спадковому дефіциті лізингідроксилази (синдром Елерса-Данлоса, тип VI).

Після гідроксилювання до частини залишків оксилізину і оксипроліну приєднуються галактоза і глюкоза. Реакцію глікозилювання каталізують відповідні глікозилтрансферази в каналцях гранулярної ендоплазматичної сітки, куди потрапляють поліпептидні ланцюги проколагену. Після гідроксилювання і глікозилювання поліпептидні ланцюги формують триланцюгову спіраль, чому сприяє утворення дисульфідних зв'язків між ланцюгами на С-кінцях. Проколаген секретується в складі міхурців із клітини в міжклітинний простір, де під дією протеолітичних ферментів (проколагенпептидаз) відщеплюються кінцеві пропептиди. Утворені молекули тропоколагену формують фібрили, які прошиваються поперечними

ковалентними зв'язками. В структурну організацію колагенових волокон вносять вклад зв'язані з колагеном протеоглікани. Із кожним колагеновим мономером зв'язується за рахунок електростатичної взаємодії від 2 до 5 полісахаридних ланцюгів. Протеоглікани, вірогідно, захищають колаген від дії колагеназ і протеаз.

Інтенсивний синтез колагену має місце під час загоювання ран. Швидкість загоювання гальмується при недостатності в організмі аскорбінової кислоти, заліза, низькому парціальному тиску кисню в рані. Усі перераховані фактори потрібні для активності пролін- і лізингідроксилаз. Надмірне утворення колагенових фібрил спостерігається при ряді захворювань сполучної тканини (прогресуючому системному склерозі, склеродермії, поліміозиті), фіброзі легень, цирозі печінки. З віком змінюється співвідношення типів колагенів в тканинах, збільшується число поперечних зшивок, лабільні зшивки замінюються стабільними, що робить колагенові фібрили жорсткішими і крихкішими. Причиною вікових структурних змін колагену, вірогідно, є зміни вмісту ферментів, необхідних для синтезу поліпептидних ланцюгів, їх модифікації, утворення поперечних зв'язків. Структурні зміни колагену призводять до зменшення еластичності шкіри, кровоносних судин, збільшення ламкості кісток, погіршення механічних властивостей сухожилків і хрящів.

### **Еластин**

Білок еластин – основний складник еластичних волокон, яких багато у зв'язках, стінках великих артерій, легенях. Його молекули містять приблизно 800 амінокислотних залишків, мають глобулярну форму, діаметр – 2,8 нм. Вони об'єднуються у волокнисті тяжі за допомогою жорстких поперечних зшивок. У склад волокон входять глікопротеїни, які впливають на просторову організацію молекул еластину у волокнах.

Як і колаген, еластин містить багато гліцину і аланіну, трохи менше проліну, більше валіну; відсутні оксилізін, цистеїн. Поліпептидний ланцюг складається із багатих залишками гліцину спіральних ділянок, розділених

коротшими, які містять залишки лізину й аланіну. Саме залишки лізину беруть участь в утворенні поперечних ковалентних зв'язків. Для цього 3 залишки лізину окиснюються ферментативним шляхом до альдегідів (аллізинів), а потім конденсуються з четвертим залишком лізину: утворюються гетероциклічні сполуки, які називаються десмозином чи ізодесмозином.

Ці нестандартні амінокислоти відкриваються у гідролізаті еластину. В утворенні десмозину і ізодесмозину беруть участь залишки лізинів з 2, 3 чи 4 різних поліпептидних ланцюгів (молекул еластину), зшиваючи їх у сіткову структуру, здатну зворотно розтягуватись у всіх напрямках у два і більше раз. Розтягнення забезпечується збільшенням довжини спіральних ділянок поліпептидних ланцюгів, яка при знятті навантаження повертається до вихідної величини. Еластинові волокна, хоч набагато слабші за колагенові, досить міцні на розрив завдяки ковалентному характеру зв'язків. З віком еластичність їх знижується.

### **Структура і функції протеогліканів**

Основну міжклітинну речовину сполучної тканини утворюють протеоглікани, що складаються з невеликої білкової частини, до якої ковалентними зв'язками приєднані полісахаридні ланцюги (декілька десятків, а інколи більше 100). Молекулярна маса протеогліканів може досягати десятків мільйонів. На відміну від глікопротеїнів, у протеогліканах основна частина маси припадає на вуглеводну частину (до 93-97 %).

Глікозаміноглікани (або кислі мукополісахариди) – це полісахариди, які побудовані з великої кількості однакових дисахаридних одиниць. Оскільки до складу дисахаридних одиниць входять два різні мономери, глікозаміноглікани відносяться до гетерополісахаридів. Звичайно дисахаридна одиниця складається з аміноцукру (N-ацетилглюкозаміну чи N-ацетилгалактозаміну) й уронової кислоти (глюкуронової чи ідурунової). До аміноцукрів в 4-чи 6-му положенні часто приєднаний залишок сульфату.

Відомі 7 типів глікозаміногліканів, які відрізняються за мономерами, типом глікозидних зв'язків, а також за кількістю і місцем приєднання сульфатних груп.

До складу кератансульфату замість уронової кислоти входить галактоза. Із усіх типів тільки гіалуронова кислота не містить залишків сульфатів. У гепарині частина глюкозамінних залишків містить N-сульфатні групи, а не N-ацетильні. Гепарансульфат має менше, ніж гепарин, N- і O-сульфатних груп. Крім того, в гепарансульфаті переважає глюкуронова кислота, а в гепарині – ідуоронова.

Кількість дисахаридних одиниць і, відповідно, молекулярна маса різних глікозаміногліканів різна. Найбільші молекули гіалуронової кислоти (молекулярна маса  $10^5$ - $10^7$ ). Завдяки наявності негативно заряджених при фізіологічних значеннях рН карбоксильних груп і сульфогруп усі глікозаміноглікани є поліаніонами, що має важливе значення для їх функцій. Зокрема, вони зв'язують та утримують катіони натрію. Глікозаміноглікани добре розчинні у воді з утворенням в'язких розчинів. Величина в'язкості залежить від форми і розмірів молекул. Найбільша в'язкість характерна для розчинів гіалуронової кислоти, довгі ланцюги якої укладаються неупорядкованим чином і займають великий простір, заповнений, в основному, молекулами води. Високий вміст гіалуронової кислоти знайдено в склоподібному тілі ока, слизовій тканині пупкового канатика зародка, синовіальній рідині. Желеподібна структура розчину гіалуронової кислоти забезпечує функцію синовіальної рідини у суглобах як мастила, що зменшує тертя суглобових поверхонь. В'язкість синовіальної рідини у пацієнтів з ревматизмом чи артритом низька, що пов'язано з деполімеризацією гіалуронової кислоти.

Гепарин відрізняється від інших глікозаміногліканів за локалізацією в тканинах та функціями.

Синтезується він тканинними базофілами (інакше огрядними клітинами) і знаходиться в гранулах. Ці клітини часто локалізуються за ходом

кровоносних судин мікроциркуляторного русла. Під час дегрануляції тканинні базофіли викидають гепарин у міжклітинний простір. Гепарин бере участь в регулюванні коагуляції крові. Він підвищує звільнення в плазму ферменту ліпопротеїніпази, зв'язаної з стінками капілярів, і, таким чином, сприяє гідролізу тригліцеридів хіломікронів і ЛПДНГ. Антикоагуляційний ефект гепарину полягає в посиленні дії інгібітора факторів коагуляції антитромбіну III. Гепарин використовується в клінічній практиці як антикоагулянт.

Основну міжклітинну речовину складають протеогліканові агрегати з гіалуронової кислоти, низькомолекулярних білків і великої кількості мономерних субодиниць протеогліканів. На частку останніх припадає до 99 % маси агрегатів. Мономери протеогліканів побудовані з білка (так званого "корового") і ковалентно зв'язаних із ним полісахаридних ланцюгів сульфатованих глікозаміногліканів. Молекули хондроїтинсульфатів приєднані О-глікозидним зв'язком між ксилозою і серином поліпептидного ланцюга. Ксилоза не входить до дисахаридних одиниць, а виконує функцію додаткового складника, який зв'язує полісахарид із білком. Інші глікозаміноглікани можуть приєднуватись глікозидними зв'язками між N-ацетилглюкозаміном чи N-ацетилгалактозаміном і серином чи аспарагіном поліпептиду. В типовому протеоглікані хрящової тканини до білка приєднано приблизно 150 молекул хондроїтинсульфатів і кератансульфатів.

Протеоглікани різних тканин (шкіри, хрящів, сухожиль, зв'язок, кісток, стінок судин, внутрішніх органів) розрізняються молекулярною масою, розмірами, набором глікозаміногліканів, відносним вмістом білка.

Протеогліканові мономери за допомогою низькомолекулярних білків нековалентно приєднуються до гіалуронової кислоти, утворюючи протеогліканові агрегати. Їх структура нагадує гілочку ялини (або щітку для пляшок). Перпендикулярно до нитки гіалуронової кислоти і вздовж усієї нитки рівномірно розміщені протеогліканові мономери. Довжина молекули гіалуронової кислоти може бути різною (від 450 до 4200 нм) і до неї може

приєднуватись понад 100 протеогліканових мономерів. Усі складники протеогліканових агрегатів утримуються разом зв'язками різних типів: іонними, водневими, дисульфідними.

Полісахаридні ланцюги глікозаміногліканів у протеогліканових агрегатах внаслідок гідратації і відштовхування однойменно заряджених груп витягнуті й розміщені не впритул один до одного. При зовнішньому тиску молекули води частково видавлюються з проміжків і полісахаридні ланцюги зближуються. У міру зближення опір тиску зростає, а при знятті тиску відновлюються форма і об'єм гідратованих агрегатів. Таким чином, якщо колагенові волокна надають міцності хрящам та іншим різновидам сполучної тканини, то основна міжклітинна речовина (желеподібна структура із протеогліканів) забезпечує тургор, пружно-еластичні властивості. Крім того, протеоглікани обмежують дифузію, переміщення через сполучну тканину молекул, які мають розміри альбумінів чи імуноглобулінів. Гідроліз гіалуронової кислоти під дією гіалуронідази збільшує проникність міжклітинної речовини. Багато патогенних мікроорганізмів виділяють гіалуронідазу, що допомагає їм рухатись у тканинах.

Із віком у хрящовій тканині знижується кількість протеогліканів, зростає вміст колагенових волокон, які можуть затримувати солі кальцію і звапнюватися. Усі ці зміни викликають зменшення ступеня гідратації протеогліканів і втрату пружності хрящової тканини.

### **Контрольні питання**

1. Опишіть хімічну структуру м'язів.
2. Які білки містяться у м'язах і які їх функції?
3. Опишіть молекулярний механізм м'язового скорочення.
4. Чим відрізняється скорочення гладеньких і посмугованих м'язів?
5. Наведіть особливості біохімії серцевого м'яза.
6. З яких речовин формуються волокнисті структури сполучної тканини?

7. Опишіть процес синтезу колагену.
8. Охарактеризуйте будову і функції еластину.
9. Що таке протеоглікани?
10. Які спільні особливості біохімії сполучної тканини?



Біоматеріали - це матеріали, покликані замінити пошкоджені ділянки організму, їх окремі органи і тканини (рис. 1). Наприклад, перелом або травма кістки веде до необхідності заміни пошкодженої області штучним імплантатом.

З часу перших спроб використання фосфатів кальцію в медицині концепція застосування біоматеріалів зазнала серйозних змін. На перший план вийшов так званий регенераційні підхід, в рамках якого акцент робиться на заміщення біоматеріалу нативної (власної) зростаючої кісткою, матеріалу відводять роль (активного) джерела необхідних для побудови кісткової тканини елементів. Очікується, що «ідеальний імплантат» повинен поступово розчинятися в середовищі організму, виконуючи при цьому свої опорні функції, а на його місці повинна утворюватися нова кісткова тканина. Очевидно, що резорбтивна функція (розчинення) біоматеріалу має вкрай важливе значення для успішної інтеграції (впровадження) матеріалу в організм. Швидкість регенерації кістки залежить від декількох факторів, таких як пористість, склад, розчинність і присутність деяких хімічних елементів, які виходять в ході розробці (розчинення) керамічного матеріалу, полегшуючи регенерацію кістки, що проводиться спеціальними клітинами, остеобластами. У порівнянні з активно-використовуваним в медичній практиці гідроксиапатитом кальцію  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (ГАП), перспективним вважається матеріал на основі нанорозмірного карбонатвмісними гідроксиапатиту  $\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_6-x(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$  (КДАП). Він має ряд переваг: більш точно відтворює склад кісткової тканини в порівнянні з ГАП і має підвищену біорезорбцією і остеоіндукцією. Це означає, що імплантат з нано-КГА (рис. 2, 3), поступово розчиняючись, буде замінюватися новоствореною, природною кісткою, яка повністю замінить імплантат.

З розвитком біоінженерних технологій стане можливим створення кісткової тканини природним біологічним шляхом з використанням стовбурових клітин. Наприклад, можна буде створити зубні зачатки, які будуть природно проростати після імплантації. Однак за прогнозами, в найближчі десятиліття, реально доступними будуть тільки біоматеріали штучного (синтетичного) походження.

Виготовлення сучасних біоматеріалів регламентується міжнародним стандартом DIN VDI 5701-2018 Biomaterials in medicine - Classification, requirements, and applications.

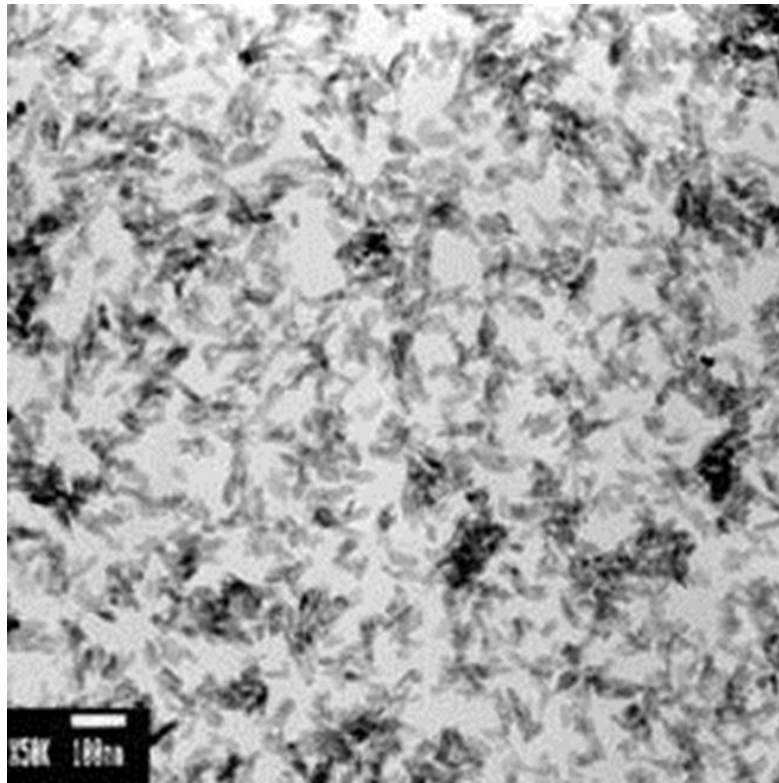


Рис. 2. Мікрофотографія нанокристалічного карбонатгідроксиапатиту

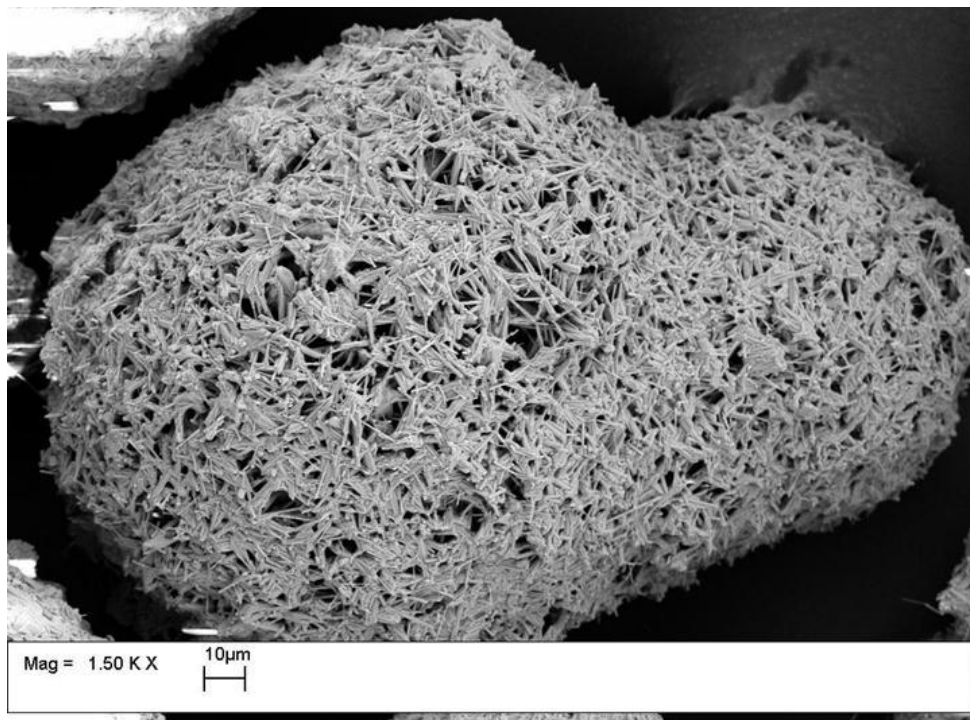


Рис. 3. Мікрофотографія керамічної гранули з нанокристалічного карбонатгідроксиапатиту («міні імплантат»)

## **Матеріали, що застосовуються в офтальмології**

В офтальмології найбільш часто застосовують полімери для виготовлення контактних лінз, штучних кришталіків, для заміни частин рогівки, для виготовлення очних протезів.

Очний протез являє собою імплант, що нагадує зовні передній відділ ока людини. Їм заповнюють простір в орбіті, що звільнилося після видалення очного яблука.

Коротка історична довідка.

30-40 роки XIX століття, германію, США - виробництво протезів із силікатних стекел

Перша половина XX століття - випробувані алюміній, каучук, слонова кістка, фарфор та інші матеріали.

1944 рік, Англія - розроблена технологія виготовлення очних протезів з поліметилметакрилату.

В даний час розроблені протези з 26 кольорами склери і 105 кольорами райдужки.

Протипоказання до застосування штучних очей зі скла - підвищена чутливість до матеріалу протеза.

В останні роки розроблені і застосовуються очні протези з тефлону і силіконової гуми. Особливість цих матеріалів полягає в тому, що вони термостійкі. Отже, можлива їх багаторазова стерилізація.

Перевага пластикових протезів:

1. довговічність,
2. менша ніж у скляних протезів теплопровідність,
3. можуть бути виготовлені будь-якої складної форми.

Був створений внутрішньоочний імплант з магнітом. Недолік такого протеза - його підвищена рухливість.

Відомі випадки застосування силіконової гуми для протезування.

### **Контактна корекція зору**

Контактна лінза, що надівається безпосередньо на рогову оболонку ока, повинна бути проникною для кисню, протистояти деформуючій дії повіки в процесі моргання і добре змочується слізною рідиною. Можливість використання контактної лінзи визначається її взаємодією з рогівкою. Одна з функцій епітелію рогівки полягає в тому, щоб витягти кисень з повітря і

передати його через слізну рідину для поповнення енергії метаболізму. Якщо рогівка не забезпечена достатньою кількістю кисню, то відбувається накопичення молочної кислоти, епітелій набухає, рогівка потовщується. Витрата кисню епітелієм рогівки становить 3.5 мкл / см<sup>2</sup> год. Для перенесення цього обсягу кисню парціальний тиск в епітелії рогівки має становити 15-20 мм. рт. ст. Цей розрахунок повністю поширюється на контактні лінзи. При їх носінні споживання рогівкою кисню не повинен змінитися.

Модифікації контактних лінз:

1. Жорсткі. Виготовляють з полметілметакрилата. Мають хорошими фізико-хімічними, оптичними властивостями, фізіологічно інертні і легко рижуться. Обмін слізної рідиною відбувається під час миготіння. Слізна рідина приносить нові порції кисню, так що його не бракує.

Недоліки: їх носять обмежену кількість годин; вони вимагають ретельної підгонки за розміром і формою.

В даний час застосовують і ряд інших матеріалів, зокрема, полімер полі-і ацетобутірат-целюлозу.

Перевага: проникність кисню у них в 100 разів вище, ніж у метилметакрилату.

2. М'які. Виготовляються з гідрогелів методом реакційно інжекційного формування.

Переваги: менш помітні на рогівці, не викликають дискомфорту і роздратування.

Недоліки: менша прозорість, менша довговічність в порівнянні з жорсткими лінзами.

Гідрогелі - м'які еластичні матеріали, що представляють собою зшиті набряклі в воді полімери. У безводних умовах отримують склоподібний полімер, з якого вирізають лінзи, а потім їх гідратують з утворенням з утворенням м'якого еластичного гелю.

Матеріалом для м'яких контактних лінз служить водний колаген, головною складовою якого є Poly-HEMA.

М'які контактні лінзи товщиною 0,03-0,05 мм, виготовлені з силісанового каучуку, по киснепроникності значно перевершують лінзи з інших полімерів.

Недоліки: погано змочуються, незручні для тривалого носіння.

## **Кровозамінники**

Кровозамінники - це матеріали, що застосовуються протягом необхідного часу з лікувальною метою в якості замінників або коректорів складу крові. Їх застосовують для трансфузійної терапії при різних патологічних станах.

Застосовувані препарати ділять на шість груп:

1. кровозамінники з функцією перенесення кисню
2. регулятори кислотно-основного та водно-сольового рівноваги
3. протишокові
4. для лікування інтоксикацій
5. препарати для парентерального харчування
6. препарати комплексної дії.

Вимоги, що пред'являються до кровозамінників:

1. Препарати повинні повністю виводитися з організму.
2. Не повинні викликати сенсibiliзацію організму.
3. Повинні бути нетоксичними.
4. Не повинні змінювати фізико-хімічних властивостей.

## **Матеріали для створення штучної шкіри**

Проблема отримання штучної шкіри пов'язана з необхідністю лікування опіків, травм, пошкоджень.

Матеріал штучної шкіри повинен відповідати таким вимогам:

1. перешкоджати зневодненню травмування зневоднених частин тіла,
  2. сприяти пропусканню водяної пари
  3. перешкоджати проникненню в рану мікроорганізмів
  4. сприятиме швидшій регенерації
- Коротка історична довідка

1962 рік - застосування формалінової губки з полівінілалкоголя. Експерименти проводилися також з губкою з силікону і піною з поліуретану. Губка з силікону погано приживляється, поліуретанова піна добре приживалася, Але через тиждень повністю розпадалася в результаті гідролізації.

Як імпланти використовують:

1. марлі з нейлону і з силіконів
2. надтонкі газопроникні плівки з ненаповненого силіконового каучуку
3. плівки, одержувані отвердінням кров'яної плазми
4. фібринові плівки
5. марля, оброблена жирами

Розроблено методики лікування з використанням полі-2-оксиметакрилата і поліетиленгліколю, а також нетканого полотна з колагену.

Переваги колагенового нетканого полотна: гарно сприймається живим організмом, не має імунної активності, стимулює регенерацію тканин, добре прилипання до поверхні рани, гатрна адсорбція ексудату, легке утворення рубця, немає відторгнення і запального процесу.

При застосуванні Poly-HEMA і PEG на поверхню рани наносять PEG і посипають порошком Poly-HEMA. Полімери покривають рану плівкою.

Переваги плівки: еластична, здатна пропускати водяні пари, простота дифузії розчинених речовин через плівку, не пропускає мікроорганізми, перешкоджає розвитку мікрофлори.

Штучні мембрани на основі силіконових еластомерів можуть функціонувати подібно до людської шкіри.

В даний час розробляються одношарові і багатошарові мембрани різних конструкцій. Наприклад, застосовуються одношарові мембрани з силіконового каучуку з безліччю каналів для введення ліків. Зовнішній шар мембрани виготовлений з прозорого силіконового еластомеру і призначений для захисту рани від інфекції і дегідратації, а нижній шар являє собою пористий полімерний матеріал на основі колагену. Цю двошарову мембрану не треба знімати і замінювати нової. Вона може залишатися на рані протягом п'ятдесяти діб - терміну, достатнього для загоєння невеликих опіків. Після загоєння рани верхній шар мимовільно видаляється в міру того, як наростає шкіра, а нижній розкладається ферментами. Загоєння великих ран відбувається повільніше, ніж руйнування мембрани, тому її потрібно знімати і замінювати. На поверхні розподілу між силіконовим еластомером і колагенових покриттям поміщають епідермальні клітини шкіри.

## Лекція № 18. Біосумісність матеріалів.

Біоматеріал — матеріал з живих тканин, синтетичний чи природний, використовуваний в медичному пристрої або в контакті з біологічними системами. Біоматеріали покликані замінити пошкоджені ділянки організму: їх окремі органи і тканини.

Біоматеріал — матеріал для цитологічних або цитогенетичних досліджень. Може бути забраний у пацієнта за допомогою тонкоголкової пункційної біопсії, відбитку на предметному скельці з поверхні зрізу органа та за допомогою спеціальних інструментів.

Трансплантати — органи і тканини, пересажені від самого пацієнта або його близьких родичів (наприклад, нирка, ділянка кістки, шкіра). В такому випадку проблеми сумісності матеріалу або не виникає, або, навпаки, орган відторгається, зате при вдалому результаті він повністю забезпечує необхідне функціонування.

Імплантати являють собою «неживі» матеріали, що не мають безпосереднього відношення до організму: полімери, керамічні блоки, скелети коралів тощо. У разі імплантатів проблеми генетичної несумісності матеріалу не виникає, тут постає питання про його принципову токсичність чи біосумісність. Імплантати можуть бути вироблені в будь-якій кількості, щоб забезпечити необхідний попит, що є їх безсумнівним плюсом, проте повністю відновити функції замінного органу вони не в змозі.

В залежності від реакції тканини на імплантат можна виділити 4 категорії матеріалів:

- токсичні (вбивають навколишні тканини);
- інертні (навколо таких в організмі утворюється волокниста неприлегла тканина);
- біоактивні (виникає прилеглий міжповерховий зв'язок матеріалу і тканини, інкапсуляція мінімальна);
- біорезорбційні (матеріал у міру розчинення заміщається тканиною організму хазяїна, продукти розчинення повинні бути нетоксичними).

Перераховані вище категорії матеріалів, за винятком токсичних, належать до класу біосумісних.

Поняття біосумісності відноситься до взаємодії між тканинами і фізіологічними системами пацієнта і пристроєм, обробленим медичним

пристроєм. Оцінка біосумісності є частиною загальної оцінки безпеки матеріалу (пристрою).

Біосумісність медичних виробів досліджується з використанням аналітичної хімії, тестів *in vitro* та тварин. Біосумісність пристрою залежить від таких факторів:

- хімічна та фізична структура компонентних матеріалів
- типи тканин пацієнта, які піддаються впливу пристрою
- час експозиції для цього пристрою

Оцінка біосумісності медичного пристрою фактично зроблена для забезпечення безпеки пацієнта. При програмуванні тесту на біосумісність виробники повинні враховувати свої цілі та ризики відповідності. Фактично, оцінка біосумісності медичного пристрою є дослідженням оцінки ризику. Усі медичні прилади містять ступінь ризику. При розробці медичних виробів компанії намагаються звести до мінімуму ці ризики і максимізувати переваги, які вони надають пацієнтам.

Основним стандартом для тестування біосумісності є стандарт ISO 10993. Цей стандарт також опублікований турецьким Інститутом стандартів (TSE) в нашій країні: TS EN ISO 10993 Біологічна оцінка медичних пристроїв. Перша частина цього стандарту є керівництвом вибору тесту. Друга частина містить вимоги щодо добробуту тварин. У наступних розділах розглядаються конкретні процеси тестування та інші питання, пов'язані з тестом. Повний список стандарту такий:

Розділ 1: Оцінка та експеримент

Розділ 2: Вимоги до добробуту тварин

Розділ 3: Тест на генотоксичність, канцерогенність і репродуктивну токсичність

Розділ 4: Вибір експериментів взаємодії крові

Розділ 5: Аналізи цитотоксичності без тіла

Розділ 6: Експерименти з локального впливу після імплантації

Розділ 7: залишки стерилізації окису етилену

Розділ 8: Вибір і властивості еталонних матеріалів для біологічних експериментів

Розділ 9: Дослідження для ідентифікації та кількісної оцінки потенційних продуктів деградації.

Розділ 10: Експерименти на подразнення і чутливість шкіри

Розділ 11: Тести на системну токсичність

Розділ 12: Підготовка зразків та довідкові матеріали

Розділ 13: Визначення та кількісна оцінка продуктів розкладання медичних виробів з полімеру.

Розділ 14: Визначення та кількісна оцінка продуктів розкладання з кераміки

Розділ 15: Ідентифікація та визначення продуктів деградації металів та їх сплавів

Розділ 16: Проектування токсикокінетичних досліджень для продуктів розкладання і розчинних продуктів.

Розділ 17: Визначення допустимих меж для вилуговуваних речовин

Розділ 18: Хімічні властивості матеріалів

Дані тестів біосумісності майже завжди потрібні для пристроїв зі значним контактним зв'язком. Щоб визначити, чи вимагає медичний пристрій тест біосумісності, використовується матриця біосумісності матеріалу стандарту ISO 10993-1.

Якщо виробник має дані від попередніх поставок, даних від компаній-постачальників матеріалів або компонентів, аналітичних даних і клінічних даних, кількість тестів буде незначно зменшуватися.

Основною метою стандарту ISO є перевірка придатності пристрою для його призначення. У цьому процесі біологічне тестування є найважливішим етапом оцінки біосумісності. Стандарт класифікує прилади відповідно до типу і тривалості контакту тіла. Він також містить перелік потенційних біологічних ефектів. Компанії-виробники зобов'язані збирати дані щодо безпеки всіх компонентів і матеріалів, що використовуються в медичному пристрої.

Біосумісність – здатність матеріалу вбудовуватися в організм пацієнта, не викликати побічних клінічних проявів і індукувати клітинну або тканинну відповідь, необхідну для досягнення оптимального терапевтичного ефекту.

Вимоги до сучасних біоматеріалів формуються і змінюються з розвитком медичних і діагностичних технологій. Спочатку основною вимогою

до матеріалів була безпека, яка досягалася через їх хімічну та біологічну інертність. Матеріали повинні були бути нетоксичні, неканцерогенні, неаллергенні, нетромбогенні. Цей список відсутніх властивостей і визначав поняття біосумісності. До матеріалів такого типу відносяться сплави металів на основі титану і платини, полімери на основі поліетилену і силікону.

Вимоги хімічної біосумісності: нетоксичність, корозійна стійкість, гіпоалергенність. Вимоги механічної сумісності: низький модуль пружності, максимально наближений до модуля пружності людських кісток, який не перевищує 30 ГПа; стійкість до циклічних навантажень, яка показує скільки циклів (рухів) здатний витримати конструкційний імплантат до руйнування; значна оборотна деформація, оскільки цей показник для кісток людини має близько 4 %. Вимоги фізичної сумісності: висока рентгенконтрастність, яка необхідна для правильної установки конструкції; низька магнітна сприйнятливості, яка спричинена все частішим застосуванням магнітнорезонансної томографії при діагностиці; низька густина. Матеріали імплантатів мають бути значно міцнішими за будь-які тканини людини, оскільки у багатьох випадках вони несуть таке ж навантаження при значно менших розмірах, ніж біологічні тканини. З іншого боку, ці матеріали мають бути пластичними, оскільки майже завжди вони повинні витримувати велику деформацію для можливості надання виробам бажаної/необхідної форми і розмірів.

Інформація про біосумісність металів може бути отримана з аналізу розчинності їх нейтрального гідроксиду і визначення розмірів області рН, в якій переважає цей нейтральний гідроксид.

Створення напівфабрикатів біосумісних матеріалів – значний крок у розвитку високих технологій, який зможе забезпечити як потреби вітчизняної медицини, так і стати конкурентно спроможним на світовому рівні. На даний момент біосумісні металеві конструкції для вітчизняної медицини закуповуються за кордоном. Цей напрямок розвитку медичного матеріалознавства має значні перспективи і є важливим для України у галузі малоінвазивних втручань.

## Лекція № 19. Біокераміка.

Біокераміка і біоскло — це біосумісні керамічні матеріали. Біокераміка є важливою підмножиною біоматеріалів. Біокераміка використовується в багатьох видах медичних процедур, зокрема в якості жорстких матеріалів хірургічних імплантатів, хоча деякі види біокераміки є гнучкими.

Зараз кераміка широко використовується в медицині в якості зубних і кісткових імплантатів. Хірургічна металокераміка використовується повсякчас. Штучні суглоби зазвичай мають покриття з біокерамічних матеріалів для зменшення зносу і запобігання запальним реакціям тканин. Інші приклади застосування в медицині включають елементи з біокераміки в конструкції кардіостимуляторів, апарату штучної нирки і респіраторів. Світовий ринок медичної кераміки і керамічних компонентів був оцінений приблизно в \$9,8 млрд у 2010 році. Прогнозоване щорічне зростання 6-7 % в наступні роки, світова ринкова вартість збільшиться до \$15,3 млрд до 2015 року і досягне \$18.5 млрд до 2018 року.

### Механічні властивості.

Біокераміка призначена для використання в системах екстракорпоральної циркуляції (наприклад у діалізі) або спеціальних біореакторах; однак, найчастіше застосовуються в якості імплантатів.[7] Кераміка широко застосовується в якості біоматеріалів завдяки своїм фізико-хімічним властивостям. Головними її перевагами є біоінертність в організмі людини, твердість і стійкість до зношування, що робить її корисною для кісткових імплантів і зубних протезів. Деякі види кераміки також мають хороший опір до тертя, що робить можливим її застосування в якості матеріалу для заміни ушкоджених суглобів. Такі властивості, як зовнішній вигляд і електрична ізоляція також представляють особливий інтерес для конкретних біомедичних застосувань. Приклади виробів із біокераміки представлені на рисунках 1 і 2.

Біокераміка є підвидом керамічних матеріалів, які розроблені спеціально для медичних та стоматологічних цілей. Вона складається з алюмінію і цирконію, біоактивного скла, покриттів і композиту, гідроксиапатиту, резорбіруемой кальцій фосфату і рентгенконтрастних частинок скла. Біокераміка широко застосовується при відновленні суглобів, для біопокриття імплантатів, і в якості резорбіруемой мембран, які підтримують певний обсяг необхідного простору протягом обмеженого періоду часу.



Рис. 1. Пориста біокерамічна гранула



Рис. 2. Титановий ендопротез кульшового суглоба з керамічною головкою і поліетиленовою ацетабулярною чашею

Біокерамічні матеріали класифікуються на:

- біоінертні - не вступають у взаємодію з біологічними системами;
- біоактивні - стійкі в тканинах, які відрізняються наявністю взаємодій на межі з навколишніми тканинами;
- біорезорбційні - розчинні або розсмоктуються, в кінцевому підсумку включаються в структуру тканин.

В даний час існує багато представників біокераміки, які використовуються в стоматології та медицині. Кераміка на основі алюмінію і цирконію є біоінертні застосовується в ортопедії. Біоактивна склокераміка доступна в стоматології під різними брендовими іменами, а пориста кераміка по типу кальцій фосфату часто використовується для відновлення кісткових дефектів. Окремі представники біокераміки, по типу такої на основі силікату кальцію (мінерал триоксид агрегат [MTA], ProRoot MTA Root Repair, Dentsply Sirona) або на основі біоагрегат (DiaRoot BioAggregate, DiaDent) також використовувалися в стоматології в якості матеріалів для відновлення дефектів в структурі кореня і для апікального виконання ендодонтичного простору.

### Властивості ендодонтичної біокераміки

Ендодонтична біокераміка не чутлива до вологи і контамінації кров'ю, тобто якість її застосування не залежить від техніки виконання процедури. Вона також розмірно стабільна, і при затвердінні кілька розширюється. У своєму стабільному стані біокераміка дуже тверда і ідеально ущільнена, при цьому не розчиняється протягом довгого періоду часу, забезпечуючи, таким чином, профілактику мікропідтікання. В ході затвердіння рН матеріалу підвищується до 12 в результаті реакції гідратації. У процесі такої спочатку утворюється кальцій гідроксид, який після розчиняється на іони кальцію і гідроксилу. Висока рН матеріалу в ході затвердіння забезпечує його антибактеріальні властивості. У стабільному стані матеріал є не тільки повністю біосумісним, але і біоактивним. При контакті біокераміки з оточуючими рідинами відбувається вивільнення кальцій гідроксиду, який може взаємодіяти з фосфатами в складі рідин і забезпечувати формування гідроксиапатиту. Дані властивості матеріалу можна категоризувати як індуктивні по відношенню до оточуючих твердих тканин. З огляду на все це, очевидно, що біокераміка є матеріалом вибору для перекриття пульпи, виконання простору після проведення процедури пульпотомії, відновлення дефектів кореня в результаті перфорацій, заповнення ендодонтичного простору і obturaції зубів з несформованим коренем для індукції процесу апексифікація.

Розглянемо керамічні вироби медичного призначення (ендопротези, імплантати, системи протезування, їх елементи) на основі  $Al_2O_3$  і  $ZrO_2$  - кераміки. Вироби мають біоактивні покриття з наноструктурованого гідроксиапатиту і можуть успішно застосовуватися при хірургічному лікуванні захворювань і пошкоджень опорно-рухового апарату людини, а також в стоматології та щелепно-лицьовій хірургії.

Конструкційна міцність пористої структури забезпечується поєднанням субмікронних і нанорозмірних компонентів кераміки. Пориста структура матеріалу виконується з урахуванням структури кісткової тканини в місці імплантації. Хімічна і корозійна стійкість забезпечує відсутність біохімічних і алергічних реакцій організму.

Кераміка абсолютно нетоксична в умовах застосування. Стійкість матеріалу до різних впливів дозволяє багаторазово застосовувати високотемпературну і газову стерилізацію без втрати експлуатаційних властивостей. Допускає радіаційну стерилізацію.

Розвинена поверхня порового простору забезпечує можливість застосування у різних біоактивних середовищах. Одним з високоефективних рішень для клінічної практики є застосування в розроблених імплантатах спеціальної технології «вистилання пор», наноструктурованих гідроксиапатитом.

Керамічна головка і керамічний вкладиш в кульшову чашку утворюють пару тертя «кераміка-кераміка» для ендопротезів тазостегнового суглоба зі швидкістю зносу 0,001-0,002 мм / рік. Видатні трибологічні властивості, висока твердість і низька шорсткість матеріалу роблять цю пару тертя чудовим матеріалом для пацієнтів молодого віку. Покриття з гідроксиапатиту з заданими розмірами наночастинок забезпечує утворення нової кісткової тканини в зоні контакту з імплантатом і тривалу міцну фіксацію імплантату в організмі людини.

Імплантати для хребта (комплект ендофіксатор, пластина і кріплення) застосовуються в вертебрології для фіксації, замісного відновлення опороздатності при патологічних змінах хребта.

Простота і доступність методу дозволяє широке застосування в травматологічній практиці при комплексному лікуванні хворих з уламковими переломами довгих трубчастих кісток з метою стимуляції репаративного остеогенезу, заміщення кісткових дефектів і профілактики інфекційних ускладнень. Гранули не містять активних компонентів, не вступають в хімічні реакції і не викликають реакції відторгнення.

Таблиця 1 – Приклади імплантів з біокерамічного матеріалу

ПРОДУКТ		МАТЕРІАЛ	ХАРАКТЕРИСТИКА
	Керамічна головка і керамічний вкладиш	Наноструктурована композиційна високощільна кераміка	Тріщиностійкість 8 МПа/м <sup>2</sup>
	Ніжка	Титан, покритий гідроксиапатитом	Біосумісність
	Імплантати гранульовані керамічні	Пориста наноструктурована композиційна кераміка (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	Забезпечує вільне проходження біологічних рідин
	Ендофіксатор	Пориста наноструктурована композиційна кераміка (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + ZrO <sub>2</sub> + гідроксиапатит)	Пористість >20 %, структура пористопроникна
	Пластина хребцева	Наноструктурована композиційна щільна кераміка (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + ZrO <sub>2</sub> )	Біоінертна, рентгенопрозора
	Шурупи для хребта	Наноструктурована композиційна щільна кераміка (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + ZrO <sub>2</sub> )	Біоінертна, рентгенопрозора

Таблиця 2 – Механічні характеристики та застосування деяких марок біокераміки

ПОКАЗНИК	ПЕРЕВАГА У МЕДИЦИНІ	TRADITIONAL	PSZ	NEWEST	POROUS
Межа міцності при стисканні, МПа	Витримує високі навантаження при експлуатації	>3000	>2000	>2000	>80
Твердість по Вікерсу	Забезпечує низьке зношування при терті	1500	1800	2000	-

Пористість	Найкраща біосумісність для остеоінтеграції	0	0	0	>20%
Мікроструктура частинок, мкм	Збільшення міцності імплантатів	≤ 4	≤ 5	≤ 1,5	>5
Тріщиностійкість	Зниження ймовірності руйнування імплантата	>4	>5	>9	-
Нетоксичність. Біосумісність	Виключає небажані імунні та обмінні реакції організму	Нетоксичний за ІСО10993 Біоінертний	Нетоксичний за ІСО10993 Біоінертний	Нетоксичний за ІСО10993 Біоінертний	Нетоксичний за ІСО10993 Володіє біоактивним покриттям
Область застосування	Всі технології спеціалізовані для травматології та ортопедії	Ендопротези суглобів. Опорні структури імплантатів хребта	Ендопротези суглобів. Шурупи для імплантатів хребта	Ендопротези тазостегнового і колінного суглоба	Міжтільні ендофіксатори для імплантації в хребет. Пористі гранульовані імплантати

## Лекція № 20. Полімерні біоматеріали.

Під полімерними біоматеріалами зазвичай розуміють полімерні матеріали та вироби з них, які використовуються в медицині або біотехнології. Такі матеріали часто отримують шляхом цілеспрямованого модифікування добре відомих полімерів. За останні роки значно зросли асортимент, масштаби виробництва і значення біоматеріалів.

Радіаційно-хімічна технологія в даний час стала одним з найбільш ефективних способів отримання полімерних біоматеріалів. Роботи по використанню радіаційно-хімічних методів для синтезу полімерних біоматеріалів проводяться в наступних напрямках: радіаційне модифікування різних полімерів і виробів з них з метою отримання гемосумісність (які тривалий час працюють в контакт з кров'ю) полімерів, полімерних сорбентів, протезів судин і т.д.; іммобілізація різних біологічно активних речовин (БАР) (ферменти, ліки і т.д.) в полімерні матриці з використанням радіаційної полімеризації; радіаційно-хімічний синтез полімерів-носіїв лікарських препаратів; радіаційне зшивання полімерів з метою отримання механічно міцних гідрогелів (носії БАР, перев'язувальні матеріали очні лінзи і т.д.). Перевагою радіаційно-хімічних методів отримання полімерних біоматеріалів в порівнянні з традиційними є чистота матеріалів (немає необхідності додавати додаткові інгредієнти (ініціатори полімеризації) при синтезі), можливість проведення процесів при знижених температурах і легкість регулювання швидкості процесів шляхом зміни потужності дози випромінювання. Перевагою радіаційно-хімічних методів є також те, що біоматеріали в деяких випадках можна стерилізувати на тих же джерелах іонізуючих випромінювань, які вже були використані для їх отримання. Необхідно відзначити, що в більшості випадків для отримання полімерних біоматеріалів потрібні невеликі дози випромінювання, як правило, не перевищують 30 кГр, що дозволяє використовувати джерела випромінювань невисокої потужності.

Недоліком радіаційно-хімічних методів є необхідність застосування, як правило, порівняно дорогих і складних в експлуатації джерел  $\gamma$ -випромінювання і електронних прискорювачів.

1. Отримання гемосумісність полімерних матеріалів. Одержання гемосумісних полімерних матеріалів - досить складна проблема. При контакт полімерів кров'ю ініціюються біохімічні реакції, що викликають зміну фізіологічних функцій крові, «запускається» згортання крові з подальшим

тромбоутворенням на поверхні полімеру. Важливими чинниками, що підвищують гемосумісність полімерів, є такі їх властивості, як мінімальна здатність до адгезії і агрегації тромбоцитів, відсутність активації контактних факторів згортання крові, участь в реакції лізису утворюється тромб і селективна здатність до адсорбції білків плазми крові, особливо альбуміну. Відповідно до сучасних уявлень, першою стадією при контакті полімеру з кров'ю є швидка сорбція білків з плазми крові. Природа і конформаційний стан білка визначають наступні біохімічні реакції.

Проблеми сорбції білків на різних полімерних поверхнях розглядалися в численних дослідженнях. На жаль, в даний час рівень наших знань не дозволяє досить ефективно прогнозувати природу і властивості полімерної поверхні, повністю задовольняє вимогу гемосумісність.

З викладеного ясно, що для отримання гемосумісність матеріалів поверхню полімерів необхідно модифікувати. З цією метою:

1. Створюють полімери з поверхнями, що володіють зниженою адсорбційної здатністю по відношенню до білків і близькими за своєю природою до природного середовища організму. В основному це гідрогелеві поверхні

2. Створюють полімерні матеріали з певної доменної структурою поверхні (поліуретани).

3. Створюють вуглецеві полімерні матеріали (поліацетілені).

4. Створюють полімери, поверхня в яких за своєю природою моделює антикоагулянти крові), що досягається введенням в поверхневі шари полімерів сульфо- і карбоксильних груп, створенням негативного заряду на поверхні полімерів). Найчастіше намагаються отримати гепаріноподобний поверхню, так як широко поширений метод отримання гемосумісність матеріалів шляхом введення гепарину має ряд недоліків, обумовлених частковою втратою активності гепарину при ковалентного іммобілізації, його слабкою антикомплементні активністю і біодеструкцією.

5. Вводять в поверхневі гідрогелеві шари фізіологічно активні речовини (антикоагулянти крові, ферменти і т.д.), взаємо-діють з компонентами крові та припиняють процес тромбоутворення.

При виборі методу модифікування поверхні полімерів необхідно враховувати, що основні фізико-механічні показники вихідного полімеру при модифікуванні не повинні істотно змінитися. Одним з найбільш ефективних методів модифікування полімерів є радіаційна зі щеплення полімеризація.

Перевагами її як методу модифікування полімерних матеріалів з метою підвищення їх гемосумісність є, по-перше, висока універсальність, що дозволяє в широкому діапазоні температур модифікувати практично будь-які полімерні матеріали (шовний матеріал, катетери, трубки, таблетки, порошки, трансплантати і т.д.) ; по-друге, можливість створення на поверхні полімерів модифікованих шарів різної товщини. Товщина шару залежить від умов проведення прищеплювальної полімеризації - потужності дози, вибору розчинника для мономера і т.д. При цьому модифікований шар міцно пов'язаний з підкладкою і не відмивається при контакті із середовищем живого організму.

Все це сприяє досить широкому використанню радіаційної прищеплювальної полімеризації для вирішення проблем, пов'язаних з підвищенням гемосумісність різних полімерних матеріалів і виробів з них. Основним завданням таких досліджень є створення полімерів з функціоналізованих поверхнею, визначеними гідрофільно-гідрофобні властивості і негативним зарядом на поверхні. Значна кількість робіт виконано по модифікації різних полімерів з використанням високогідрофільний мономерів, таких як N-вінілпіролідон, 2-гідроксіетил-метакрилат, акриламід і його похідні. У ряді досліджень для модифікації брали досить складні кополімери. Так, для виробництва протезів судин використовували, в основному, поліуретани, полієфіри і натуральний каучук.

Радіаційну прищепну полімеризацію в більшості випадків здійснювали прямим методом з водно-спиртових розчинів при невеликих дозах опромінення. У деяких випадках, особливо при щепленні акриламиду, застосовували метод з перед-опроміненням.

В результаті проведених робіт отримані різноманітні модифіковані полімерні матеріали з гідрогелевими поверхнями. Ці матеріали досить міцні, м'які і мають високу набухання у воді. Біомакромолекули в таких матеріалах характеризуються підвищеною дифузиею. Полімерні гідрогелю, отримані радіаційно-хімічними методами, випробувані на гемосумісність в експериментах *in vitro* та *in vivo* на мавпах, вівцях і собаках. В узагальненому вигляді випробування на гемосумісність радіаційно-щеплених полімерних гідрогелів показали наступне: з підвищенням вмісту води від 15 до 85% відбувається зменшення сорбції білків і підвищується швидкість десорбції, на гідрогель має місце тромбоутворення, але зв'язок тромбів з гідрогелевими поверхнею помітно ослаблена в порівнянні з їх зв'язком з немодифікованими полімерами. Суттєво важливим є значне зниження поверхневого натягу між гідрогелем і водним розчином. Гідрогелевий покриття на полімерах має бути

приготовлено з дуже чистих мономерів. Так, незначна домішка метакрилової кислоти у 2-гідроксиетилметакрилаті значно погіршує якість гідрогелевого покриття і його гемосумісні властивості.

Цікаві результати були отримані при вивченні радіаційно щеплених на поліетилен (ПЕ) кополімерів 2-гідроксиетилметакрилату (гідрофільний мономер) з етилметакрилат (гідрофобний мономер). При низькому вмісті води (~ 10%) зазначені щеплені кополімери характеризувалися несподівано низькими показниками адсорбції тромбоцитів, що було обумовлено не змістом води, а складом кополімера. При більш високому вмісті води адсорбція тромбоцитів обернено пропорційна вмісту води. Очевидно, що склад кополімера і стан води в ньому мають важливе значення. Поверхня радіаційно-прищеплених кополімерів дуже неоднорідна (маються горби, виступи і т.д.), товщина модифікованого шару, як правило, 15-45 мкм. Передбачається, що для підвищення гемосумісності необхідно певне поєднання на поверхні гідрофільних і гідрофобних ділянок.

Використання радіаційного зшивання для отримання полімерних біоматеріалів. В даний час істотно зріс інтерес до отримання полімерних біоматеріалів шляхом радіаційного зшивання. Цей метод найбільш часто застосовується для отримання гідрогелів, головним чином на основі поліакриламід, полівінілового спирту, поліетиленоксиду та полі (N-вінілпіролідону). Перевагою радіаційного зшивання є порівняльна простота виконання, можливість широкого регулювання густоти сітки шляхом підбору умов опромінення (потужність дози, доза), можливість використання знижених температур, чистота одержуваного продукту (відсутність ініціаторів) і одночасна стерилізація. Радіаційно-зшиті гідрогелю використовуються як носії БАР (ферменти, ліки і т.д.) в якості імплантантів, протезів, очних лінз, медичних мембран, перев'язувальних матеріалів і біологічних середовищ для вивчення і культивування мікроорганізмів.

На основі радіаційно-зшитого полівінілового спирту отримані біомембрани для селективного транспорту макромолекул, а також матеріали, що використовуються в якості суглобових хрящів. Показана перспективність використання гідрогелів полівінілового спирту в якості перев'язувального матеріалу і відзначено його перевага перед марлею: гомогенна адгезія по всій рані і легке видалення без пошкодження шкіри.

Гідрогелі на основі полі (N-вінілпіролідону) мають високу гідрофільність і біосумісність та можуть використовуватися в якості матеріалу для лікування опікових ран і трофічних виразок. Дані матеріали продаються в

Польщі під торговими марками "HDR" і "AQUA-Gel". Розроблено терапевтична система на основі гелю полі (N-вінілпіролідону) для використання в акушерській практиці для прискорення пологів і виробництва абортів. В цьому випадку гель являє собою тонкий стрижень, що містить простагландин.

Технологія отримання гідрогелів для перев'язувальних матеріалів в даний час досить докладно розроблена, і вони пройшли широкі клінічні випробування. Важливо, що є можливість отримувати гелі для перев'язок, що містять лікарські препарати (наприклад, хлорамфенікол). При великих пораненнях такий гідрогель істотно ефективніше звичайних перев'язувальних матеріалів.

У медицині застосовуються покриття силіконового каучуку колагеном з подальшим радіаційним зшиванням і стерилізацією. Іншим природним продуктом, який використовується для отримання біоматеріалів, є желатин. Вивчено радіоліз желатин, виявлено умови утворення просторових структур при опроміненні її розчинів. Запропоновано використовувати радіаційно-зшити композицію полівінілового спирту з желатином в якості перев'язувального матеріалу.

Радіаційне зшивання використано для виготовлення медичних виробів з полісилоксанів: біологічно інертних пористих шнурів, шприцованих трубок, капілярів і різних імплантатів. При радіаційному зшиванні полідиметилсилоксана в особливо чистих умовах істотно підвищується його гемосумісність. Радіаційно зшитий полівінілметилсилоксан використовується для виготовлення тонких мембран для отримання лікарських препаратів (наприклад, левоноргістрел).

Радіаційне зшивання транс-1,4-поліізопрену використано для створення термозбіжних матеріалів для зв'язування великих кровоносних судин. Матеріали пройшли широкі випробування *in vitro* і *in vivo* (на собаках). Радіаційний модифікування дозволяє поліпшити властивості медичних протезів на основі поліолефінів. З використанням радіаційного зшивання отримані також полімерні біоматеріали, що володіють підвищеною адгезією до шкіри людини.

В Ізраїлі налагоджений випуск синтетичного перев'язувального матеріалу, одержуваного шляхом радіаційної зшивання гідрофільних мономерів на поліуретан. Матеріал водонепроникний, прозорий, добре прикріплюється до шкіри і пропускає ліки. Матеріал випускається під назвою «Омідерм».

Розроблено методи отримання штучної рогової оболонки і контактних лінз з високою здатністю набухати у воді на основі радіаційно-зшитого полівінілового спирту з добавкою хондроїтинсульфата натрію. Для істотного підвищення проникності контактних лінз по кисню запропоновано опромінювати їх прискореними важкими іонами масою 2-100 а.о.м. З використанням радіаційної полімеризації створені гідрогелеві матеріали для м'яких контактних лінз. Ці матеріали виробляються в КНР.

Для створення офтальмологічних матеріалів знайшов застосування радіаційно-зшитий колаген, виділений зі склери ока тварин. Цей матеріал використаний для створення тимчасових аллодренажів при антиглаукоматозних операціях.

Безсумнівно, що в найближчі роки можна очікувати появи на ринку нових полімерних біоматеріалів, отриманих з використанням методів радіаційної полімеризації.

Отримання полімерних імплантантів.

Технічні прийоми і методи, які використовуються в радіаційної полімеризації можуть бути застосовані для отримання різного роду імплантантів, головним чином для лікування уражених ділянок шкіри, а також для створення протезів. Розроблено методи отримання імплантантів колагену шляхом опромінення суміші мономерів або полімерів з колагеном. Імплантати добре сумісні з кров'ю і не викликають запалень. Імплантати застосовуються в хірургії і можуть використовуватися як субстрати в біотехнології. Вивчено протези на основі полієфіруретана з радіаційно модифікованої внутрішньої поверхнею. Модифікування здійснювалося шляхом радіаційної щеплення 2-гідрокси-метилакрилату або акриламиду на внутрішню поверхню трубок. Протези вивчалися *in vivo*. Досліджено гістологічні і механічні властивості протезів. Встановлено їх підвищена тромборезистентність. Розроблено метод модифікування наповнювачів для полімерів, використовуваних в стоматологічній техніці. Наповнювачі на основі скляних або кварцових волокон модифіковані радіаційної щепленням акрилової кислоти з парової фази. Детально вивчено фізико-механічні властивості смол, що містять різну кількість модифікованого наповнювача. Відзначено переваги використовуваного модифікованого наповнювача в порівнянні з наповнювачем, модифікованим силанами. З використанням опромінення сумішей глинозему з акриловою кислотою створені полімерно-керамічні матеріали для стоматології. За допомогою радіаційної прищеплювальної полімеризації створені імплантати для лікування шкіри на уражених опіком

ділянках людського тіла. Для цієї мети зазвичай використовують силіконовий каучук, модифікований щепленням гідрофільних мономерів або модифікований вулканізований натуральний каучук. З використанням радіаційної технології створений метод гідрофілізації силіконових контактних очних лінз. В результаті гідрофілізації крайовий кут знижується з  $150^\circ$  до  $20^\circ$ , а ефект гідрофільності зберігається тривалий час. Радіаційно-модифіковані полімери використовуються для ініціювання росту різних клітин

#### Імобілізація лікарських препаратів.

В галузі використання радіаційної полімеризації для іммобілізації лікарських речовин найбільші успіхи досягнуті при іммобілізації протипухлинних складів в полімерні матриці. Як протипухлинних речовин використовуються адриаміцин, мітоміцин-С і 5-фторураціл. У ряді випадків лікування іммобілізованими протипухлинними препаратами поєднується з гормонотерапією. Імобілізовані протипухлинні речовини, як правило, використовуються у вигляді полімерних таблеток або голок, які вводяться в пухлину. Застосування іммобілізованих протипухлинних препаратів має наступні переваги в порівнянні з їх введенням у вигляді ін'єкцій або орально: невелика концентрація лікарських препаратів в крові, ліки розподіляється безпосередньо в невеликій області від введенного препарату. При цьому має місце некроз ракових клітин в межах  $0.5-1 \text{ см}^2$  близько зразка, а дифузія протипухлинних препаратів припиняється в некрозному шарі. Це зводить до мінімуму побічні ефекти від застосування ліків. Тривалість використання іммобілізованих протипухлинних препаратів - кілька місяців. При цьому швидкість виділення ліків не змінюється. Такі препарати пройшли широкі випробування в багатьох клініках Японії.

Для іммобілізації протипухлинних препаратів зазвичай використовують різні сополімери і композиції поліетиленглікольметакрилатів з різними полімерами (полістирол, полівінілформаль, поліетиленгліколь, поліметилметакрилат, поліетиленоксид). Підкреслюється, що опромінення необхідно проводити в безкисневому середовищі, а доза не повинна перевищувати  $10 \text{ кГр}$ , в іншому випадку активність протипухлинних препаратів істотно знижується

Швидкість виділення ліків регулюють введенням в полімерну матрицю пороутворюючих агентів або адсорбенту (наприклад, активованого вугілля).

Технологія використання іммобілізованих протипухлинних препаратів може бути поліпшена за рахунок варіювання гідрофільно-гідрофобних

властивостей полімерної матриці, а також використання біодеградованих полімерів (поліпептиди або полілактид).

В Пастерівському інституті (Париж) в рамках програми Міжнародного агенства з атомної енергії (МАГАТЕ) проведені дослідження з іммобілізованими моноклональними антитілами. Іммобілізація останніх здійснена шляхом низькотемпературної полімеризації 2-гідроксиетил-метакрилата. Чутливість реакцій іммобілізованого антитіла з антигеном залежить від вибору мономера і його концентрації для створення пористого середовища. Важливою проблемою є мінімізація неспецифічних реакцій полімерного носія з антигеном. Для цього необхідно збільшувати гідрофобність полімерної матриці. Іммобілізовані препарати зазвичай виготовляються у вигляді мікросфер або мікрокапсул. Для іммобілізації антитіл використовуються також мікросфери, одержувані полімеризацією акролеїну або його сополімерів з 2-гідроксиетилметакрилатом або метакриловою кислотою.

Перевагою радіаційної полімеризації для іммобілізації антитіл є досить висока чистота одержуваного продукту. Ці препарати можна використовувати для імунологічного аналізу.

Проведено дослідження по іммобілізації антагоніста кальцію в попередньо полімерний гель полі (2-гідроксиетилметакрилату). Шляхом радіаційного зшивання гелю і добавок метилметакрилату і N-вінілпіролідону можна широко варіювати швидкість виділення ліків.

Досліджено іммобілізацію гідрокортизону в гелі, отриманого радіаційною полімеризацією акрилової кислоти. Швидкість виділення регулюється дозою опромінення і обробкою гелів ацетатом цинку.

Іммобілізація компонентів крові.

Однією з найактуальніших проблем в даний час є створення штучних кровозамінників, які могли б тривалий час зберігатися при звичайних умовах не вимагаючи складної і дорогої апаратури. Одним з найбільш перспективних напрямків є іммобілізація різних компонентів крові в полімерні композиції з використанням насамперед радіаційних методів полімеризації.

Так гемоглобін був іммобілізований в полімерну матрицю з полі (2-гідроксиетилметакрилату) з використанням радіаційної низькотемпературної полімеризації. Особливу увагу було надано вибору оптимальних умов іммобілізації для захисту гемоглобіну. Гемоглобін зручний для вивчення стану іммобілізованої молекули в полімерній матриці, так як він має характерне

оптичне поглинання. Гемоглобін в мембрані піддавався оборотній оксигенації, яка має майже те ж саме значення, що і в нативному гемоглобіні. Описано спосіб отримання напівсинтетичної крові на основі іммобілізованого карбоксигемоглобіну.

У роботах для іммобілізації гемоглобіну використана радіаційна полімеризація фосфоліпідів. Фосфоліпіди містили дві довгі полімерні октадекандієнільні групи. Штучні червоні кров'яні клітини були отримані шляхом капсулювання гемоглобіну з використанням радіаційної полімеризації бішарових фосфоліпідів - ліпосом. Штучні кров'яні клітини виявилися механічно стабільними, легко витримували заморожування. Кисневий транспорт подібних систем виявився подібний транспорту нативного гемоглобіну. Проводилися випробування *in vivo* (миші), які вказали на біосумісність таких клітин.

Отримання «розумних» полімерів і їх використання для іммобілізації біологічно активних речовин.

За останні роки все більшого значення для медицини та біотехнології набувають «розумні» полімери. Так називають полімери, здатні реагувати (стискатися або набухати) на невеликі зміни в зовнішньому середовищі (температура, рН, електричне поле і т.д.). «Розумні» полімери з іммобілізованими БАР використовуються для виділення ліків при певних умовах, як правило, при заданій температурі або рН. Зазвичай «розумні» полімери отримують традиційними методами, проте останнім часом, для цієї мети стала використовуватися також радіаційна полімеризація. Серед «розумних» полімерів найбільше число публікацій присвячено полі (N-ізопропілакріламід) (полі-N-ІПАА). Даний полімер має в воді нижню критичну температуру розчинення (НКТР)  $\sim 32^{\circ}\text{C}$ , тобто близьку до температури людського тіла. Вище  $32^{\circ}\text{C}$  відбувається фазовий перехід, обумовлений конформаційним переходом макромолекули полі-N-ІПАА з пухкої глобули в компактний клубок, що супроводжується різким зменшенням розмірів макромолекули.

Було вивчено поведінку гідрогелів, отриманих на основі полі (N-ізопропілакріламід) і швидкість дифузії іммобілізованих в них лікарських препаратів в умовах, що імітують людський організм. Було встановлено, що при  $37^{\circ}\text{C}$  і  $\text{pH} = 1,4$  (нормальні умови в шлунку людини) відбувається повільне виділення іммобілізованих в гідрогель індометацину і амілази, але при зміні величини рН до 7,4 (умови в кишечнику) виділення ліків значно

прискорюється. Таким чином, можна створювати лікарські форми, що дозволяють доставляти препарат до ураженого органу без значних втрат.

Іншим напрямком використання таких "розумних" полімерів є створення сигнал-чутливих систем, що складаються з біосенсора, активатора і резервуара для корекції порушень в роботі різних органів в організмі людини. Так, для хворих на діабет розробляються спеціальні системи з біосенсорів на глюкозу, які запускаються за принципом включення – виключення для виділення певних порцій інсуліну, іммобілізованого в гелях, тобто вони працюють за принципом підшлункової залози.

## Лекція № 21. Основи тканинної інженерії.

Остання чверть ХХ століття ознаменувалась бурхливим розвитком нової галузі біології - біотехнології. Біотехнологія - це наука що роз'ясує біологічні проблеми за допомогою технічних засобів. Біотехнологія - це сукупність промислових методів, які застосовують для виробництва різних речовин із використанням живих організмів, біологічних процесів або явищ.

До таких виробництв належать стародавня біотехнологія сироваріння, виноробства, пивоваріння, хлібопечення, приготування молочних продуктів, квашення овочів, силосування.

У свою чергу ця дисципліна складається з великої кількості різних підрозділів.

Роком народження генної інженерії вважають 1972 рік, коли група дослідників у США під керівництвом П. Бергера отримала першу штучно створену рекомбінантну молекулу ДНК.

Виконання будь-якої генноінженерної програми передбачає:

- необхідність виділення фрагментів ДНК, які несуть необхідний ген;
- поєднання їх «in vitro» з векторними молекулами, здатними переносити цей ген у реципієнтні клітини;
- створення умов для стабільного успадкування і ефективною експресії перенесеного гену у чужому генотиповому середовищі;

Успішне вирішення цих проблем стало можливим завдяки таким досягненням науки.

Відкриттю явища рестрикції - модифікації ДНК і виділенню специфічних ферментів - рестриктаз, необхідних для отримання фрагментів ДНК з однаковими кінцевими послідовностями;

Упровадженню в практику генної інженерії методів хімічного і хімікоферментативного синтезу генів;

Виявленню природних і створенню штучних векторних молекул ДНК, здатних переносити в реципієнтну клітину фрагменти чужорідної ДНК, забезпечити включення їх у відповідний геном та їх експресії;

Розробці методів поєднання фрагментів ДНК різного походження з утворенням рекомбінантних молекул;

Розробці методів клонування молекул ДНК та створення бази даних генів (банк генів);

Розробці методів трансформації і трансдукції для різних організмів і добору клонів, що несуть рекомбінантні молекули ДНК.

Будь-які фрагменти ДНК можна клонувати (розмножувати) введенням вектора у реципієнтну клітину (як правило це *E. Coli*). Це досягається шляхом

трансформації, якщо в ролі вектора виступає бактеріофаг або інші віруси (наприклад вірус мавп SV40), то проникнення чужорідної ДНК у клітину здійснюється шляхом трансдукції. Реципієнтні клітини та організми з властивими їм ознаками, що виникли завдяки проникненню чужорідної ДНК називають трансформованими.

Зараз сконструйовано спеціальні вектори для переносу (трансгенозу) чужорідних генів у клітини рослин і тварин.

Існуючі та потенціальні вектори для рослин можна розділити на декілька категорій:

Вектори, отримані на основі бактеріальних векторів здатних інтегруватись у геном рослини -реципієнта - це Ті-плазмідні та Рі-плазмідні.

Вектори, сконструйовані на основі ДНК вірусних та віроїдних патогенів рослин;

Вектори, які можуть існувати в рослинних клітинах як незалежні реплікони (мітохондріальна та хлоропластна ДНК);

Вектори, отримані на основі нестабільних компонентів геному рослин (так званих транспозибельних елементів);

Сучасна клітинна, тканинна інженерія почала оформлюватись у самостійну дисципліну після праці Д.Г. Вольтера та Ф.Р. Майера. Вони у 1984 році за допомогою пластичного матеріалу, штучно вирощеного з клітин узятих у пацієнта відновили ушкоджену рогівку ока.

Із 1987 року тканинну інженерію почали вважати новим науковим напрямом у медицині, що ґрунтується на використанні сучасних гістотехнологій.

Клітинна інженерія - розробка методів ембріонального клонування і клонування організмів, органів, тканин, з окремих клітин; це методи роботи з різними клітинами з найрізноманітнішою метою; від їх культивування і до створення клонів людей. Ця ідея викликала багато різних тлумачень: від негайного застосування на практиці до заборони будь-яких досліджень в цій галузі. Така реакція пов'язана з недостатньою кількістю експериментальних даних, оскільки серійних клонів тварин не отримано. Створення клонів базується на простому перенесенні соматичного ядра в незапліднену яйцеклітину, в якій власне ядро інактивовано. Надалі така яйцеклітина пересаджується сурогатній матері і всі процеси проходять природнім шляхом. Оскільки генотип ядра соматичної клітини тотипотентний, розвивається новий організм, який повністю відповідає за своїми особливостями, властивостями і ознаками тому, від якого взято соматичне ядро. Практично це його копія, але тільки молодша - на той час, який прожив донор. Крім того, цей метод дозволяє розмножувати тварин з корисними мутаціями в

соматичних клітинах, чого не можливо досягти ніякими іншими методами. Метод клонування дозволяє зберегти рідкісні популяції тварин занесених нині у Червону книгу.

Досягнення і завдання клітинної інженерії.

Завдяки гістотехнологіям були отримані:

- культурні клітини (тканини для отримання цінних речовин);
- штучна печінкова тканина;
- відбувається реконструкція сполучної тканини, особливо кісткової;
- гладка м'язова тканина, яка використовується для відтворення сечоводів, сечового міхура, кишкової трубки;
- створення штучних клапанів серця і капілярних сіток;
- найбільш важливим напрямком є виготовлення еквівалентів шкіри;
- клонування організмів - перспективний напрямок клітинної інженерії;
- гібридизація соматичних клітин;
- ембріональна індукція - займається штучною зміною організму у ході зародкового розвитку.

Методи тканинної інженерії та їх суть:

- виділення клітин з організму або відбір клітин з донорського матеріалу;
- перенесення їх на штучні поживні середовища;
- виділення тканинно-специфічних клітин та їх подальше культивування;
- нанесення отриманої культури клітин на матрицю з наступною культивацією;
- матриці можуть бути виготовлені з різних біоматеріалів і повинні легко руйнуватися в організмі або заміщатись на тканини власного організму.

Проблеми тканинної інженерії:

- клітини під час культивування можуть змінювати свої властивості й перетворюються з нормальних на близькі за характеристиками до пухлинних;
- причиною перероджень можуть бути стимулятори розмноження клітин;
- процес культивування може приводити до зараження клітин;
- джерелом інфекції можуть бути живильні середовища, сироватка, порушення регламенту роботи
- багато проблем виникає в середині організму після пересадження штучних тканин.

Незважаючи на це, тканинна інженерія є найбільш перспективним напрямом у біотехнологіях, який швидко розвивається.

Тканинна інженерія – це підхід до створення тканин і органів для імплантування, що використовує фундаментальні структурно-функціональні взаємодії в нормальних і патологічно змінених тканинах при створенні біологічних замінників для відновлення або поліпшення функціонування тканин. Тканинно-інженерні конструкції представляють собою біомедичний клітинний продукт, який складається з клітин (клітинних ліній), біосумісного матеріалу і допоміжних речовин, і означають будь-який біомедичний клітинний продукт, який складається з клітинної лінії (клітинних ліній) і біосумісного матеріалу. Термін «біосумісний матеріал» в даному контексті означає будь-який біосумісний матеріал природного (наприклад, децеллюляризовані гомографти) або синтетичного походження. Наприклад, до таких матеріалів відносяться біосумісні полімери (полілактат і поліглюконат), біосумісні метали і сплави (титан, платина, золото), біосумісні природні полімери (колаген).

Клітини, як компонент тканинно-інженерної конструкції, можуть бути отримані з різних джерел і перебувати на різних стадіях диференціювання від малодиференційованих клітин до високодиференційованих спеціалізованих клітинних угруповань. Заселення клітинами підготовленого матриксу є актуальною проблемою сучасної біомедицини. При цьому властивості поверхні матриксу впливають на колонізацію клітинами, в тому числі прикріплення клітин і їх проліферацію по матриксу.

Відомі в даний час способи отримання тканеінженерних конструкцій використовують приготування суспензії клітин і фізичне нанесення цієї суспензії на біосумісний матеріал за допомогою поетапного осадження суспензійної культури з утворенням моношару і розміщення матеріалу в розчині протягом тривалого часу, достатнього для проникнення клітин по всьому об'єму матеріалу, а також використання 3D-біодруку. Пропонуються різні способи формування тканинно-інженерних еквівалентів порожнистих внутрішніх органів, таких як уретра, сечовий міхур, жовчний протік, трахея.

Травми і хвороби можуть привести до втрати живої тканини або втрати організмом здатності виконувати певну функцію. Клінічне лікування в подібних випадках складається в заміні втраченої тканини або відновленні втраченої функції за допомогою синтетичних біоматеріалів і медичних пристроїв. Для поліпшення характеристик біоматеріалів значні зусилля були спрямовані на з'ясування взаємодії біоматеріалу з живою тканиною. В результаті з'явилися матеріали другого покоління, часто звані біоактивними.

Однак найкращим «матеріалом» для будь-якого людського органу залишається здорова жива тканина.

Новою філософією розробки біоматеріалів стала інженерія живих тканин. Вона складається в біологічних і технічних методах створення функціональних тканин, які замінюють або поліпшують роботу хворих і патологічних частин організму. Практично цю ідею реалізують шляхом вирощування живих клітин на біоматеріалі в присутності біоактивних молекул. Після цього живі клітини і вироблену ними позаклітинну матрицю разом з підкладкою вводять в організм як єдину клітинно-біоматеріальну структуру. Через застосування штучних підкладок інженерія живих тканин тісно пов'язана з матеріалознавством. Термін «замінна медицина» був введений Клеменсом ван Бліттерсвйком (Нідерланди) для визначення методів лікування, заснованих на спільному використанні біоматеріалів і вирощених живих тканин. Інженерія живих тканин є однією з галузей науки, які найбільш швидко розвиваються. Журнал «Тайм» помістив фахівців з інженерії живих тканин в самому верху таблиці «кращих робочих місць майбутнього». Особливість інженерії живих тканин полягає в спільній роботі біологів, хіміків і матеріалознавців. Інтерес до неї підживлюється політикою турботи про здоров'я населення похилого віку, а також очікуванням величезної впливу на методику клінічного лікування різних хвороб.

До сих пір в якості підкладки біоматеріалів часто використовували біодеградовані матеріали типу полілактиду. Їх вважали ідеальними, оскільки бажано, щоб після імплантації матеріал поступово зникав. До теперішнього часу спроби вдосконалити такі підкладки практично не робилися, хоча деякі продукти їх розпаду можуть пригнічувати ріст і диференціювання клітин. Одним з перспективних напрямків досліджень є розробка біологічно модифікованих біоматеріалів, поверхня яких несе певну інформацію для живих клітин, що взаємодіють з цією поверхнею. Інформація може полягати у визначенні того, де клітини повинні і де не повинні висаджуватися, у визначенні їх орієнтації або диференціації. Очікується, що подібні розробки забезпечать біоінженерії широкий вибір підкладок. Ймовірно, що з'являться біоматеріали, поверхня яких буде містити інтелектуальні біодеградовані шари і біологічно активні пептиди або ліки. Такі роботи ведуться, і вже є приклади модифікації поверхні для управління висаджуванням певних клітин. Використовуючи полі (п-ізопропілакриламід), Окано зі співавторами розробив біоматеріал з термічно активною поверхнею, яка при температурі вище 32 °C гідрофобна, а нижче 32 °C – гідрофільна. Таким чином, після зростання клітин при температурі 37 °C їх можна видалити з поверхні, знизивши температуру

до 32 °С. Цю властивість, ймовірно, будуть використовувати для зняття вирощеної шкіри з підкладки перед перенесенням на рану.

Незважаючи на прогрес в описаній області, створення істинно інтелектуальних підкладок – це завдання майбутнього. В даний час для вирощування певних тканин не часто вдається створити морфологічно і біохімічно правильне навколишнє середовище для висаджування клітин, їх зростання і диференціювання. Для того, щоб використання біоінженерних тканин стало рутинною, необхідний подальший розвиток біоматеріалознавства, біології та медицини. Зокрема, необхідний прогрес в технології вирощування клітин (включаючи стовбурові) і біокультур.

Штучні кровоносні судини застосовують для заміни патологічно змінених ділянок кров'яного руслу і створення обхідних шляхів в системі кровообігу. В якості замінників судин були апробовано нейлон, тефлон, орлон, дакрон. Штучні судини з дакрону та тефлону виконуються з пряжі з великим числом елементарних ниток і за структурою матеріалу вони можуть бути тканинами, в'язаними та плетеними. Останнім часом випускають судини з велюрової структурою тканини. Ця структура являє собою модифіковану поверхню в'язаного матеріалу, отриману шляхом петлювання ниток. Така структура забезпечує еластичність судини. Залежно від анатомічних особливостей ділянок пересадки штучні судини можуть виготовлятися гофрованими для ділянок з великими вигинами і розгалуженого типу для ділянок з галуженням.

В даний час розробляються «напіврозсмоктувальні» протези і протези з антимікробних волокон. «Напіврозсмоктувальні» протези виготовляють з поліефірних ниток і колагену. У таких протезів низька пористість в момент імплантації. Надалі відбувається заміщення колагену тканинами організму. Протези з антимікробних волокон виготовляють на основі похідних полівінілового спирту та їх сумішей з поліефірними та фторвуглецевими волокнами.

В даний час протезування артерій великого діаметру проводиться досить успішно. Однак не існує замінників для коронарних артерій. При протезуванні вен великого діаметра необхідно використовувати нетромбуючі поверхні імплантату.

Основні матеріали, що застосовуються для виготовлення балонних сегментів катетерів, - поліетилен і полівінілхлорид. Для поліпшення ковзних якостей базисної трубки катетера використовують різні покриття її поверхні (гідрогелеве, наприклад). Балонні катетри, виконані з поліетилену, дозволяють розвивати великий тиск.

Коронарні провідники грають важливу роль при установці балонного катетера. Вони мають тефлонові або гепаринові покриття. Дистальний кінчик виготовляють з платиновим напиленням для збільшення рентгеноконтрастності.

Розширювані балоном коронарні стенти виробляються з нержавіючої сталі, а також з танталових сплавів, і поділяються на два основних види: матричні (пластинчасті, сітчасті) і дротяні (спіралеподібні). У танталових стентів в порівнянні зі стентами з нержавіючої сталі найкраща візуалізація. Сучасні стенти зі сталі мають рентгеноконтрастні мітки з золота і платини. Для зменшення реакції судинної стінки на імплантацію стента вони випускаються з алмазним напиленням, покриті гепарином, радіоактивними речовинами.

#### Клапани серця.

Для виготовлення жорстких деталей клапанних протезів застосовують титан чи стеліт. Стулки клапанів виконують з силіконової гуми або фторовмісних поліуретанів. Кращим матеріалом вважається натуральна латексна гума. Стулки клапанів обшивають дакроновою велюровою манжеткою.

В останні роки в якості нових матеріалів для виготовлення клапанів серця розглядаються матеріали на основі вуглецю.

#### Клейові композити.

Найбільш поширені біологічні клеї, що використовуються в хірургії:

1. Клеї на основі суміші синтетичного і натурального каучуку.
2. Ціанкрілати. Їх швидке затвердіння, викликане полімерізацією – їх головна перевага.
3. Епоксиди. Мають високу міцність. Недолік – низька швидкість утворення хімічних зв'язків робить їх малоприсадними для хірургії.
4. Поліуретани. Вони мають спорідненість з органічними молекулами живих тканин.

В окремих випадках для остеосинтезу застосовувалися столярний клей, желатин, фібриноген, резорцинова смола. Однак їх склеювальна здатність недостатньо велика.

У 1959 році Кувер відкрив високу склеювальну здатність у метилового ефіру ціанкрілатної кислоти. Під різними назвами він став виготовлятися в Японії, Німеччині, США. Ціанкрілати проявляють склеювальні властивості щодо більшості матеріалів при звичайній температурі і у вологому середовищі. Склеювальний ефект настає швидко і проявляється при переході клею з мономерного стану в полімерний без зміни об'єму і виділення тепла. Одним з найбільш важливих властивостей ціанкрілатних клеїв є їх стерильність. Вони мають бактерицидну і бактеріостатичну дію. Однак,

доведено, що клеї можуть проявляти подразнюючу дію, наприклад, на нервову і мозкову тканини.

Клеї застосовуються при операціях га серці, судинах, легенях, нирках.

Ціанкрілатні клеї застосовуються для заповнення порожнин в кістковій тканині, які утворюються після видалення пухлин.

Клеї застосовуються в офтальмології для приклеювання пластмасових лінз до рогівки, оскільки при накладенні швів рогівка пошкоджується. Штучна рогівка може бути приклеєна до тканини з метою попередження ерозії тканин і просочування вологи навколо протеза ока.

Поліуретановий клей КЛ-3 застосовується при урологічних операціях у хворих з метою видалення каменів з нирок і сечоводів, аномалій розвитку нирок та ін.

Клеї на основі поліуретанів використовуються також в пластиці периферичних нервів в нейрохірургії. Створення клейового епіневрального шва за допомогою медичного поліуретанового клею КЛ-3 в поєднанні з біодеструктованою поліуретановою плівкою-підкладкою забезпечує повне відновлення пошкодженого нерва. Клей КЛ-3 застосовувався при безшовних операціях на головному мозку. У поєднанні з лікарськими препаратами КЛ-3 застосовувався також при лікуванні злоякісних пухлин головного мозку. Клейова композиція КЛ-3 використовувалася для лікування кишкових і бронхіальних свищів, а також в щелепно-лицьовій і загальній хірургії.

## Список літератури

1. Курс лекцій з біохімії. Розділ «Біохімія крові» / укл.: Л. І. Гребеник, І. Ю. Висоцький. – Суми: Сумський державний університет, 2011. – 80 с.
2. Da Poian, A. T. Integrative Human Biochemistry: A Textbook for Medical Biochemistry / Andrea T. Da Poian, and Miguel A. R. V. Castanho. – Springer, 2015. – 421 p.
3. Biomedical engineering fundamentals / eds.: Joseph D. Bronzino, and Donald R. Peterson. – CRC press, 2014.
4. Chen, Q. Biomaterials: a basic introduction / Qizhi Chen and George Thouas. – CRC Press, 2014.
5. Biomaterials in artificial organs / ed. John P. Paul. – Springer, 2016.
6. Ducheyne P. Comprehensive biomaterials. Vol. 1 / Paul Ducheyne. – Elsevier, 2015.
7. Molecular, Cellular, and Tissue Engineering / eds.: Bronzino, Joseph D., and Donald R. Peterson.. CRC Press, 2015.
8. Біохімія : підручник / Л. І. Остапченко, Т. Р. Андрійчук, Ю. Д. Бабенюк та ін. ; упоряд. О. В. Скопенко. – К. : Київський університет, 2012. – 695 с.
9. Шевряков М. В. Практикум з біологічної хімії : навчальний посібник / Шевряков М. В., Яковенко Б. В., Явоненко О. Ф. – Суми : Університетська книга, 2003. – 204 с.
10. Явоненко, О. Ф. Біохімія : підручник / О. Ф. Явоненко, Б. В. Яковенко. – Суми : ВТД "Університетська книга", 2002. – 380 с. – ISBN 966-680-039-X.
11. Біохімія : підручник / М.Є.Кучеренко, Ю.Д.Бабенюк, О.М.Васильєв. – К. : Київський університет, 2002. – 480 с. – ISBN 966-594-334-0.
12. Puri, D. Textbook of medical biochemistry / Dinesh Puri. – Elsevier Health Sciences, 2014.
13. Talwar, G. P. Textbook of biochemistry, biotechnology, allied and molecular medicine / G. P. Talwar. – PHI Learning Pvt. Ltd., 2015.
14. Biochemistry: Concepts and Connections / Appling, Dean R., Spencer J. Anthony-Cahill, and Christopher K. Mathews. – Pearson Education, 2016.
15. He N. Biomaterials Science / Nongyue He and Zhiyang Li // Science. – 2016. – No 7.1. – P. 1-812.
16. Handbook of biomaterial properties / eds.; Murphy, William, Jonathan Black, and Garth W. Hastings. – New York: Springer, 2016.
17. Handbook of biochemistry and molecular biology / eds.: Roger L. Lundblad and Fiona Macdonald. – CRC Press, 2018. – 1002 p.
18. Pross, A. What is life?: How chemistry becomes biology / Addy Pross. – Oxford University Press, 2016.
19. Електрохімічне полірування імплантатів з нержавіючих сталей для стабільно функціонального остеосинтезу / А. О. Омельчук, І. М. Юденкова, М.

Ф. Захарченко, А. В. Близнюк // Наука та інновації. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 41-60.

20. Саврасов, Г. В. Исследование механических свойств протезов кровеносных сосудов при изменении параметров окружающей среды / Г. В. Саврасов, Н. В. Беликов, И. В. Хайдукова // Медицинская техника. – 2017. – № 2. – С. 9-12.

21. Овчаренко, Е. А. Системы визуального и роботизированного ассистирования транскатетерной имплантации протезов клапанов сердца / Е. А. Овчаренко, Г. В. Саврасов, К. Ю. Клышников // Медицинская техника. – 2017. – № 1. – С. 1-5.

22. Мегель, Ю. Е. Анализ влияния частотных флуктуаций на точность измерения параметров биоматериалов в системах неразрушающего контроля / Ю. Е. Мегель, В. А. Мунтян // Радиотехника. – 2006. – № 145. – 103-106.

23. Пинчук, Н. Д. Технологические процессы получения кальцийфосфатных биоматериалов / Н. Д. Пинчук, Л. А. Иванченко // Порошковая металлургия. – 2003. – № 7-8. – 36-52.

24. Прочность и трещиностойкость керамических материалов, предназначенных для металлокерамического протезирования в стоматологии / Д. Ю. Островой, Г. А. Гогоци, С. А. Горбань, С. П. Ошкадеров // Проблемы прочности. – 2005. – № 3. – 128-139.

25. Иващенко, Л. А. Повышение адгезии пластмассовой облицовки к металлическим зубным протезам / Л. А. Иващенко, Г. В. Русаков, В. И. Иващенко // Порошковая металлургия. – 2002. – № 11-12. – 16-20.

This project has been funded with support from the European Commission. This publication / communication reflects the views only of the author, and the Commission cannot be held responsibility for any use which may be made of the information contained therein.