

Учебное пособие «Биохимия человека. Обмен углеводов» написано с целью облегчить изучение биохимии, а также расставить максимальное количество клинически значимых акцентов для практического применения знаний об углеводном обмене в процессе изучения патогенеза, диагностики и лечения заболеваний человека. Книга предназначена для студентов и преподавателей химических, биологических и медицинских вузов, биохимиков, биологов, медиков, а также широкого круга читателей, интересующихся биохимией. Она станет незаменимым помощником благодаря наглядным схемам и рисункам, лаконичной структуре изложения и удобной «навигации»

ISBN 978-5-906023-32-2



9 785906 023322

**БИОХИМИЯ ЧЕЛОВЕКА ОБМЕН УГЛЕВОДОВ**



# **БИОХИМИЯ ЧЕЛОВЕКА ОБМЕН УГЛЕВОДОВ**

*Вадим С. Покровский*

# **БИОХИМИЯ ЧЕЛОВЕКА**

## **ОБМЕН УГЛЕВОДОВ**

*Вадим С. Покровский*

*Учебное пособие*



П 48 Покровский, Вадим Сергеевич

**Биохимия человека. Обмен углеводов: учебное пособие / В.С. Покровский.** — М.: Е-нота, 2022. — 360 с. — ISBN 978-5-906023-32-2.

ISBN 978-5-906023-32-2

Учебное пособие «Биохимия человека. Обмен углеводов» написано с целью облегчить изучение биохимии, а также расставить максимальное количество клинически значимых акцентов для практического применения знаний об углеводном обмене в процессе изучения патогенеза, диагностики и лечения заболеваний человека. Книга предназначена для студентов и преподавателей химических, биологических и медицинских вузов, биохимиков, биологов, медиков, а также широкого круга читателей, интересующихся биохимией. Она станет незаменимым помощником благодаря наглядным схемам и рисункам, лаконичной структуре изложения и удобной «навигации».

Автор:

*Покровский Вадим Сергеевич* — доктор медицинских наук, заведующий кафедрой биохимии им. Т.Т. Берёзова Медицинского института РУДН, заведующий лабораторией комбинированной терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

Рецензент:

*Замятнин Андрей Александрович* — доктор биологических наук, директор Института молекулярной медицины, профессор кафедры биологической химии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет)

*Автор выражает благодарность доценту кафедры биохимии им. Т.Т. Берёзова Медицинского института РУДН, кандидату биологических наук Ивановой-Радкевич Веронике Игоревне за ценные рекомендации по улучшению рукописи.*

УДК 612.015.32(075.8)

ББК 28.707.2я73-1

П 48

ISBN 978-5-906023-32-2

© 000 «Е-нота»

# ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Предисловие</i>	9
<i>Сокращения и условные обозначения</i>	11

## **1 Углеводы: строение и функции** **13**

---

Классификация углеводов	17
Моносахариды	19
D-Глюкоза	30
Производные моносахаридов	33
Гликозидная связь	38
Дисахариды	40
Трисахариды	43
Полисахариды	44
Гомополисахариды	46
Гетерополисахариды	52
Задания для обсуждения	58

## **2 Переваривание углеводов** **59**

---

$\alpha$ -Амилаза	63
Мальтаза-гликоамилаза	66
Сахараза-изомальтаза	66
Лактаза	68
Трегалаза	73
Пищевые волокна	73
Роль бактерий в переваривании углеводов	79
Гликемический индекс	79
Гликемическая нагрузка	82
Хлебные единицы	82
Задания для обсуждения	82

## Трансмембранный транспорт моносахаридов 85

3	Транспортёры глюкозы GLUT	87
	Транспортёры глюкозы SGLT	92
	Всасывание моносахаридов в тонкой кишке	92
	Транспорт глюкозы из крови в клетки	95
	Транспорт глюкозы через гематоэнцефалический барьер	97
	Инсулин-зависимый транспорт глюкозы через мембрану	98
	Реабсорбция глюкозы в почечных канальцах	102
	Задания для обсуждения	105

## Гликолиз 107

4	Этапность гликолиза	111
	Первая реакция гликолиза	112
	Вторая реакция гликолиза	114
	Третья реакция гликолиза	115
	Четвёртая реакция гликолиза	117
	Пятая реакция гликолиза	118
	Шестая реакция гликолиза	119
	Седьмая реакция гликолиза	120
	Восьмая реакция гликолиза	120
	Девятая реакция гликолиза	121
	Десятая реакция гликолиза	123
	Одиннадцатая реакция гликолиза	125
	Изменение свободной энергии гликолиза	128
	Энергетический эффект гликолиза	129
	Гликолитическая оксидоредукция	131
	Анаболическое значение гликолиза	132
	Регуляция скорости гликолиза	132
	Шунт Рапопорта–Люберинга	135
	Внутриклеточная локализация ферментов гликолиза	136
	Эффект Пастера	136
Эффект Варбурга	137	
Задания для обсуждения	139	

<b>5</b>	<b>Глюконеогенез</b>	<b>141</b>
	Обход десятой реакции гликолиза	145
	Обход третьей реакции гликолиза	151
	Обход первой реакции гликолиза	151
	Синтез глюкозы из аминокислот	155
	Синтез глюкозы из глицерола	156
	Регуляция глюконеогенеза	157
	Гормональная регуляция глюконеогенеза	161
	Энергетический эффект глюконеогенеза	161
	Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори)	162
	Глюкозо-аланиновый цикл	163
	Задания для обсуждения	164
<b>6</b>	<b>Пентозофосфатный путь</b>	<b>167</b>
	Окислительный этап	172
	Этап структурных перестроек	177
	Регуляция пентозофосфатного пути	181
	Активность пентозофосфатного пути в разных клетках	183
	Задания для обсуждения	187
<b>7</b>	<b>Синтез гликогена</b>	<b>189</b>
	Образование глюкозо-1-фосфата	194
	Образование уридиндифосфатглюкозы	195
	Образование гликогенового праймера	196
	Линейное наращивание полисахаридной цепи	197
	Ветвление молекулы гликогена	199
	Регуляция синтеза гликогена	201
	Задания для обсуждения	207

## **Распад гликогена** **209**

---

8	Фосфоролиз гликогена	213
	«Деветвление» молекулы гликогена	215
	Распад гликогена в лизосомах	218
	Регуляция распада гликогена	221
	«Сенсор глюкозы» в печени	228
	Тренированность мышц и распад гликогена	229
	Задания для обсуждения	231

## **Обмен фруктозы** **233**

---

9	Образование фруктозо-1-фосфата	236
	Альдолаза В	237
	Использование фруктозы в реакциях гликолиза или глюконеогенеза	238
	Включение фруктозы в процесс синтеза триацилглицеролов	240
	Метаболизм фруктозы в мышцах	241
	Полиоловый путь	241
	Фруктоза и регуляция пищевого поведения	242
	Метаболические нарушения при избытке фруктозы в рационе	243
	Задания для обсуждения	245

## **Обмен галактозы** **247**

---

10	Мутаротация галактозы	250
	Образование галактозо-1-фосфата	251
	Образование глюкозо-1-фосфата	251
	Галактитол	254
	Синтез лактозы	255
	Задания для обсуждения	257

## **Обмен гликозаминогликанов 259**

Строение протеогликанов	263
Классификация и функции протеогликанов	264
Синтез протеогликанов	267
Коровый белок	268
Субстраты синтеза гликозаминогликанов	268
Синтез гиалуроновой кислоты	270
Тетрасахаридный линкер	270
Наращивание полисахаридной цепи	272
Эпимеризация остатков глюкуроновой кислоты	274
Сульфатирование	275
Распад гликозаминогликанов	278
Мукополисахаридозы	280
Катаболизм гиалуроновой кислоты	282
Катаболизм дерматансульфата	284
Катаболизм гепарансульфата	289
Катаболизм кератансульфата	291
Задания для обсуждения	293

## **Гликозилирование белков 295**

Углеводный код	299
Гликозилтрансферазы	300
N-Гликозилирование	302
O-Гликозилирование	303
Сортинг гликопротеинов аппаратом Гольджи	307
Внеклеточное гликозилирование	308
Антигены групп крови	309
Иммуноглобулины	311
Муцины	311
Катаболизм гликопротеинов	312
Нарушения гликозилирования и деградации гликанов	312
Задания для обсуждения	317

## **Клинико-биохимические аспекты патогенеза, диагностики и лечения сахарного диабета 319**

<b>13</b>	Инсулин	322
	Секреция инсулина	324
	Рецептор инсулина	325
	Сигнальные каскады рецептора инсулина	326
	Эффекты взаимодействия инсулина с рецептором	327
	Инкретины	328
	Гликирование	329
	Сахарный диабет типа 1	331
	Сахарный диабет типа 2	332
	Сахарный диабет типов MODY	334
	Вторичный сахарный диабет	336
	Диагностика сахарного диабета	336
	Заместительная терапия инсулином	338
	Диабетический кетоацидоз	341
	Гиперосмолярное гипергликемическое состояние	341
	Гипогликемия и гипогликемическая кома	342
	Задания для обсуждения	344

## **Предметный указатель 349**

<i>Указатель терминов</i>	351
<i>Указатель формул</i>	354
<i>Указатель лекарственных препаратов</i>	355
<i>Указатель ферментов</i>	356
<i>Указатель заболеваний</i>	358

# Предисловие

Возрастающая скорость, с которой публикуются результаты новых исследований в области медицины и науки о живом (life science), требует постоянного обновления программ фундаментальных дисциплин, в том числе и биохимии, для будущих врачей. Это сложно: всегда приходится искать баланс между фундаментальной химией, которую обычно преподают в классических университетах, вопросами клеточной биологии, определяющими биологические процессы в организме человека, и прикладными медицинскими аспектами патогенеза заболеваний человека, их диагностики и лечения. Настоящая книга наглядно описывает основные процессы углеводного обмена в организме человека, отсылая читателя к клинически значимым или просто любопытным аспектам биохимии углеводов.



*Оранжевые тематические врезки демонстрируют связь биохимии с нормальной и патологической физиологией, отражая функции и биологическую роль отдельных молекул.*



*Зелёные тематические врезки иллюстрируют связь обмена углеводов с конкретными заболеваниями человека.*



*Жёлтые тематические врезки отсылают к прикладным вопросам клинической диагностики различных патологических состояний.*



*И, наконец, фиолетовые тематические врезки связывают биохимию и фармакологию, давая представление об отдельных лекарственных препаратах, их мишенях и входящих в их состав вспомогательных компонентах.*

Все эти отсылки, безусловно, носят ознакомительный характер, однако они расширят кругозор студентов, а увлечённым студентам позволят лучше разобраться в непростых связях биохимических процессов с клинической медициной. Учебное пособие содержит также много справочной информации (коды классификации ферментов, гены, конкретные ферменты обмена гликопротеинов), которые, конечно, тоже студенту не следует заучивать.

Учебное пособие «Биохимия человека. Обмен углеводов» рассчитано прежде всего на студентов II курса медицинских институтов. Однако и студенты старших курсов, и даже практикующие врачи, особенно эндокринологи и врачи-генетики, возможно, сочтут её полезной и для себя. Мы постарались исключить возможные ошибки или неточности, но не можем быть уверенными наверняка в их отсутствии: все схемы и формулы были для этой книги отрисованы заново, а в процессе технической работы всегда есть риск потерять что-то важное. Мы будем благодарны за комментарии и замечания, которые можно направлять по адресу [vadimpokrovsky@yandex.ru](mailto:vadimpokrovsky@yandex.ru).



*Покровский В.С.*

## Сокращения и условные обозначения

Ⓟ — неорганический фосфат

ⓅⓅ — пирофосфат

~ — высокоэнергетическая связь (тильда)

AGE (advanced glycation end-products) — конечные продукты гликирования

AMPK (5' AMP-activated protein kinase) — 5'-АМФ-активируемая протеинкиназа

CDG (congenital disorders of glycosylation) — врождённые нарушения гликозилирования

ChREBP (carbohydrate response element binding protein) — углевод-реагирующий элемент-связывающий белок

EMA (European Medicines Agency) — Европейское агентство, регулирующее обращение лекарственных средств

FDA (Food and Drugs Administration) — Управление по контролю за оборотом пищевых продуктов и лекарственных средств США

GKRP (glucokinase regulatory protein) — регуляторный белок глюкокиназы

GSD (glycogen storage disease) — болезнь накопления гликогена (гликогеноз)

GSH — восстановленный глутатион

GSK-3 (glycogen synthase kinase 3) — киназа гликогенсинтазы

GSSG — глутатион дисульфид

HbA<sub>1c</sub> — гликированный гемоглобин

IRS-1 (insulin receptor substrate 1) — субстрат рецептора инсулина 1

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) — Международный союз теоретической и прикладной химии

LP (lactase persistence) — сохранение активности лактазы

MAPK (mitogen-activated protein kinase) — митоген-активируемая протеинкиназа

PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) — фосфатидилинозитол-3-киназа

MODY (maturity onset diabetes of the young) — юношеский сахарный диабет взрослого типа

NSE (neuron specific enolase, enolase 2) — нейрон-специфическая енолаза

PIP<sub>2</sub> (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate) — фосфатидилинозитолбисфосфат

PKB/Akt (protein kinase B) — протеинкиназа B

PKC (protein kinase C) — протеинкиназа C

SGLT (sodium-glucose linked transporter) — натрий-зависимые ко-транспортёры глюкозы

t-PA — циркулирующий тканевый активатор плазминогена

α-МСГ — меланоцит-стимулирующий гормон

АДФ — аденозиндифосфат

АКТГ — адренокортикотропный гормон

АЛТ — аланинаминотрансфераза

АМФ — аденозинмонофосфат  
АСТ — аспаратаминотрансфераза  
АТФ — аденозинтрифосфат  
АФК — активные формы кислорода  
БАД — биологически активная добавка  
ВЖК — высшие жирные кислоты  
ВКМ — внеклеточный матрикс  
ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения  
ГАГ — гликозаминогликан  
ГДФ — гуанозиндифосфат  
ГМФ — гуанозинмонофосфат  
ГТФ — гуанозинтрифосфат  
ГЭБ — гематоэнцефалический барьер  
ДАГ — диацилглицерол  
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота  
ЖКТ — желудочно-кишечный тракт  
ИМТ — индекс массы тела  
КФ — классификация ферментов  
КФК — креатинфосфокиназа  
ЛДГ — лактатдегидрогеназа  
ЛПНП — липопротеины низкой плотности  
МПС — мукополисахаридоз  
НАД — никотинамидадениндинуклеотид  
НАДФ — никотинамидадениндинуклеотид фосфат  
РНК — рибонуклеиновая кислота  
ТАГ — триацилглицерол  
ТГФК — тетрагидрофолиевая кислота  
ТПФ — тиаминпирофосфат  
УДФ — уридиндифосфат  
УМФ — уридинмонофосфат  
УТФ — уридинтрифосфат  
ФАД — флавинадениндинуклеотид  
ФАФ — 3'-фосфоаденозин-5'-фосфат  
ФАФС — 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосерная кислота  
ХЕ — хлебная единица (углеводная единица)  
цАМФ — циклический аденозинмонофосфат  
ЦМФ — цитидинмонофосфат  
ЦНС — центральная нервная система  
ЦПЭ — цепь переноса электронов  
ЦТК — цикл трикарбоновых кислот  
ЭПР — эндоплазматический ретикулум

# 1

**Углеводы:  
строение и функции**

Углеводы составляют обширную группу органических соединений — от низкомолекулярных, содержащих всего несколько атомов углерода, до полимеров с молекулярной массой несколько миллионов килодальтон. Углеводы входят в состав всех клеток бактерий, растений и животных и по массе являются самыми распространёнными в природе органическими соединениями. Растения могут синтезировать углеводы из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  при помощи фотосинтеза. Животные сами не способны синтезировать углеводы из  $\text{CO}_2$  и получают их почти исключительно с растительной пищей.

---



Углеводы — органические молекулы, состоящие из углерода, водорода и кислорода, содержащие гидроксильные и карбонильные группы, в которых соотношение водорода к кислороду составляет обычно 2:1

---

С химической точки зрения углеводы — многоатомные спирты, молекула которых, помимо гидроксильных групп, несёт также формильную (альдегидную) или кетонную группу. Название «углеводы» (англ. carbohydrates) отражает любопытное совпадение: большинство представителей этой группы соединений имеют общую формулу  $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_m^*$ , то есть они как бы состоят из углерода и воды — буквально «гидраты углерода» (англ. carbon hydrates)\*\* , что, однако, не имеет ничего общего с их реальной химической структурой.

---

\* Некоторые представители класса углеводов не соответствуют данному соотношению и могут включать атомы азота, серы, фосфора.

\*\* Русское название «углеводы» было предложено К. Шмидтом в 1844 г.

Функции углеводов в клетках весьма разнообразны. Они служат источником и своеобразным «депо» энергии для метаболических процессов: крахмал и гликоген, состоящие из мономеров глюкозы, накапливаются соответственно в растительных и животных клетках. Часть выделяющейся при их катаболизме энергии расходуется на синтез аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), которая обеспечивает протекание энергозатратных процессов. Нерастворимые в воде полимеры углеводного строения выполняют опорные функции (целлюлоза в растительных клетках, муреин в бактериях, хитин в клетках грибов и членистоногих). D-Рибоза и D-дезоксирибоза входят в состав нуклеиновых кислот. Углеводы выполняют защитно-механические функции, оберегая трущиеся поверхности суставов, а также покрывая слизистые оболочки (например, гиалуроновая кислота). Сложные углеводы межклеточного матрикса (гликозаминогликаны) обладают высокой гидрофильностью, отрицательным зарядом и, таким образом, удерживают  $H_2O$ , ионы  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ , обеспечивая тургор кожи и упругость тканей. Некоторые углеводы, в частности гепарин, способны активировать ферменты (антитромбин III, липопротеинлипазу) и регулировать различные биохимические процессы.

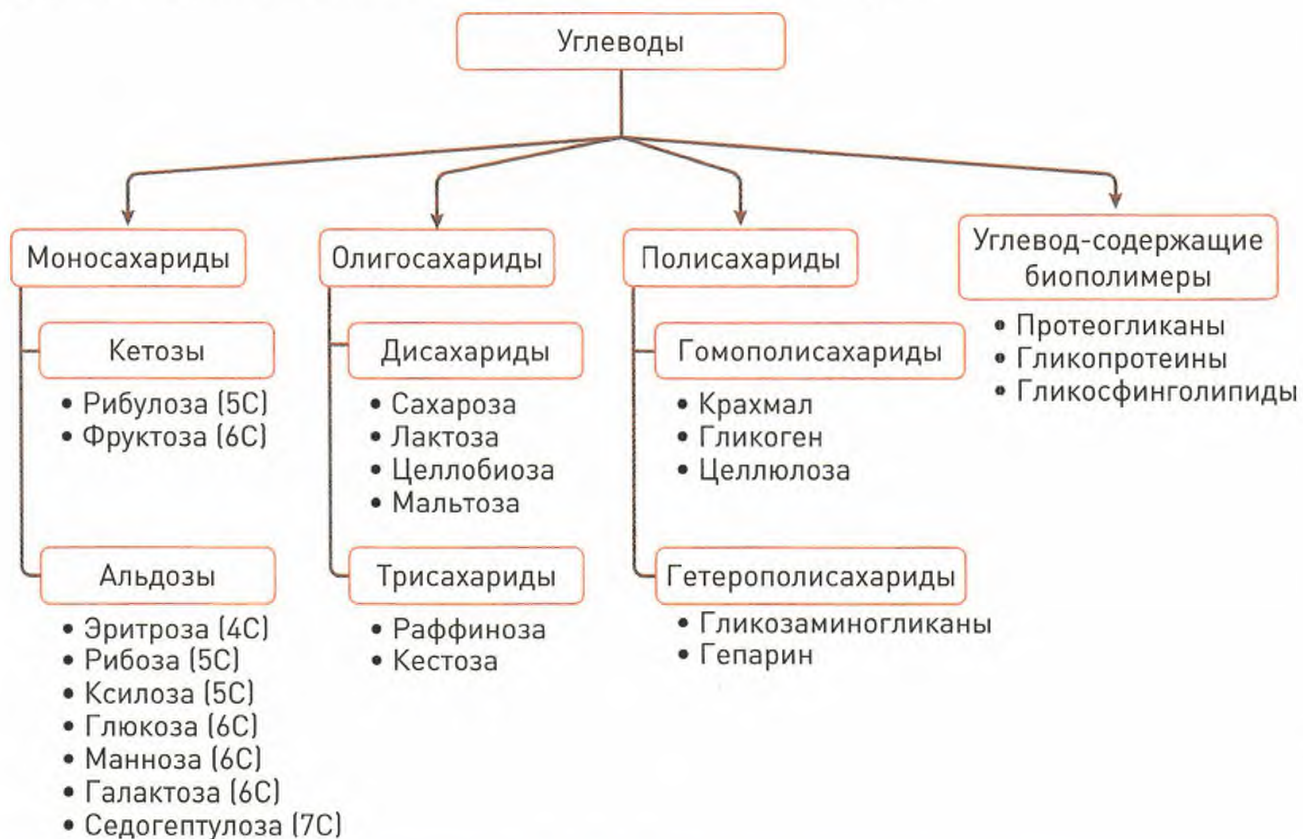
Длительное время углеводы оставались не самым приоритетным объектом исследований биологов и биохимиков — им традиционно отводилась роль молекул, употребляемых клеткой для получения энергии или построения клеточных стенок, и с позиций передовой науки они выглядели менее интересными, нежели другие биологические молекулы — белки или нуклеиновые кислоты. Существенное изменение представлений о значимости углеводов в функционировании клетки произошло в конце XX в. как следствие систематического изучения белков. Оказалось, что большинство белков в клетке на самом деле являются гликопротеинами, то есть ковалентно связаны с углеводным фрагментом. При этом профиль гликозилирования белков (состав углеводной части и место её прикрепления) существенно влияет на их функции. Накопление знаний о роли углеводов в живых системах послужило мотивом для обособления нового раздела биохимии и клеточной биологии — *гликобиологии*. В постгеномном\* периоде развития биологии появилась *гликомика* — научное направление, исследующее все углеводные молекулы, а также сложные углевод-содержащие молекулы, которые синтезирует или использует клетка. Как и протеом, гликом клетки или гликом организма

\* Переход к постгеномным технологиям — общемировой тренд, предполагающий переход от фундаментальных и поисковых исследований генома к изучению других биологических молекул и разработке технологий, которые стали доступными благодаря расшифровке генома человека.

(совокупность углеводных либо углевод-содержащих молекул живой системы) зависит от целого ряда внешних и внутренних факторов и даёт важную информацию о состоянии, функциях и возможной патологии клетки или организма как совокупности клеток.

## Классификация углеводов

В зависимости от химического строения выделяют три основные группы углеводов: моносахариды, олигосахариды и полисахариды. В отдельную группу выделяют углевод-содержащие биополимеры.

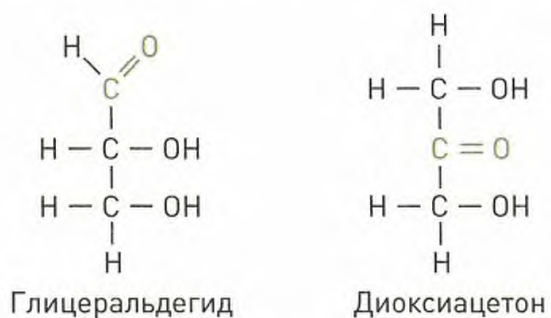


Моносахариды — углеводы, которые не гидролизуются до более простых углеводов, они содержат карбонильную (формильную или кетонную) группу, а также несколько гидроксильных групп, с общей формулой  $C_nH_{2n}O_n$ , то есть число атомов С равно числу атомов О

Моносахариды — углеводы, которые не гидролизуются до более простых углеводов, соединения с общей формулой  $C_n(H_2O)_m$ , где  $n = m$ . Они содержат формильную или кетонную группу, а также несколько гидроксильных групп (полигидроксиальдегиды или полигидроксикетоны). Если моносахариды

содержат формильную группу, то они называются *альдозами*, если кетонную группу — то *кетозами*. Производные моносахаридов также могут содержать тиольные, карбоксильные или аминогруппы. Моносахариды можно классифицировать в зависимости от длины углеродной цепи: триозы (3C), тетрозы (4C), пентозы (5C), гексозы (6C), гептозы (7C)\*. Моносахариды легко растворимы в воде и, как правило, обладают сладким вкусом.

Простейшими углеводами являются глицеральдегид и диоксиацетон. Они содержат всего по три атома углерода (альдотриоза и кетотриоза соответственно).



Наиболее распространённый в живой природе моносахарид — глюкоза (содержит шесть атомов углерода), остальные встречаются в свободном виде существенно реже, в основном как промежуточные продукты различных метаболических путей или составные компоненты олиго- и полисахаридов.

*Полисахариды* — полимерные соединения, построенные из многочисленных остатков моносахаридов. Полисахариды подразделяют на гомополисахариды, то есть состоящие из одинаковых остатков моносахаридов, и гетерополисахариды, содержащие остатки различных моносахаридов.

*Олигосахариды* — промежуточный тип между моносахаридами и полисахаридами, они классифицируются по числу мономеров (остатков моносахаридов) в молекуле: дисахариды, трисахариды и т.д.\*\*.

Углеводные фрагменты (олиго- и полисахаридные) могут входить в состав более сложных биополимеров — гликопротеинов (состоят из белков и углеводов) и гликолипидов (состоят из липидов и углеводов). Большинство животных белков являются гликопротеинами.

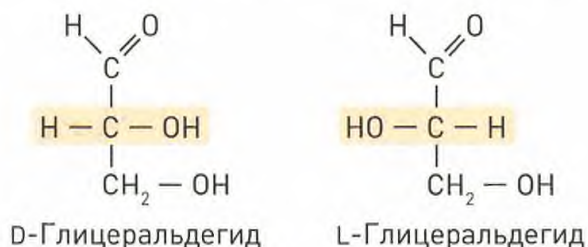
\* Углеводы, имеющие в составе четыре атома C и более, в названии имеют окончание «-оза», а у кетосахаров, если у них нет уникального устоявшегося наименования, дополнительно перед этим ставится суффикс «-ул-» (рибоза vs рибулоза).

\*\* Существуют два подхода к определению границы между группами полисахаридов и олигосахаридов. Согласно традиционному химическому подходу, олигосахаридами считаются те углеводы, которые содержат менее 10 остатков моносахаридов (соответственно наличие более 10 остатков позволяет отнести углевод к полисахаридам). Однако этот подход выглядит излишне механистическим с биологической точки зрения: проведённая искусственным образом граница не отражает различий в свойствах и биологических функциях. Например, с позиций биологии существенное значение имеет растворимость углеводов. Олигосахариды преимущественно растворимы, обладают сладким или сладковатым вкусом. У длинных полимеров — полисахаридов — из-за размера молекул способность к растворению в воде пропадает. Биологический подход позволяет относить к олигосахаридам относительно длинные углеводные части гликопротеинов, которые состоят из 15–30 моносахаридных звеньев.

## Моносахариды

### Стереоизомерия моносахаридов

Все моносахариды, за исключением диоксиацетона, содержат асимметрические атомы С, число которых увеличивается по мере удлинения углеродной цепи. У такого атома С все четыре заместителя различны, и он называется хиральным атомом, или *хиральным центром*. Поскольку существуют две различные вариации расположения заместителей у хирального атома, одной и той же структурной формуле будут соответствовать два стереоизомера. Стереоизомеры глицеральдегида имеют всего один хиральный атом С.



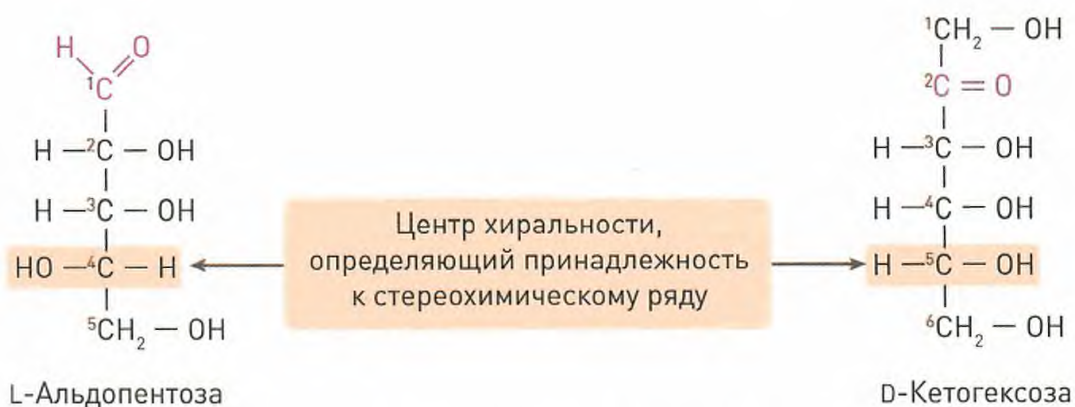
Для альдоз число хиральных атомов С будет равно общему числу атомов С за вычетом двух концевых атомов, а число возможных стереоизомеров равно  $2^{x-2}$ , где  $x$  — число атомов С. В молекуле альдопентозы таких центров три, следовательно, существует 8 ( $2^3$ ) стереоизомеров, у альдогексоз — 16 ( $2^4$ ) стереоизомеров. У кетоз на один хиральный центр меньше, чем у альдоз с такой же длиной углеродной цепочки, число стереоизомеров равно  $2^{x-3}$ , где  $x$  — число атомов С. Так, в молекуле кетопентозы два хиральных центра.



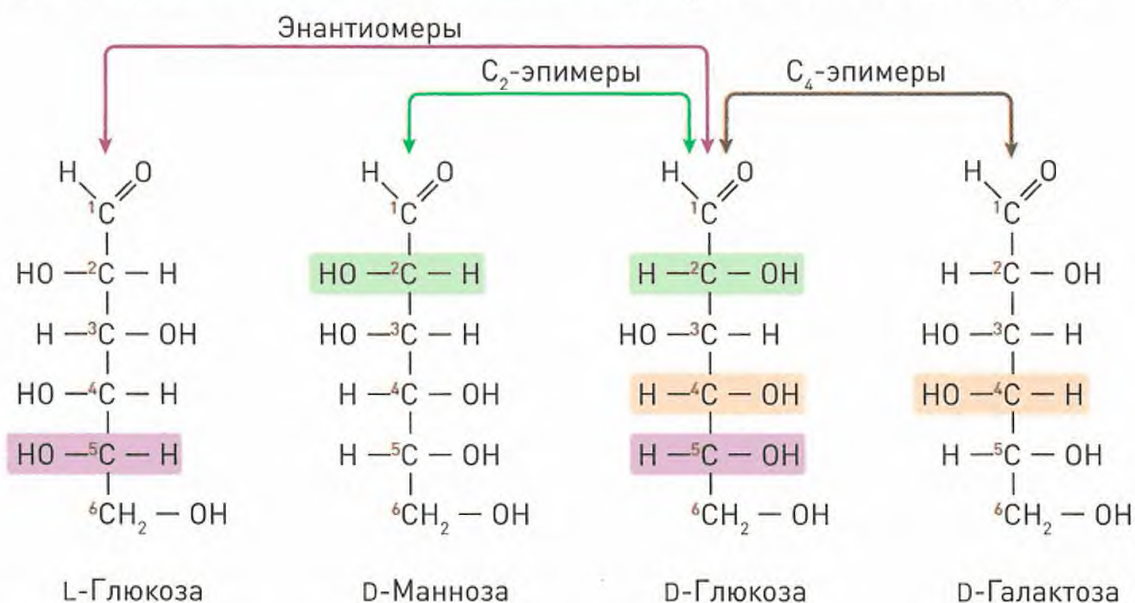
В растворе углеводы принимают различные конфигурации благодаря наличию асимметрических (хиральных) атомов углерода

В проекции Фишера цепь углеродных атомов располагается линейно вертикально. При этом атом  $\text{C}_1^*$  находится сверху, а  $-\text{OH}$ -группа при хиральном атоме углерода может быть расположена справа (D — dextro) или слева (L — levo) от углеродной цепи. При увеличении числа хиральных атомов каждый из них обладает собственной D- или L-конфигурацией в соответствии с расположением связанной с ним  $-\text{OH}$ -группы. Моносахарид относят к D-ряду, если наиболее удалённый от карбонильной группы хиральный атом С имеет D-конфигурацию, независимо от конфигурации остальных центров. Абсолютное большинство моносахаридов, встречающихся в живых системах, относится к D-ряду.

\* Атомы С в молекуле моносахарида нумеруются с того конца, ближе к которому находится старшая функциональная группа — карбонильная (формильная или кетонная).



Если два стереоизомера отличаются конфигурацией всех хиральных центров, то они относятся друг к другу как оригинал и его зеркальное отражение и называются *энантиомерами*. Например, энантиомерами являются D- и L-глюкоза, имеющие одинаковые химические свойства, но разные знаки оптического вращения. Если в структурах двух моносахаридов отличаются конфигурации не всех хиральных центров, то они не являются зеркальными отражениями друг друга и называются *диастереомерами*. Моносахариды, отличающиеся друг от друга конфигурацией только одного хирального центра, называются *эпимерами*. Так, D-манноза отличается от глюкозы по расположению заместителей у  $C_2$ , а D-галактоза — у  $C_4$ .

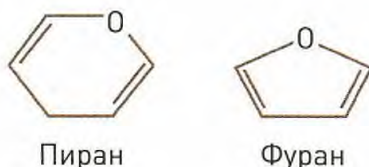


Наличие в молекуле хиральных центров делает моносахариды оптически активными соединениями, причём угол вращения плоскости поляризации плоскополяризованной электромагнитной волны является важным параметром для характеристики вещества. Однако, поскольку оптическая активность зависит от конфигурации заместителей у всех хиральных центров молекулы, то принадлежность моносахарида к D- или L-ряду ничего

не говорит о знаке вращения; он определяется эмпирически\*. Практически все ферменты, катализирующие реакции с участием углеводов, обладают стереоспецифичностью и используют в качестве субстратов только конкретные изомеры. Образно можно сказать, что включить неподходящий стереоизомер в активный центр фермента столь же сложно, как надеть левую перчатку на правую руку.

### Циклические формы моносахаридов

Благодаря тому что атом кислорода оттягивает электроны у атома углерода, карбонильная группа моносахаридов химически высокоактивна: она легко окисляется, восстанавливается, вступает в реакции с различными электроотрицательными группами. Внутри молекулы формильная группа может взаимодействовать со спиртовой группой с образованием так называемого *циклического полуацетала*. Кетонная группа соответственно может участвовать в формировании *циклического полукетала*. Молекула глюкозы (как и других моносахаридов, содержащих не менее пяти атомов С) может принимать клешневидную конформацию, и за счёт изгибания цепи атому углерода  $C_5$  (а в теории ещё  $C_4$  и  $C_6$ ) может «дотянуться» до карбонильного  $C_1$ . Это взаимодействие приводит к тому, что формируется связь  $C_5-O-C_1$  и замыкается кольцо — циклическая полуацетальная форма\*\*. Сахара с шестичленным циклом называются *пиранозами*, с пятичленным — *фуранозами*; их названия происходят от наименований родственных гетероциклических соединений — пирана и фурана. Фуранозный цикл у альдоз образуется при участии гидроксильной группы при  $C_4$ .

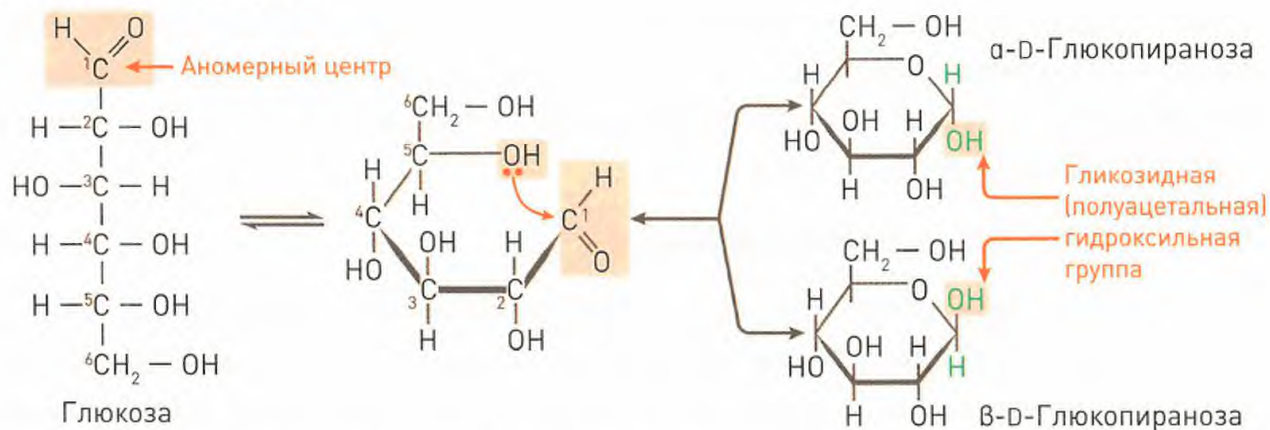


У атома  $C_1$  в циклической полуацетальной форме получается четыре различных заместителя, что неизбежно приводит к появлению нового асимметрического центра и ещё одной пары стереоизомеров, которые получили название  $\alpha$ - и  $\beta$ -форм. Пара таких стереоизомеров называется *аномерами*. Гидроксильная группа, образующаяся при  $C_1$  в результате

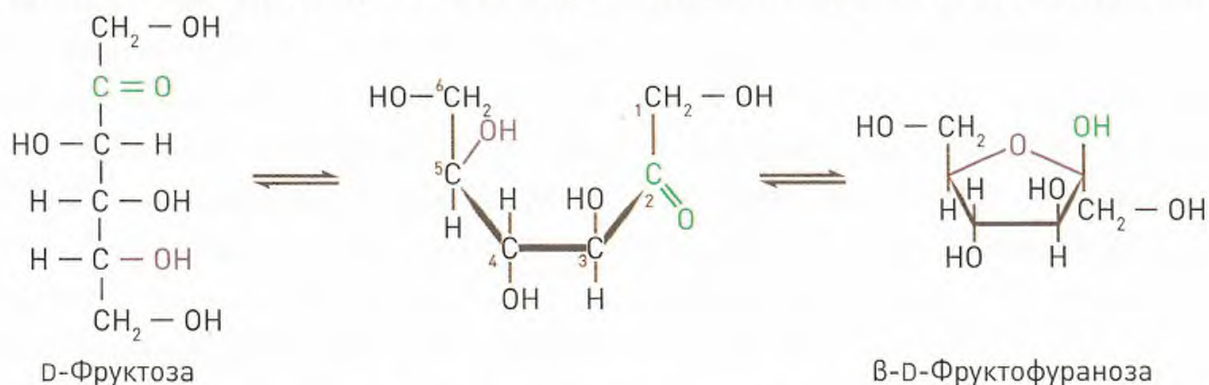
\* При необходимости обозначить знак вращения его указывают в скобках после обозначения конфигурации. Так, основной природный изомер глюкозы обозначают как *D (+)-глюкозу* (то есть она относится к *D*-ряду, вращение вправо), основной природный изомер фруктозы обозначают как *D (-)-фруктозу* (относится к *D*-ряду, вращение влево).

\*\* Впервые предположение о циклическом строении моносахаридов было выдвинуто российским химиком А.А. Колли (1840–1916) в 1870 г.

циклизации, называется полуацетальной или гликозидной, а сам атом  $C_1$  — *аномерным центром*.



Кетогексозы (например, фруктоза) также существуют в циклической форме и имеют  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеры. Они образуются при связывании гидроксильной группы у  $C_5$  или  $C_6$  с кетонной группой  $C_2$  с замыканием полуацетальной связи и формированием фуранозы или пиранозы соответственно.

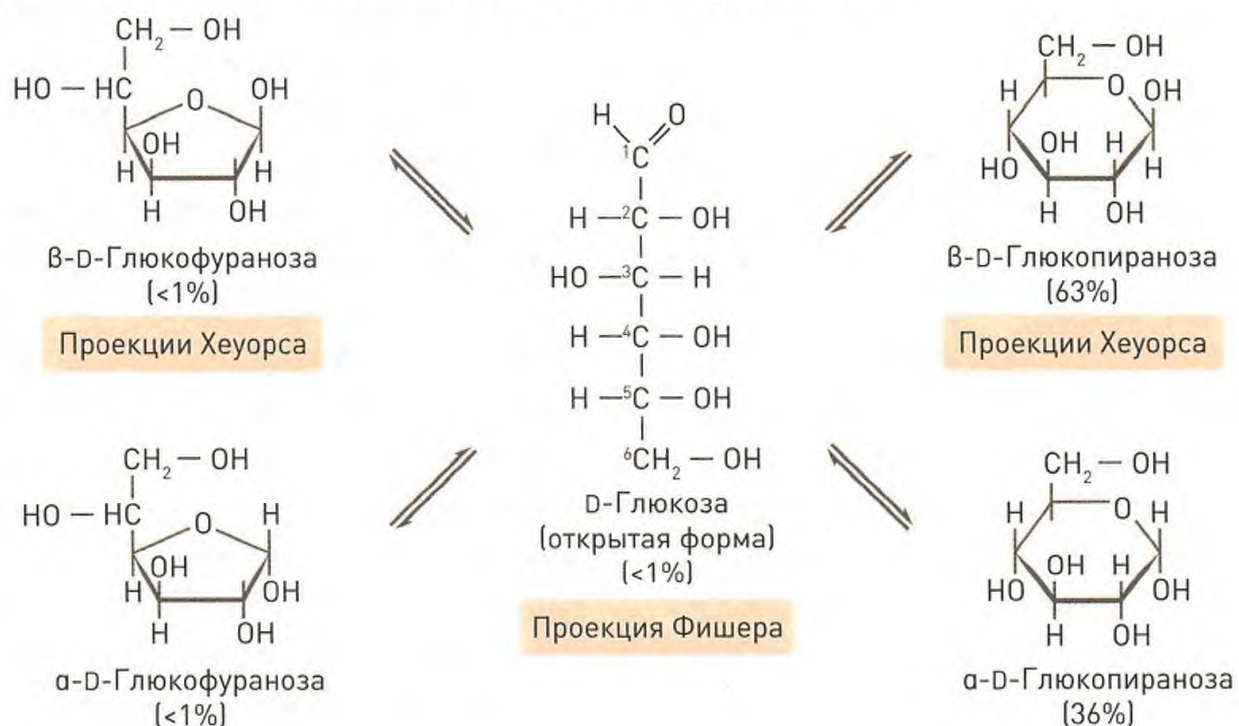


Большинству пентоз и гексоз образование пиранозного цикла наиболее энергетически и пространственно выгодно. В водном растворе глюкоза находится почти полностью (>98%) в пиранозной форме, фруктоза — 67% в виде фруктопиранозы и 33% фруктофуранозы, рибоза — 75% рибопиранозы и 25% рибофуранозы. При этом в состав полимеров рибоза и фруктоза включаются в фуранозной форме.

### Таутомерия моносахаридов

Поскольку связь  $C_5-O-C_1$  достаточно легко образуется и разрушается, линейная форма, а также  $\alpha$ - и  $\beta$ -циклические формы в растворе всегда находятся в динамическом (таутомерном) равновесии. Такой вид таутомерии называется *цикло-оксо-таутомерией*. В равновесном состоянии различные формы моносахаридов находятся не в равных соотношениях, а с преоб-

ладанием энергетически более устойчивых изомеров. Как было отмечено выше, циклические пиранозные (шестичленные) формы составляют более 98% всей глюкозы в растворе, линейная форма — около 1%, также всегда присутствует не более 1% других форм, например пятичленных фуранозных. При нарушении соотношения изомеров система возвращается в состояние равновесия, что сопровождается изменением угла вращения плоскости поляризации света. Например, величина угла оптического вращения  $[\alpha]_D^{20}$  для растворов  $\alpha$ -D-глюкопиранозы и  $\beta$ -D-глюкопиранозы составляет  $+112,2^\circ$  и  $+18,7^\circ$  соответственно. При растворении в воде любого из этих изомеров величина угла постепенно приходит в равновесное состояние  $[\alpha]_D^{20} = +52,7^\circ$ . Это явление называется *мутаротацией*.



Для клетки важно не абсолютное содержание изомеров в растворе, а возможность их быстрого превращения друг в друга. По мере расходования какого-либо изомера во внутриклеточных биохимических процессах благодаря мутаротации существует возможность быстрого восполнения его запасов. Поскольку переход из одной циклической формы в другую (например,  $\alpha$ -D-глюкопиранозы в  $\beta$ -D-глюкопиранозу) происходит через линейную (открытую) форму моносахарида, глюкоза в растворе может проявлять свойства альдегида, в том числе способность взаимодействовать с окислителями. Восстанавливающие свойства углеводов обусловлены наличием свободной полуацетальной (гликозидной) гидроксильной группы. Углеводы, содержащие свободную полуацетальную гидроксильную группу, называют *восстанавливающими*. В процессе химических превращений

она может окисляться до карбоксильной группы, в случае глюкозы — с образованием глюконовой кислоты. Способность восстанавливающих моносахаридов реагировать с окислителями (например, ионами  $\text{Cu}^{2+}$ ) длительное время использовалась в рутинной лабораторной диагностике сахарного диабета\*. Полуацетальные гидроксильные группы могут реагировать также со свободными аминогруппами (например, лизина) с образованием ковалентных связей. Так, глюкоза может взаимодействовать с гемоглобином с образованием гликированного гемоглобина.

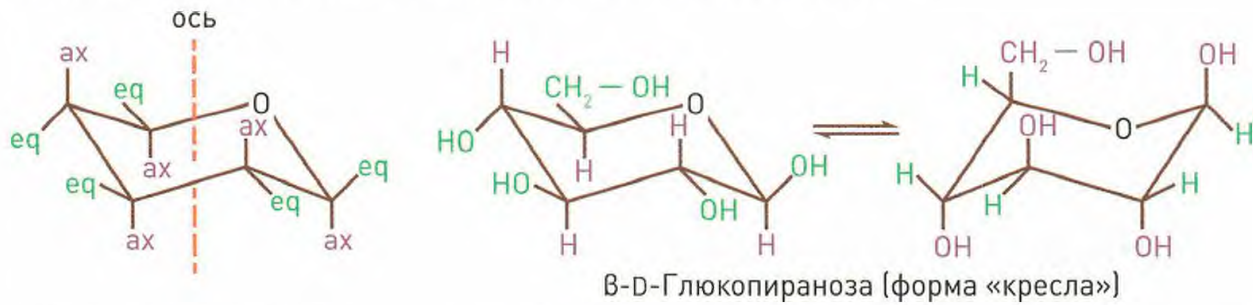
### **Пространственное строение моносахаридов**

Циклические формулы в проекции Хеуорса не вполне точно отражают реальное строение молекул моносахаридов: такого рода циклы не являются строго плоскими. Атомы кольца находятся в  $sp^3$ -гибридизации, при которой угол между связями у атома С составляет  $109,5^\circ$ . В то же время угол у правильного шестиугольника равен  $120^\circ$ . Возникающей в связи с этим напряжённостью удаётся избежать за счёт изменения плоскости, в которой лежат эти углы. Благодаря свободному вращению групп вокруг ординарных связей возникают различные конформации, из которых наиболее устойчивы две формы: так называемая форма «кресла» и форма «ванны». Для природных моносахаридов наиболее выгодна конформация, при которой цепь имеет зигзагообразный характер, поэтому форма «кресла» наиболее устойчивая и распространённая. В этой конфигурации атомы  $\text{C}_1$  и  $\text{C}_4$  лежат по разные стороны от плоскости, которую образуют оставшиеся в цикле атомы\*\*. В результате образуется структура с плоским четырёхугольником, через центр которого можно провести ось вращения. Функциональные группы, которые присоединены к атомам углерода, за счёт необходимости поддержания угла в  $109,5^\circ$  оказываются или параллельными условной оси вращения, или параллельными плоскости, образованной четырьмя атомами. Эти группы называют аксиальными (ax) и экваториальными (eq) соответственно. Экваториальное положение позволяет заместителям расположиться дальше друг от друга, поэтому крупные функциональные группы стремятся занять в первую очередь его. Расположение гидроксильных групп существенно влияет на их реакционную способность.

\* Реакция Фелинга: при наличии в моче или плазме крови восстанавливающего моносахарида (например, глюкозы) добавление сульфата меди (II) приводит к выпадению в осадок оксида меди  $\text{Cu}_2\text{O}$ . В настоящее время практически не применяется, используются более чувствительные ферментативные методы (глюкозооксидазный, гексокиназный и др.).

\*\* В форме «ванны» атомы  $\text{C}_1$  и  $\text{C}_4$  лежат по одну сторону от образованной плоскости центральной части кольца.

Так,  $-OH$ -группы пиранозы в экваториальном положении образуют эфирные связи существенно более активно, чем в аксиальном.



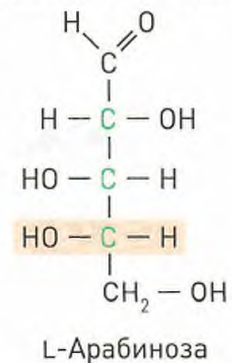
Существенный вклад в стабильность конформаций пираноз вносит так называемый *аномерный эффект* — диполь-дипольное взаимодействие электроотрицательного заместителя при  $C_1$  с неподелённой парой электронов атома кислорода цикла, в результате которого заместитель при  $C_1$  стремится принять аксиальное положение. Ещё один фактор, заметно влияющий на стабильность конформации, — так называемый  $\Delta_2$ -эффект: при аксиальном расположении гидроксильной группы при  $C_2$  и экваториальном расположении заместителя при  $C_1$  кислородные атомы двух таких группировок, а также кислорода цикла оказываются слишком близко, что приводит к их сильному отталкиванию.

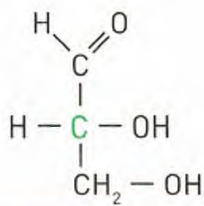
### Ряд альдоз

**Альдозы** — моносахариды, содержащие формильную группу в открытой форме. В циклической форме формильная группа может находиться в виде полуацетала. Присоединив к D-глицеральдегиду ещё одну  $-CH_2-$ группу, можно получить два эпимера: D-треозу и D-эритрозу. D-Эритроза в фосфорилированном виде является промежуточным соединением в пентозофосфатном пути окисления глюкозы.

Из альдопентоз в метаболизме клетки непосредственное участие принимают D-рибоза и D-ксилоза. Арабиноза — единственный углевод, встречающийся в клетках в L-форме. L-Арабиноза и D-ксилоза образуют один из вариантов гемицеллюлозы, которая заполняет промежутки между целлюлозными волокнами в клеточных стенках у растений. Кроме этого, L-арабиноза и D-ксилоза присутствуют в составе многих гликопротеинов и гликолипидов. В частности, D-ксилоза входит в состав «мостиков», присоединяющих углеводную часть гликопротеинов к белку.

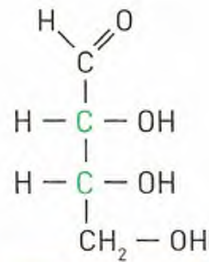
Альдогексозы D-глюкоза, D-манноза и D-галактоза относятся к наиболее распространённым моносахаридам живых систем.





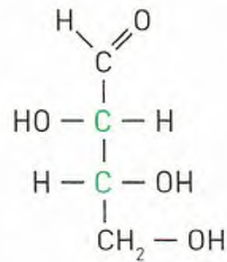
D-Глицеральдегид

C3



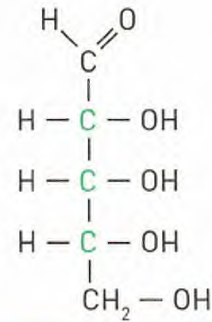
D-Эритроза

C4



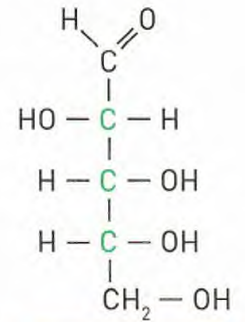
D-Треоза

C4



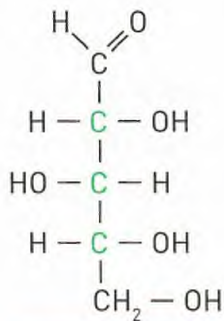
D-Рибоза

C5



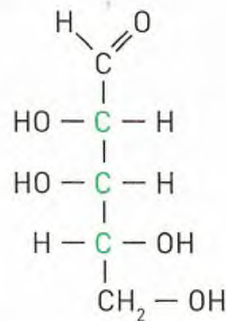
D-Арабиноза

C5



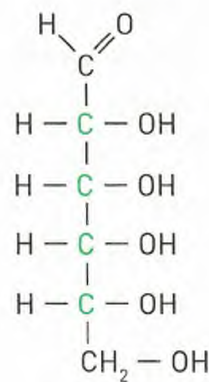
D-Ксилоза

C5



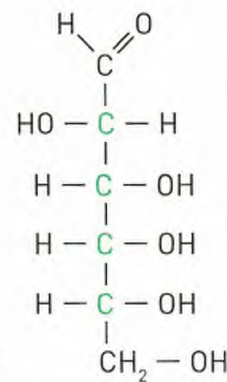
D-Ликсоза

C5



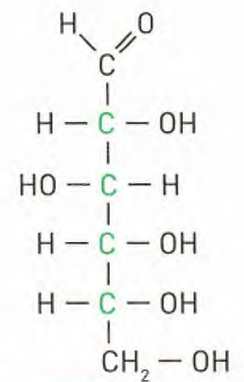
D-Аллоза

C6



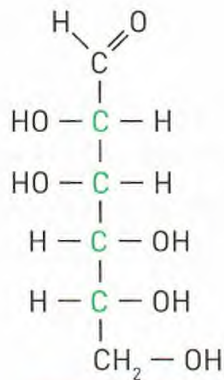
D-Альтроза

C6



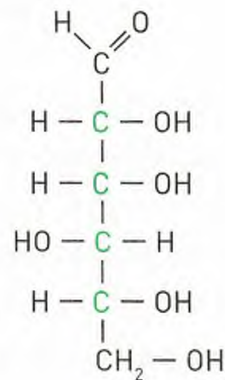
D-Глюкоза

C6



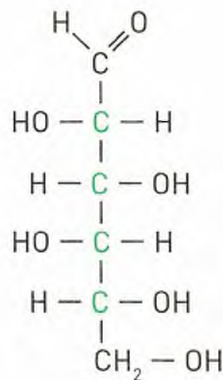
D-Манноза

C6



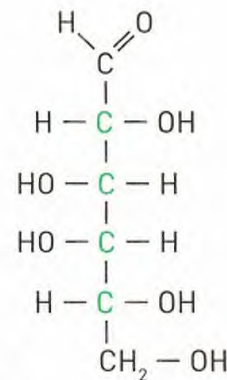
D-Гулоза

C6



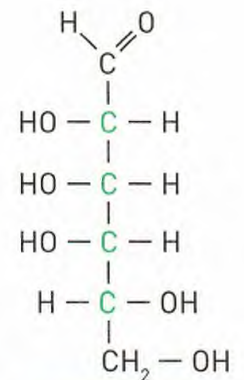
D-Идоза

C6



D-Галактоза

C6



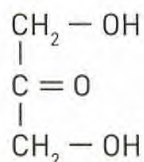
D-Талоза

C6

\* Заливкой выделены биологически наиболее значимые альдозы. Зелёным шрифтом выделены хиральные атомы C.

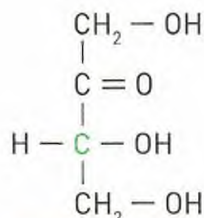
## Ряд кетоз

**Кетозы** — моносахариды, содержащие кетонную группу в открытой форме. В циклической форме кетонная группа может находиться в виде полукетала.



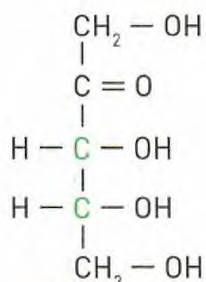
Диоксиацетон

C3



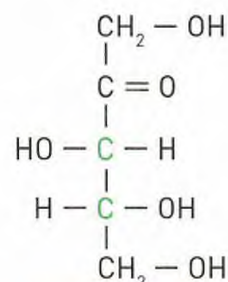
D-Эритрулоза

C4



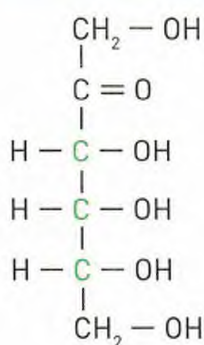
D-Рибулоза

C5



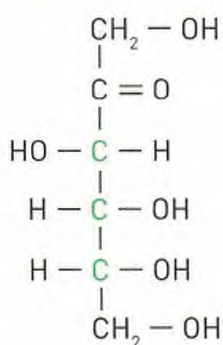
D-Ксилулоза

C5



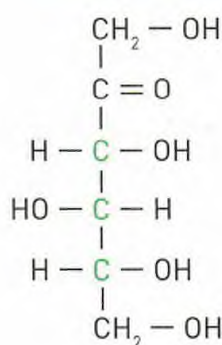
D-Псилоза

C6



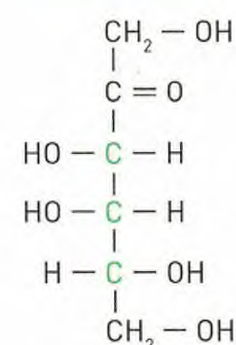
D-Фруктоза

C6



D-Сорбоза

C6



D-Тагатоза

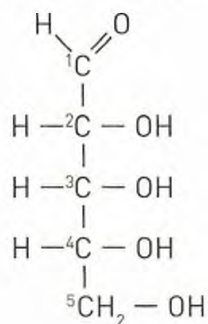
C6

Представители группы кетопентоз — D-рибулоза и D-ксилоза — играют важную роль в обмене веществ, в частности D-рибулоза является метаболитом пентозофосфатного пути. Однако в клетке они присутствуют только как промежуточные продукты метаболических путей, поэтому их внутриклеточная концентрация всегда минимальна. Из кетогексоз наибольшее значение имеет D-фруктоза.

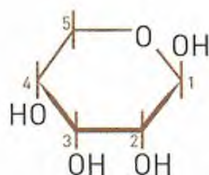
### D-Рибоза

D-Рибоза в растворе существует как в линейной, так и в циклических (фуранозных и пиранозных) формах. В физиологических условиях около 75% молекул D-рибозы существует в пиранозной форме (соотношение α- и β-эпимеров = 1:3), около 25% — в фуранозной форме (соотношение α- и β-эпимеров = 1:2), около 0,1% — в циклической форме. В свободном виде в клетках D-рибоза практически не встречается, сразу включаясь в состав

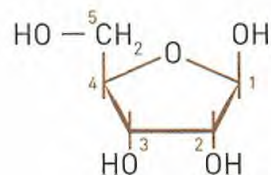
более сложных соединений. Так, в виде β-D-рибофуранозы она находится в составе нуклеотидов и нуклеиновых кислот, кофермента А, НАД, НАДФ, ФАД. Циклические АМФ и ГМФ, содержащие остаток рибозы, участвуют во внутриклеточных механизмах передачи сигнала. Химические структуры некоторых лекарственных препаратов (например, антибактериального препарата неомицина) также включают остаток рибозы.



D-Рибоза



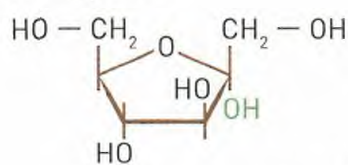
β-D-Рибопираноза



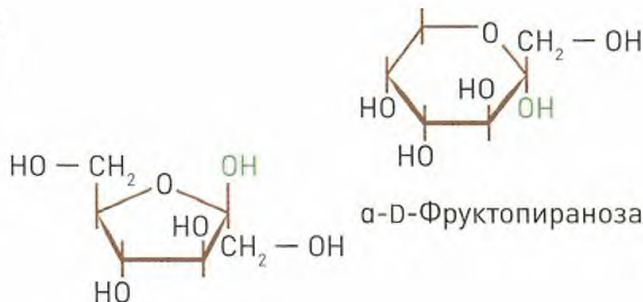
β-D-Рибофураноза

### D-Фруктоза

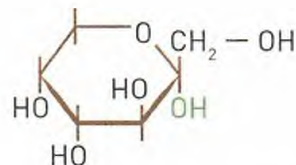
**Фруктоза** — кетогексоза, может формировать как пиранозное, так и фуранозное кольцо. В растворе фруктозы преобладают пиранозные формы, а в состав олиго- или полисахаридов (сахароза, инулин) фруктоза входит в виде фруктофуранозы. D-Фруктоза (плодовый сахар), подобно D-глюкозе, содержится в плодах растений, корнеплодах, мёде\*. Наряду с глюкозой и галактозой фруктоза является одним из трёх наиболее важных пищевых моносахаридов, усваивающихся в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) человека. Избыточное потребление фруктозы может способствовать формированию инсулинорезистентности, ожирения, повышению уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и метаболического синдрома.



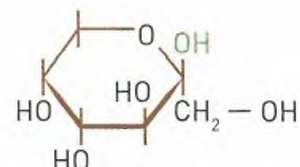
α-D-Фруктофураноза



β-D-Фруктофураноза



α-D-Фруктопираноза

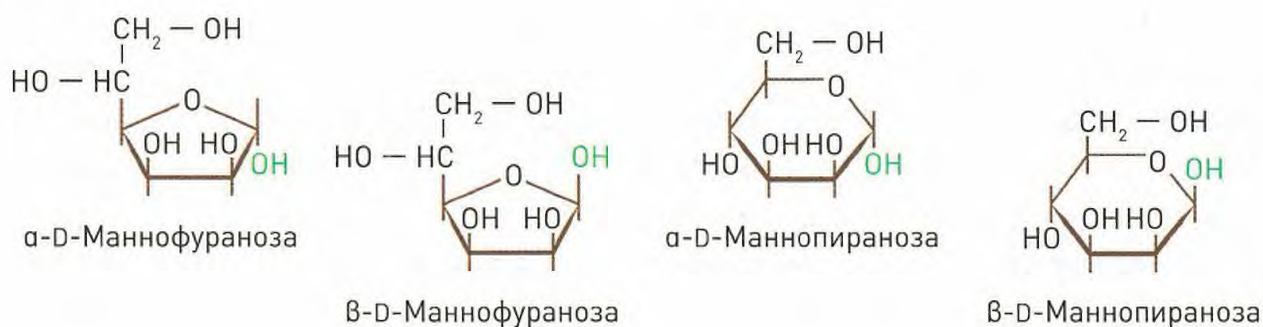


β-D-Фруктопираноза

\* β-D-Фруктопираноза, выделенная из мёда, является одним из наиболее сладких известных веществ. β-D-Фруктофураноза — на порядок менее сладкая. При нагревании пиранозная форма изомеризуется в фуранозную, поэтому сиропы с высоким содержанием фруктозы могут использоваться как подсластители только в холодных напитках.

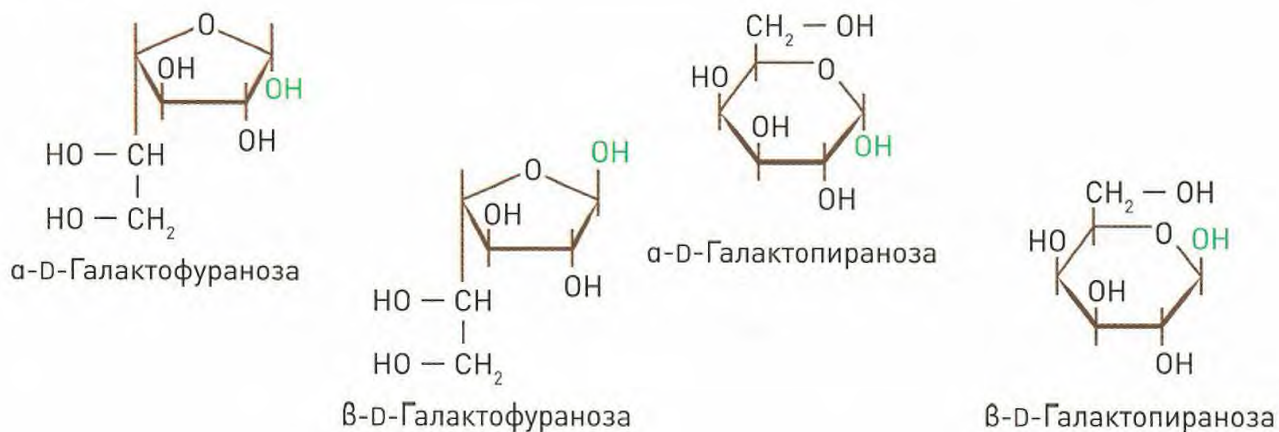
## D-Манноза

**D-Манноза** — альдогексоза, существует как в фуранозной, так и в пиранозной форме. В растворе из изомеров преобладает  $\alpha$ -D-маннопираноза (67%). D-Манноза довольно редко встречается в свободном состоянии, служит компонентом многих полисахаридов и смешанных биополимеров растительного, животного и бактериального происхождения. Активно участвует в гликозилировании белков, входит в состав полисахаридов (маннанов) и гликопротеинов. В организме человека метаболизируется неактивно, но через ряд промежуточных метаболитов (маннозо-6-фосфат  $\rightarrow$  фруктозо-6-фосфат) может превращаться во фруктозу и глюкозу.



## D-Галактоза

**Галактоза** — альдогексоза, существующая как в открытой, так и в циклической форме (фураноза и пираноза). Вместе с D-глюкозой образует дисахарид лактозу. Наряду с глюкозой и фруктозой усваивается человеком из пищи. В организме человека галактоза в большей степени, чем глюкоза, склонна участвовать в неферментативных реакциях гликирования. Входит в состав антигенов, определяющих принадлежность групп крови по системе ABO.



## D-Глюкоза

Глюкоза (декстроза, виноградный сахар) — самый распространённый в живой природе моносахарид, образуется клетками растений и водорослей из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в процессе фотосинтеза. В растворах в физиологических условиях стремится принять пиранозную циклическую форму. Глюкоза является непосредственным источником энергии во внутриклеточных катаболических процессах, а также «строительным материалом» для создания структурных полимеров растений — целлюлозы и других. В свободном виде она встречается в растениях, особенно плодах, в крови и лимфе человека и животных. В клетках человека глюкоза депонируется в виде гликогена.

Концентрация глюкозы в плазме крови является одним из важных биохимических параметров, которые должны удерживаться в относительно небольшом диапазоне нормальных значений: от 3,3–5,5 ммоль/л у детей до 14 лет и 4,1–6,1 ммоль/л у пациентов старше 14 лет\*. В организме человека существует множество механизмов, прежде всего гормональных, позволяющих поддерживать концентрацию глюкозы на уровне, достаточном для снабжения ею зависимых органов и тканей, прежде всего головного мозга.

Определение концентрации глюкозы плазмы крови имеет исключительно важное значение для диагностики заболеваний, сопровождающихся нарушениями углеводного обмена. Поскольку уровень глюкозы плазмы крови зависит от времени, прошедшего после приёма пищи, физической нагрузки и других факторов, однократное измерение концентрации глюкозы может «не поймать» период гипо- или гипергликемии и поэтому не всегда информативно для диагностики сахарного диабета и других патологических состояний. Для получения более достоверной картины используют:

- определение концентрации глюкозы в плазме крови натощак;
- определение концентрации глюкозы в динамике после гликемической нагрузки (приём глюкозы внутрь);
- определение концентрации гликированного гемоглобина ( $\text{HbA}_{1c}$ ).

Первые два подхода позволяют исключить неопределённость в колебаниях уровня так называемой «пищевой» (полученной с пищей) глюкозы. Последний диагностический тест характеризует длительность периодов гипергликемии в течение последних нескольких недель или даже месяцев.

\* Показатели указаны для венозной крови. В капиллярной крови концентрация глюкозы натощак у человека старше 14 лет не должна превышать 5,6 ммоль/л.



Определение уровня глюкозы в плазме или сыворотке крови используют для выявления гипер- и гипогликемии. В первую очередь оценка уровня глюкозы важна для диагностики и последующего мониторинга сахарного диабета, а также других заболеваний, связанных с нарушением углеводного обмена. Наиболее часто используется определение уровня глюкозы в крови натощак (8–10 ч голодания). Для подтверждения диагноза сахарного диабета необходимо как минимум два независимых анализа концентрации глюкозы плазмы крови натощак.

В лабораторных условиях глюкоза может быть определена в цельной крови, сыворотке или плазме крови (последнее предпочтительнее). При трактовке результатов исследования полезно учитывать следующее: глюкоза свободно проникает в эритроциты, но концентрация её в плазме крови примерно на 11–14% выше, чем в цельной крови, вследствие разного содержания воды в плазме и форменных элементах крови. Цельная венозная кровь содержит меньше глюкозы, чем капиллярная кровь (из пальца), вследствие утилизации глюкозы в тканях. Это различие незначительно при взятии крови натощак (разница около 0,1 ммоль/л), но заметно увеличивается после приёма пищи (разница около 15%) или при проведении перорального глюкозотолерантного теста (разница 20–25%) — вследствие эффекта выброса инсулина.



Гипогликемия — патологическое состояние, характеризующееся снижением концентрации глюкозы в плазме крови менее 3,3 ммоль/л. Гипогликемия может быть следствием нарушений питания (длительное голодание или синдром мальабсорбции), алкогольной интоксикации, а также ряда заболеваний: патологии поджелудочной железы (инсулинома или недостаточность  $\alpha$ -клеток островков Лангерганса), болезни Аддисона, адреногенитального синдрома, гипотиреоза, тяжёлых болезней печени (цирроз, острый гепатит), наследственных нарушений обмена (болезнь Гирке, галактоземия, нарушенная толерантность к фруктозе). У больных сахарным диабетом гипогликемия может развиваться в результате передозировки инсулина или других гипогликемических препаратов.

Острая гипогликемия опасна в первую очередь для нейронов, которые особенно чувствительны к дефициту глюкозы в плазме крови. Гипогликемия может проявляться нарушением работы вегетативной нервной системы: повышенной потливостью, тремором, бледностью кожного покрова, чувством голода, тошнотой или тахикардией. Возможны снижение способности к концентрации внимания, дезориентация, головокружение, нарушение координации движений, расстройства зрения («двоение» в глазах), а также различные другие неврологические расстройства, вплоть до потери сознания и комы.



Гипергликемия — увеличение содержания глюкозы в сыворотке крови выше 6 ммоль/л. Лёгкая гипергликемия (6,7–8,2 ммоль/л) развивается после приёма пищи и, как правило, быстро проходит в связи с выбросом инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы. Тяжёлой считается гипергликемия  $>11,1$  ммоль/л, при уровне глюкозы плазмы крови  $>16,5$  ммоль/л может развиться прекома,  $>33$  ммоль/л — гиперосмолярная кома. Физиологическая гипергликемия возможна при умеренной физической нагрузке, стрессе, яркой эмоциональной реакции. Эпизодами гипергликемии также сопровождается ряд заболеваний, в первую очередь сахарный диабет, а также феохромоцитома, тиреотоксикоз, акромегалия, синдром Иценко–Кушинга, заболевания поджелудочной железы (панкреатит, муковисцидоз).

Признаками острой или хронической гипергликемии являются полидипсия (чрезмерная жажда), полиурия (частое мочеиспускание), сухость во рту. Острая гипергликемия также может проявляться кетоацидозом, нарушением сознания и обезвоживанием.



Пероральный глюкозотолерантный тест заключается в определении уровня глюкозы плазмы крови натощак и каждые 30 мин (30, 60, 90, 120 мин) после углеводной нагрузки в целях диагностики различных нарушений углеводного обмена. Тесту должно предшествовать ночное голодание в течение 8–14 ч. Последний вечерний приём пищи должен содержать 30–50 г углеводов. Если уровень глюкозы крови натощак превышает 7,0 ммоль/л, пероральный глюкозотолерантный тест проводить нельзя.

После взятия крови натощак испытуемый должен не более чем за 5 мин выпить 75 г глюкозы, растворённой в 250–300 мл воды. Для детей нагрузка составляет 1,75 г/кг, при массе ребёнка 43 кг и выше используют обычную дозу 75 г. В процессе теста не разрешается активная физическая нагрузка. Взятие крови проводят каждые 30 мин (30, 60, 90, 120 мин) с последующим построением гликемической кривой.

Полученные через 2 ч (120 мин) после приёма глюкозы значения можно интерпретировать следующим образом:  $<7,8$  ммоль/л — нормальные значения; 7,8–11,1 ммоль/л — нарушение толерантности к глюкозе;  $>11,1$  ммоль/л — вероятный сахарный диабет.





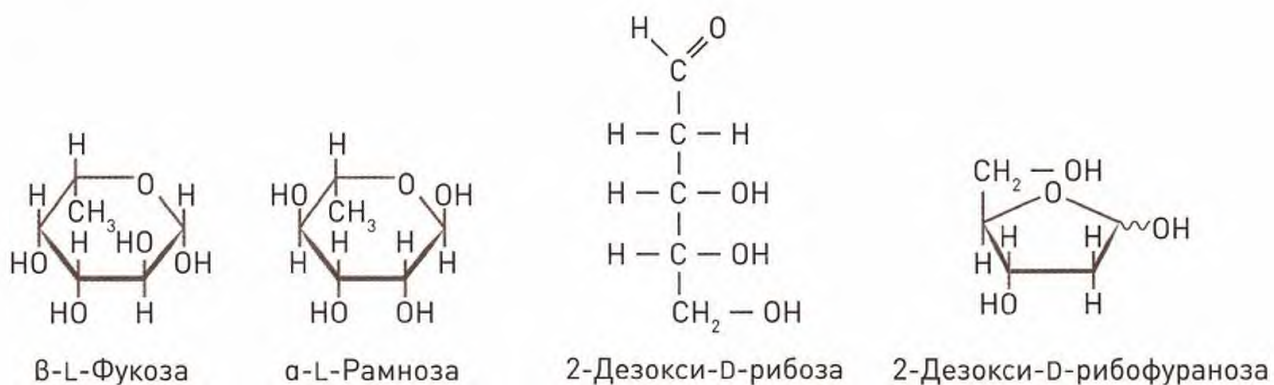
Раствор глюкозы, 5 или 10%, используют в качестве источника углеводов (отдельно или как часть парентерального питания), для регидратации в случае потери жидкости, особенно у пациентов с высокой потребностью в углеводах, для разведения вводимых парентерально лекарственных препаратов. 20% раствор глюкозы также используют для профилактики и лечения гипогликемии.

## Производные моносахаридов

Углеводы активно участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, а также различных реакциях обмена, в результате которых к ним присоединяются функциональные группы: чаще на место гидроксильной, иногда на место карбонильной группы.

### Дезоксисахара

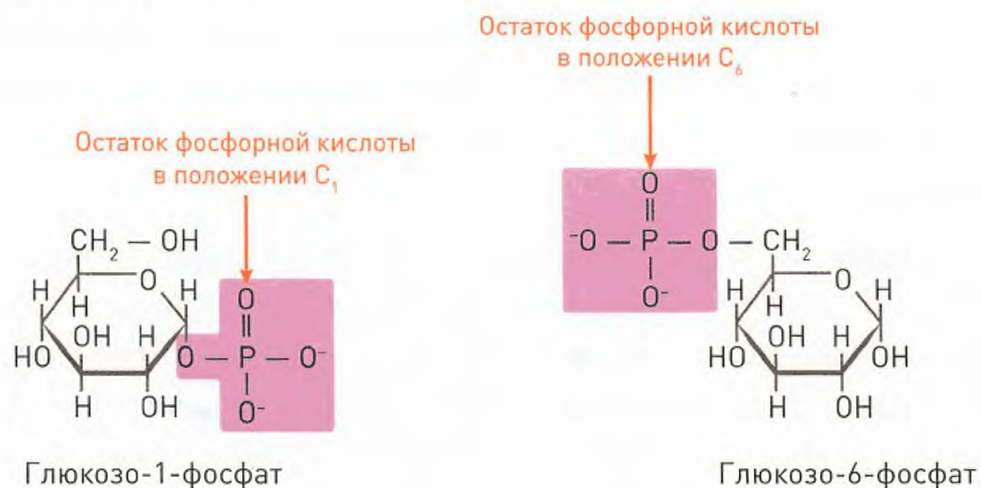
Дезоксисахара — моносахариды, в которых одна или несколько гидроксильных групп заменены атомами водорода. Важнейшим представителем дезоксисахаров является 2-дезоксид-Д-рибоза\*, которая входит в фуранозной форме в состав ДНК. Весьма распространены и различные 6-дезоксигексозы, которые встречаются в животных и растительных гликозидах и полисахаридах, гликолипидах и антибиотиках. К этим соединениям относятся хиновоза (6-дезоксиглюкоза), рамноза (6-дезоксиманноза), фукоза (6-дезоксигалактоза). 2,6-Дидезоксигексозы и их метиловые эфиры входят в состав сердечных гликозидов (препаратов наперстянки).



\* В свободном виде 2-дезоксид-Д-рибоза в клетке практически не встречается. Рибоза восстанавливается до дезоксирибозы уже в составе нуклеотидов, которые затем включаются в ДНК.

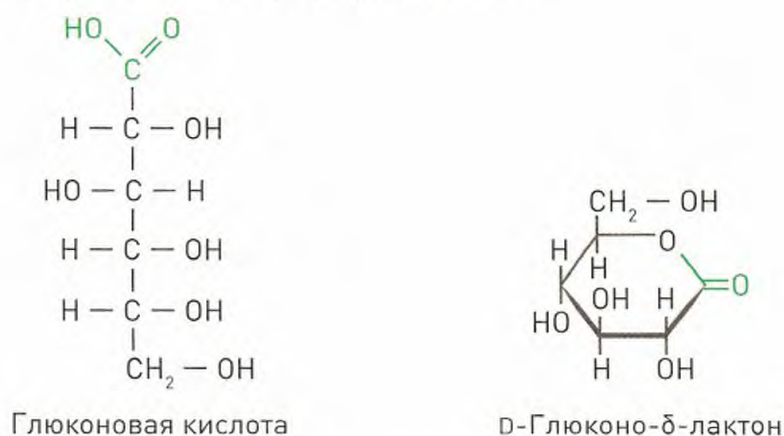
## Фосфорилированные моносахариды

Глюкоза, фруктоза и другие моносахариды используются в метаболических превращениях в клетке в фосфорилированной форме. Присоединение остатка фосфорной кислоты к одной из гидроксильных групп приводит к образованию фосфатного эфира, например глюкозо-6-фосфата. Фосфорилированные моносахариды стабильны при нейтральных значениях pH, несут отрицательный заряд и не могут проникать через клеточные мембраны. Таким образом, фосфорилирование глюкозы как бы «запирает» её в клетке.



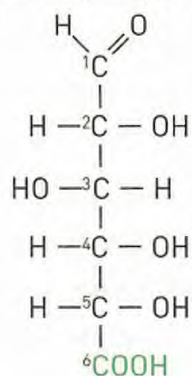
## Сахарные кислоты

Формильные группы углеводов достаточно легко окисляются с образованием карбоксильной группы и сахарных кислот. Окисление  $C_1$  в линейных альдозах приводит к образованию альдоновой кислоты, например в случае глюкозы образуется глюконовая кислота. При окислении  $C_1$  в циклической форме глюкозы образуется глюконолактон, несущий внутримолекулярную сложноэфирную связь.

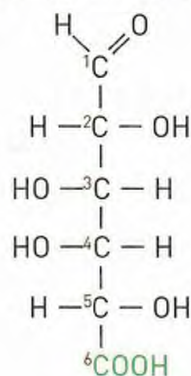


## Уроновые кислоты

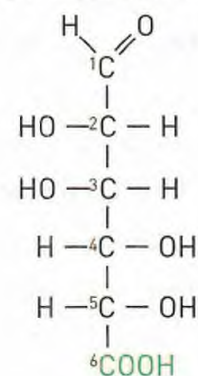
При окислении последней –ОН-группы гексоз образуются уроновые кислоты. В молекулах уроновых кислот гидроксильная группа у C<sub>6</sub> заменена на карбоксильную, например глюкуроновая, галактуроновая, идуроновая кислоты. Как и моносахариды, уроновые кислоты могут находиться в линейной, пиранозной циклической или фуранозной циклической формах.



D-Глюкуроновая кислота



D-Галактуроновая кислота



D-Маннуроновая кислота

Уроновые кислоты в большом количестве входят в состав различных биополимеров, в частности протеогликанов матрикса соединительной ткани (мукополисахаридов). D-Глюкуроновая и L-идуроновая кислоты являются структурными единицами гепарина. Остатки глюкуроновой кислоты присоединяются в гепатоцитах к различным гидрофобным соединениям, которые попадают в организм с пищей, что делает их более водорастворимыми и способствует их выведению с мочой. Этот путь важен для удаления токсичных веществ и так называемых ксенобиотиков.

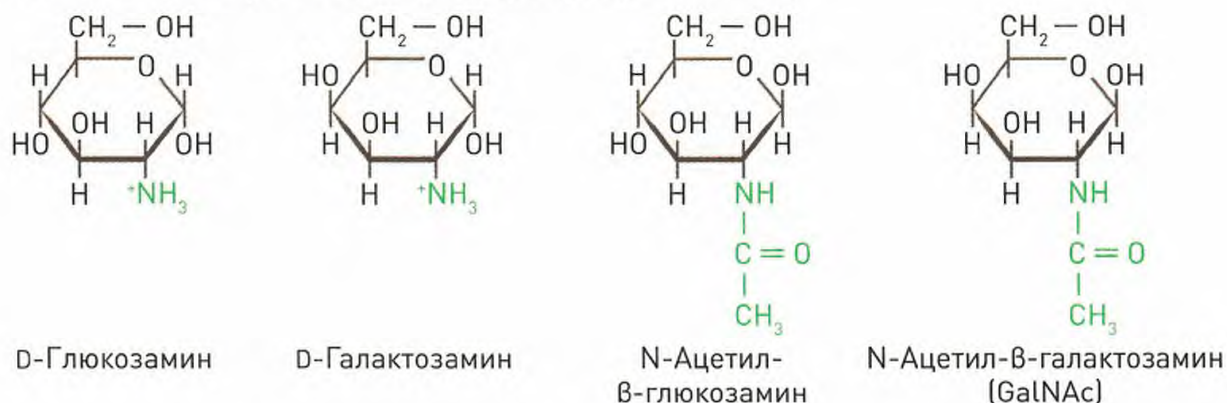
D-Глюкуроновая кислота входит в состав многочисленных растительных гликозидов (глюкуронидов), например тритерпеновых сапонинов, а также встречается в ряде растительных и бактериальных полисахаридов. D-Галактуроновая кислота входит в состав растительных полиуронидов (пектиновые вещества), а D-маннуроновая и D-гулуроновая содержатся в альгиновой кислоте (полисахарид бурых водорослей). Уроновые кислоты активно образуют лактоны.

## Аминосакхара

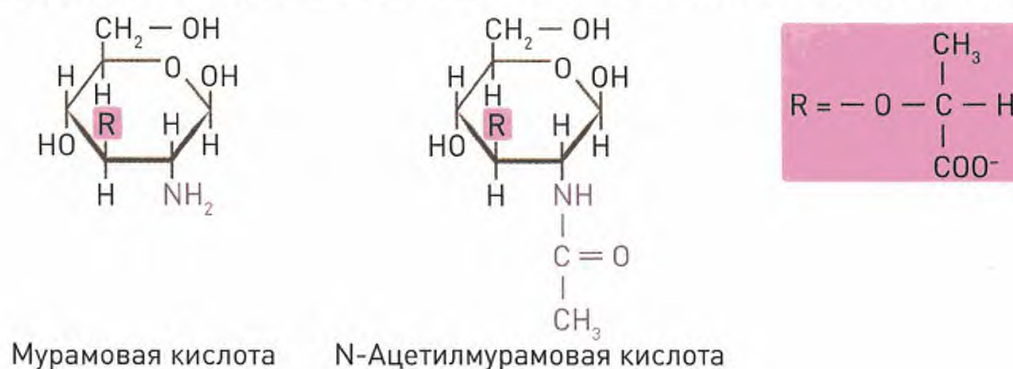
*Аминосакхара* — производные моносахаридов, содержащие аминогруппы. Например, глюкозамин или галактозамин входит в состав гетерополисахаридов.

Аминогруппа в составе аминсахаров может ацетилироваться остатками уксусной кислоты. Ацетилирование аминогруппы нейтрализует её основные свойства, а образовавшаяся амидная группа активно участвует в образо-

вании водородных связей (как внутри полимера, так и межмолекулярных). N-Ацетилглюкозамин в составе гомополимера хитина формирует скелет насекомых и ракообразных, а у бактерий наряду с N-ацетилмурамовой кислотой является компонентом клеточной стенки. У млекопитающих N-ацетилглюкозамин входит в состав мукополисахаридов соединительной ткани (гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфатов, гепарина), группоспецифических антигенов крови и других гликопротеинов. Остаток N-ацетилглюкозамина, находящийся на восстанавливающем конце N-гликозидных углеводных цепей животных гликопротеинов, способен образовывать связь с белками. Аналогичную роль, но в O-гликозидных цепях, выполняет N-ацетилгалактозамин, входящий в состав как гликопротеинов, так и гликолипидов. Как и N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин входит в состав детерминантных углеводных компонентов группоспецифических антигенов крови. Аминосахара являются структурными компонентами ряда антибактериальных препаратов (например, эритромицина).

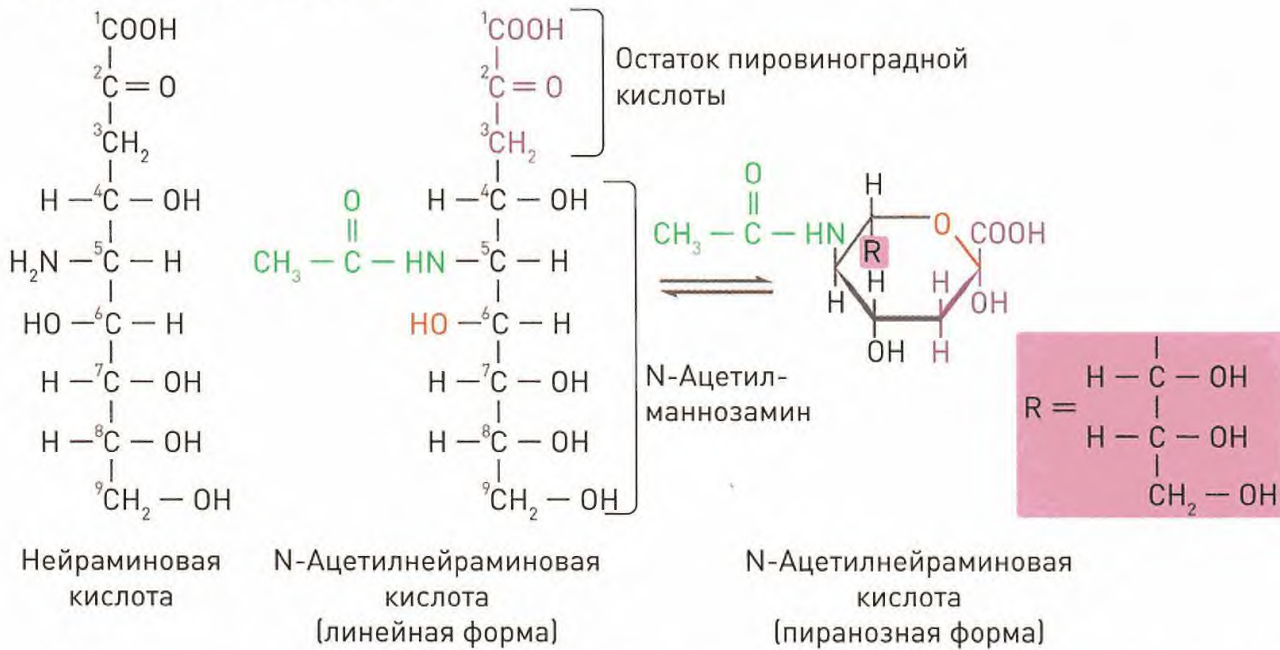


*Мурамовая кислота* представляет собой глюкозамин, у которого на C<sub>3</sub> вместо -ОН-группы расположен остаток молочной кислоты. Это специфичное для прокариот соединение, входящее в состав муреина (пептидогликана клеточных стенок бактерий). Остаток молочной кислоты несёт отрицательный заряд, который способствует образованию связей моносахаридных остатков муреина с аминокислотными остатками различных пептидов. Последние, в свою очередь, образуют поперечные шивки в полисахаридных молекулах.



## Сиаловые кислоты

Сиаловые кислоты — N- или O-ацилированные производные нейраминной кислоты. В молекулу нейраминной кислоты C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> и C<sub>3</sub> попадают из присоединённого пирувата; C<sub>1</sub> находится в составе карбоксильной группы, дающей отрицательный заряд. Кетонная группа из пирувата ведёт себя как типичная кетонная группа в сахаре, участвуя в замыкании кольца. Углеводный хвост (от C<sub>4</sub> до C<sub>9</sub>) указывает на то, что нейраминная кислота является производным маннозы.



Сиаловые кислоты наряду с аминасахарами входят в состав животных гликопротеинов и гликолипидов (ганглиозидов), олигосахаридов молока. В свободном виде сиаловые кислоты могут обнаруживаться в спинно-мозговой жидкости, но чаще они расположены в составе олигосахаридных цепей смешанных биополимеров.



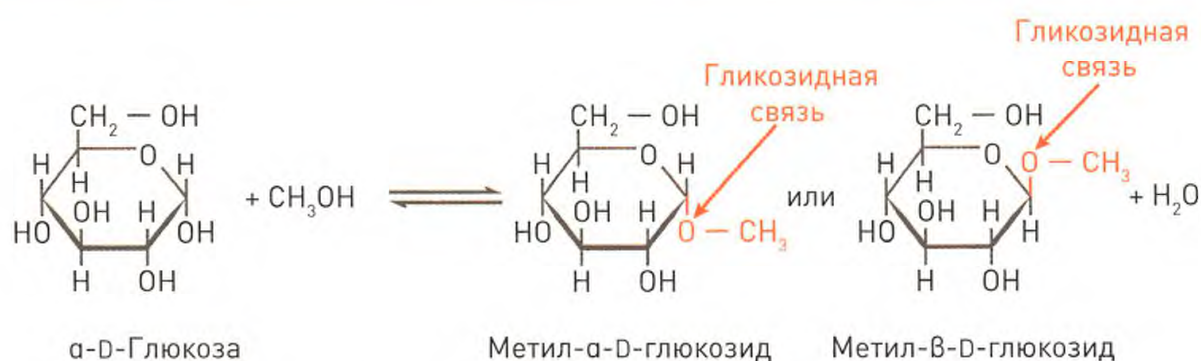
Находясь на невосстанавливаемом конце олигосахаридных цепей гликолипидов и гликопротеинов, сиаловые кислоты маскируют антигенные детерминанты биополимера и придают ему отрицательный заряд. Наличие сиаловых кислот на концах олигосахаридных цепей животных гликопротеинов обеспечивает возможность циркуляции последних в кровотоке, предотвращая захват их клетками печени. Находясь на мембране животных клеток, сиаловые кислоты во многом определяют свойства клеточной поверхности. В процессе озлокачествления клетки количество остатков сиаловых кислот на её поверхности увеличивается, и поверхность клетки приобретает более выраженный отрицательный заряд, чем у нормальной клетки.

## Гликозидная связь

Ацетальная (аномерная, гликозильная) гидроксильная группа, которая образуется в циклических формах моносахаридов, может присоединять другую гидроксильную группу с отщеплением воды и образованием ацетала. В отличие от образования полуацетала, эта реакция межмолекулярная. Вторым реагентом может быть любое соединение, несущее электроотрицательный атом (спирты, аминогруппы, иминогруппы, атомы N в середине углеродной цепочки и имеющие одну валентность, занятую водородом, атомы N ароматических и других циклических соединений). Так, при присоединении к ацетальной гидроксильной группе метанола можно получить метильное производное.



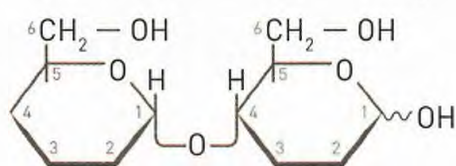
Гликозидная связь — ковалентная связь между ацетальной гидроксильной группой циклической формы моносахарида и функциональной группой любого другого соединения



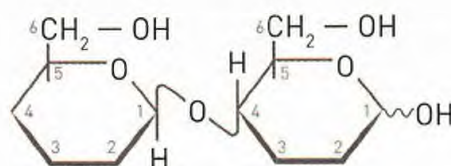
Наиболее распространена O-гликозидная связь (через атом O), которая соединяет молекулу углевода с белками в составе гликопротеинов. Существуют также N-гликозидные связи (через атом N), связывающие например, азотистые основания с пентозой. Менее распространены S-гликозиды, которые встречаются у растений (например, крестоцветных).



O-Гликозидная связь используется для соединения остатков моносахаридов в полимеры углеводов: олиго- и полисахаридов. В обозначении гликозидной связи между моносахаридными звеньями следует указывать конфигурацию гликозидной связи ( $\alpha$  или  $\beta$ ) и порядковые номера гидроксильных групп, которые её образуют. Например,  $\alpha$ 1,6-гликозидная связь в составе изомальтозы означает, что один остаток глюкозы (D-глюкопиранозы) через  $C_1$  связан  $\alpha$ -гликозидной связью с гидроксильной группой при  $C_6$  другого остатка глюкозы (D-глюкопиранозы).



$\alpha$ 1,4-Гликозидная связь



$\beta$ 1,4-Гликозидная связь

**Гликозиды** — обширный класс соединений, молекулы которых состоят из двух частей: углеводного остатка и неуглеводного фрагмента (агликона). В качестве гликозидов в более общем смысле могут рассматриваться и углеводы, состоящие из двух или более моносахаридных остатков. Агликоном может быть любое вещество неуглеводной природы, например метанол, глицерол, стерол, фенол. Иначе гликозиды можно назвать ацетальными производными формильных и кетонных групп углеводов.

Особенно широко гликозиды представлены в растениях: в их число входят пигменты цветов, ароматические вещества, многие природные красители, стимуляторы сердечной деятельности. Пигменты цветов, как правило, представляют собой D-гликозиды, у которых агликоном являются флавоны, флавононы, флавонолы или изофлавоны. В роли агликонов других растительных гликозидов могут выступать фенолы, енолы, циангидрины, изотиоцианаты, кумарины, стероиды. Углеводная часть чаще всего представлена D-глюкозой, реже D- и L-галактозой, D-маннозой, D-фруктозой, L-рамнозой. Широкую известность получили так называемые сердечные гликозиды — соединения, способные стимулировать сердечную деятельность.



*Сердечные гликозиды — группа лекарственных средств растительного происхождения (препараты наперстянки, строфанта, ландыша майского, горицвета весеннего), оказывающих в терапевтических дозах кардиотоническое и антиаритмическое действие, используются для лечения сердечной недостаточности разной этиологии и повышения работоспособности миокарда. Структуры агликонов большинства сердечных гликозидов весьма сходны — они представляют собой сложные лактоны стероидной природы, состоящие из стероидной (циклопентанпергидрофенантроновой) структуры, связанной с ненасыщенным лактонным кольцом. Гликон может быть представлен разными сахарами: D-дигитоксозой, D-глюкозой, D-цимарозой, D-рамнозой и др. Типично для сердечных гликозидов присутствие дезоксисахара.*

Широко представлены гликозиды-антибиотики (например, стрептомицин). Гликолипиды организма человека — ганглиозиды и цереброзиды — также относятся к гликозидам.

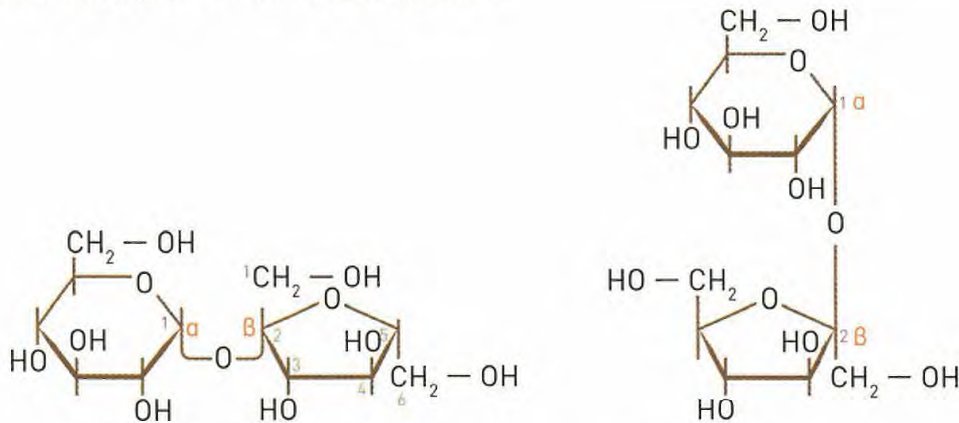
## Дисахариды

**Дисахариды** — углеводы, которые при гидролизе дают две одинаковые или две различные молекулы моносахаридов и связаны друг с другом O-гликозидной связью. С химической точки зрения дисахариды представляют собой O-гликозиды (полные ацетали), в которых один из моносахаридных остатков находится на месте агликона. В образовании гликозидной связи дисахаридов могут участвовать:

- либо полуацетальная гидроксильная группа одного и любая гидроксильная группа (кроме полуацетальной) другого моносахарида;
- либо полуацетальные гидроксильные группы обоих моносахаридов.

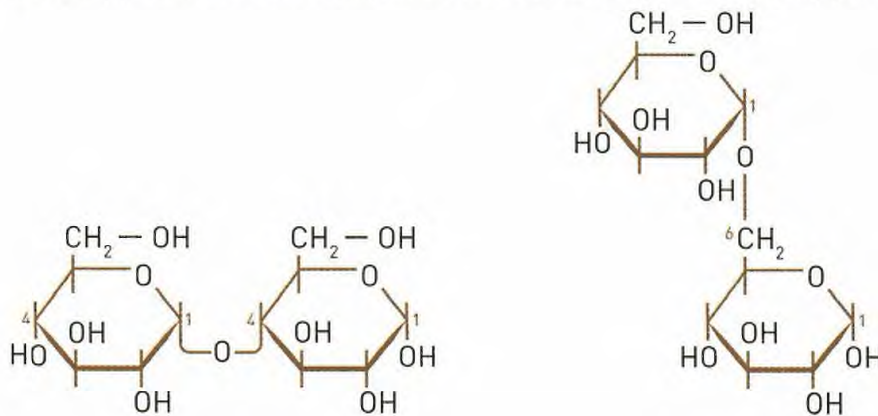
Если один из концевых моносахаридных остатков содержит свободную полуацетальную гидроксильную группу (не участвующую в образовании гликозидной связи), такой дисахарид (или олигосахарид) называется *восстанавливающим*. Например, восстанавливающими свойствами обладают молекулы мальтозы, изомальтозы и лактозы. Если гликозидная связь задействует полуацетальные гидроксильные группы обоих моносахаридов, как, например, в молекуле сахарозы, такой олигосахарид называется *невосстанавливающим*. Невосстанавливающие дисахариды не способны к мутаротации, поскольку циклические формы входящих в их состав мономеров не могут принимать открытую форму.

Сахароза ( $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-фруктофуранозид)\* — невосстанавливающий дисахарид, образованный в результате соединения остатка  $\alpha$ -D-глюкопиранозы с  $\beta$ -D-фруктофуранозой при помощи  $\alpha$ 1,2-гликозидной связи\*\*. Присутствует в большинстве фруктов, в ягодах и в некоторых овощах, в наибольшем количестве содержится в сахарной свекле и сахарном тростнике, в моркови, ананасах, сорго. Пищевой (столовый) сахар-песок содержит >99% сахарозы.



Сахароза (два варианта написания)

Мальтоза ( $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопираноза) — два остатка глюкозы (D-глюкопиранозы), связанные  $\alpha$ 1,4-гликозидной связью. Мальтоза достаточно широко встречается в живой природе, в основном как промежуточный продукт распада полимеров глюкозы — крахмала или гликогена. Мальтоза содержится в солоде, проростках злаков (солодовый сахар). В молекуле изомальтозы два остатка глюкозы связаны  $\alpha$ 1,6-гликозидной связью.



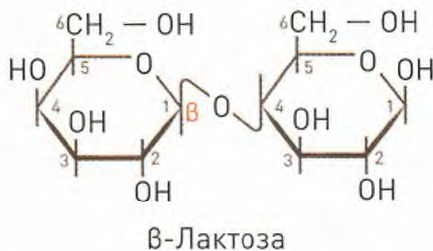
Мальтоза

Изомальтоза

\* Название дисахаридов по систематической номенклатуре должно описывать входящие в состав дисахариды моносахаридные остатки, формы кольца моносахаридов (пираноза или фураноза), аномерные формы ( $\alpha$ - или  $\beta$ -), а также связь, соединяющую остатки, например (1 $\rightarrow$ 2). Для невосстанавливающих остатков добавляют окончание «-ид» (фруктофуранозид).

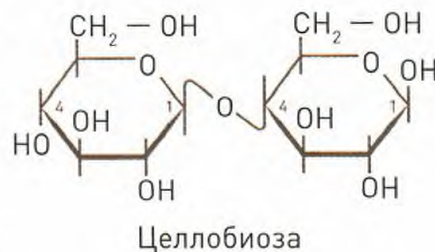
\*\* Гидролиз этой связи идёт с выделением большого количества энергии,  $\Delta G$  свободного гидролиза сахарозы всего лишь на 10% меньше, чем у АТФ. Эту энергию в некоторых случаях используют растительные клетки.

**Лактоза** ( $\beta$ -D-галактопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-D-глюкопираноза) — остаток  $\beta$ -галактозы, связанный с  $\alpha$ - или  $\beta$ -глюкозой  $\beta$ 1,4-гликозидной связью. У остатка глюкозы  $C_1$  свободен, поэтому она может существовать как в  $\alpha$ -, так и в  $\beta$ -форме; в организме человека преобладает  $\beta$ -лактоза. Лактоза как в виде дисахарида, так и в виде олигосахаридов (три-, тетра- и пентасахаридов, содержащих присоединённые к лактозе остатки сиаловых кислот или фукозы), содержится в молоке млекопитающих («молочный сахар»). Лактоза используется в качестве вспомогательного ингредиента при изготовлении твёрдых лекарственных форм (таблеток).



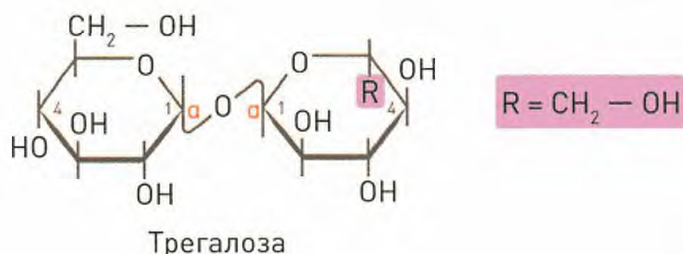
Дисахарид антиген Галили, состоящий из двух остатков галактозы,  $\alpha$ -D-галактопиранозил- $\alpha$ 1,3-D-галактопираноза, обнаруживается в клетках мембран млекопитающих, но не встречается у приматов и распознаётся иммунной системой человека как чужеродный антиген.

**Целлобиоза** ( $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-глюкопираноза) — промежуточный продукт гидролиза целлюлозы, в котором остатки  $\beta$ -глюкозы связаны  $\beta$ 1,4-гликозидной связью. Целлобиоза отличается от мальтозы тем, что аномерный атом C, участвующий в образовании гликозидной связи, имеет  $\beta$ -конфигурацию. В стабилизации молекулы целлобиозы участвует водородная связь, которая формируется между кислородом цикла и атомом водорода при  $C_3$  соседнего остатка глюкопиранозы.



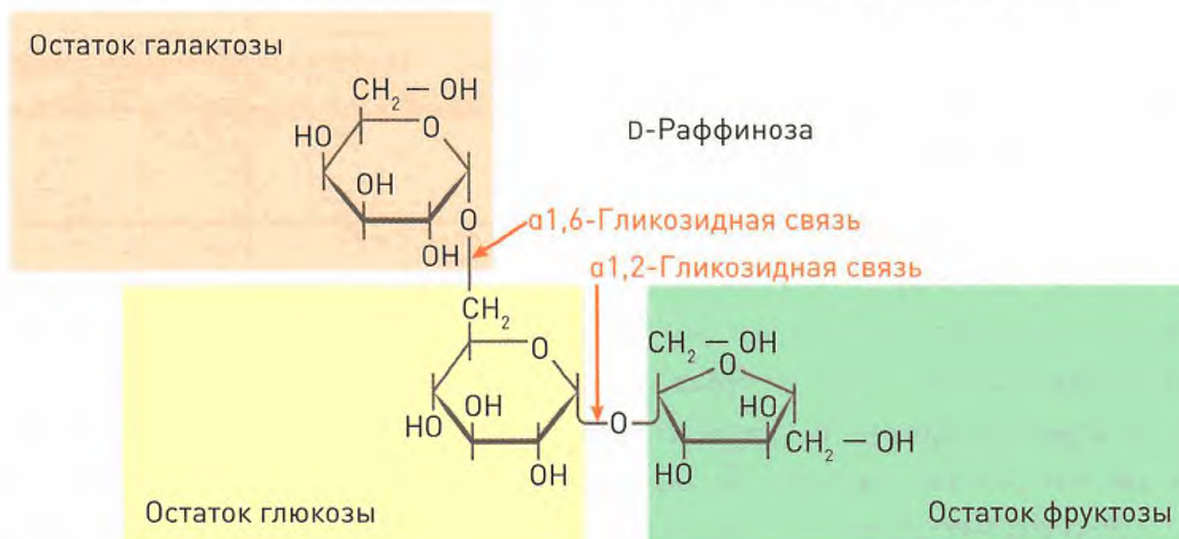
**Трегалоза** ( $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 1)- $\alpha$ -D-глюкопиранозид) — ещё один распространённый невосстанавливающий дисахарид. Она состоит из двух молекул глюкозы, соединённых гликозидной связью между  $C_1$  и  $C_1$ . В составе трегалозы могут быть не только  $\alpha$ -аномеры, но также и  $\beta$ -аномеры, однако в природе они встречаются реже. Трегалоза распространена в основном у грибов и насекомых. Грибы используют трегалозу как запасной дисахарид, насекомые и ряд других членистоногих накапливают трегалозу в гемолимфе при переходе к экстремальным условиям (например, перед

зимовкой). Благодаря высокой концентрации трегалозы при охлаждении гемолимфа не кристаллизуется, а образует стеклоподобную структуру. Таким образом, она не нарушает структуру окружающих клеток и понижает температуру полного замерзания. При дефиците воды и высоких температурах трегалоза помогает организму уменьшить негативные последствия обезвоживания.

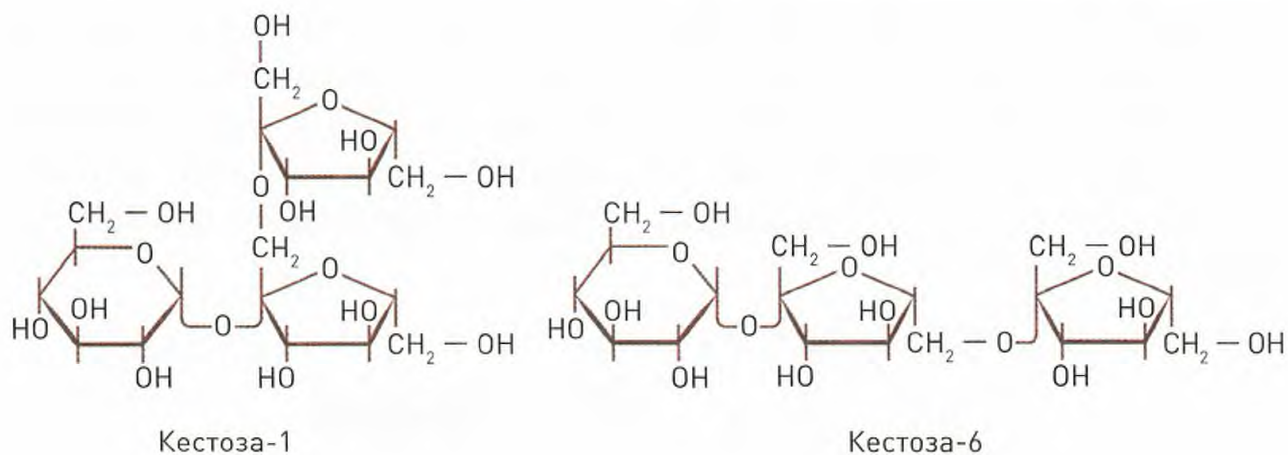


## Трисахариды

*Раффиноза* — трисахарид, состоящий из галактозы, глюкозы и фруктозы. Обнаруживается в бобовых, крестоцветных, спарже и ряде других овощей. Раффиноза может гидролизоваться до D-галактозы и сахарозы при участии бактериальной  $\alpha$ -галактозидазы. При метаболизме раффинозы бактериями толстой кишки образуются короткоцепочечные жирные кислоты. Присутствие раффинозы в рационе оказывает пребиотическое действие (способствует росту лактобактерий и бифидобактерий).



*Кестозы* образуются из сахарозы за счёт присоединения к фруктозе сахарозы ещё одного фруктозного остатка. Эти трисахариды являются предшественниками более длинных цепочек, в которых количество фруктозных остатков постепенно увеличивается.



## Полисахариды

*Полисахариды* (гликаны) — высокомолекулярные соединения, образующиеся при поликонденсации моносахаридов. По химической природе они являются полигликозидами (полиацеталями). Выделяют *гомополисахариды*, состоящие из одинаковых остатков моносахаридов (крахмал, гликоген, целлюлоза), и *гетерополисахариды* (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты), включающие разные моносахариды. Полисахариды часто содержат остатки кислот — серной, фосфорной или органических кислот (сульфатированные, фосфорилированные, ацелированные, ацилированные полисахариды).



Полисахариды служат в качестве внутриклеточного «депо» моносахаридов, а также структурных компонентов клеточных стенок и внеклеточного матрикса

В самых простых полисахаридах одинаковые остатки моносахаридов образуют цепь без ветвлений. Они называются *линейными гомополисахаридами*. К ним относятся целлюлоза и амилоза.

В отличие от белков и нуклеиновых кислот, полимеры углеводов могут быть не только линейными, но и разветвлёнными. Это возможно благодаря наличию нескольких гидроксильных групп в остатках моносахаридов, каждая из которых может участвовать в образовании гликозидной связи. Первый «боковой» остаток моносахарида в точке ветвления присоединяется к гидроксильной группе, не участвующей в образовании гликозидных связей основной цепочки. К разветвлённым гомополимерам относятся гликоген и амилопектин.

Гетерополисахариды различаются составом мономеров и порядком их чередования. Линейные гетерополимеры с повторяющимся димером чаще всего, как и линейные гомополимеры, играют структурную роль. Зачастую они содержат остатки урсонных кислот, что делает их молекулы заряженными. Образованные линейные цепочки могут присоединяться к структурным или сигнальным молекулам (белкам, мембранным липидам). Нерегулярные гетерополимеры в чистом виде не существуют, а присоединяются к структурным или сигнальным молекулам (белкам, мембранным липидам).

При описании любого полимера необходимо указать, какие мономеры и в какой форме входят в его состав и в какой последовательности они соединены. Для упрощения представления формул полисахаридов используются сокращённые обозначения моносахаридов и их производных (табл. 1.1). На конце полисахаридной цепи может располагаться остаток восстанавливающего моносахарида (со свободной полуацетальной гидроксильной группой). Как и у дисахаридов, такой конец называется *восстанавливающим*.

В отличие от белков, синтез которых детерминирован генетически, а последовательность аминокислотных остатков строго консервативна, синтез и наращивание полисахаридных цепей зависят от активности вну-

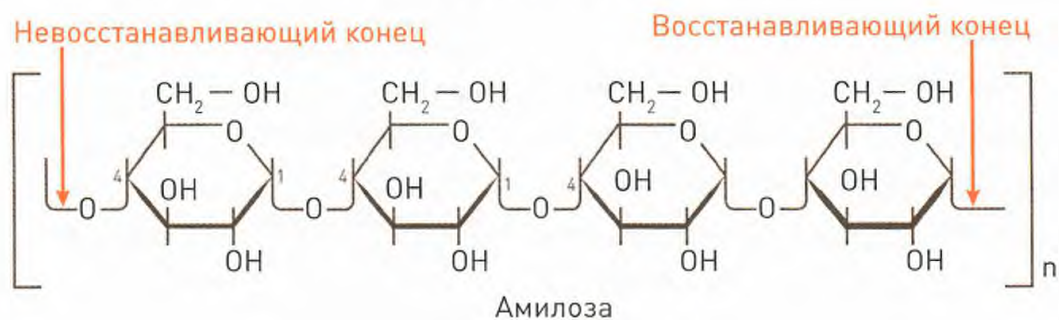
**Таблица 1.1.** Общепринятые условные обозначения некоторых моносахаридов и их производных

Мономерный остаток	Обозначение	
Арабиноза	Ara	
Галактоза	Gal	
Глюкоза	Glc	
Ксилоза	Xyl	
Манноза	Man	
Рамноза	Rha	
Рибоза	Rib	
Фруктоза	Fru	
Фукоза	Fuc	
Галактуроновая кислота	GalA	
Глюкуроновая кислота	GlcA	
Маннуроновая кислота	ManA	
Идуруновая кислота	IdoA	
Мурамовая кислота	Mur	
N-ацетилмурамовая кислота	Mur2Ac	
N-ацетилнейраминавая (сиаловая) кислота	Neu5Ac	
Галактозамин	GalN	
Глюкозамин	GlcN	
Маннозамин	ManC	
N-ацетилгалактозамин	GalNAc	
N-ацетилглюкозамин	GlcNAc	
N-ацетилманнозамин	ManNAc	

триклеточных ферментов и не имеет изначально определённой матрицы и конечной точки. Как следствие, длина полисахаридных цепей в живых системах варьирует в очень широких пределах.

## Гомополисахариды

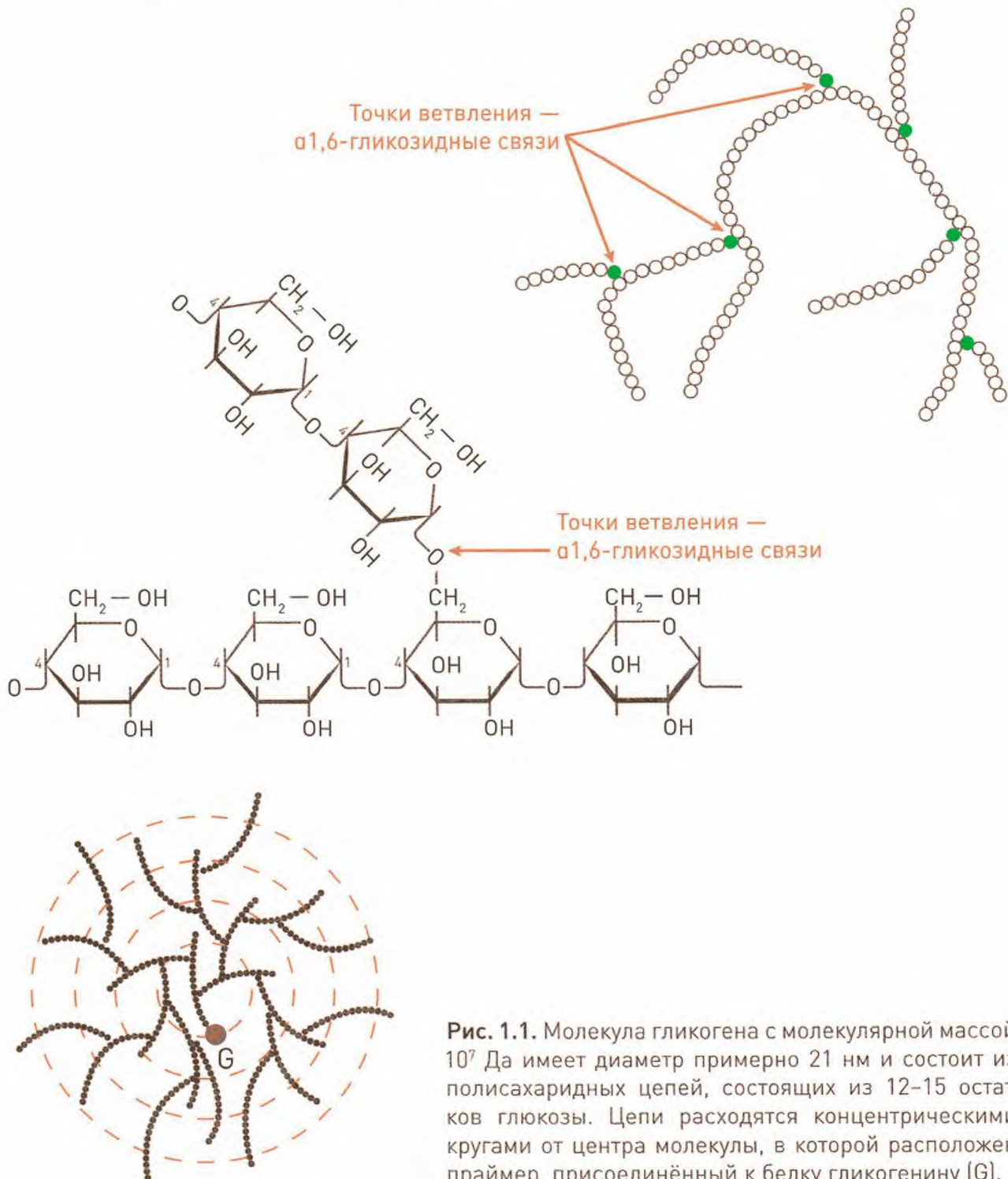
Наиболее распространёнными на Земле являются полимеры глюкозы. *Крахмал* — гомополимер глюкозы ( $\alpha$ -D-глюкопиранозы), главный резервный полисахарид растений. Находится в злаках, бобовых, картофеле и некоторых других овощах. Более половины усвояемых углеводов в рационе человек получает с крахмалом. Двумя основными компонентами крахмала являются амилоза и амилопектин. Амилоза представляет собой неразветвлённую цепь, включающую до 1000 остатков глюкозы, соединённых исключительно  $\alpha$ 1,4-гликозидными связями. Линейные молекулы амилозы имеют спиральную конформацию, причём каждый виток спирали состоит из шести  $\alpha$ -D-глюкопиранозильных остатков.



*Амилопектин* также построен из остатков  $\alpha$ -D-глюкозы, но, в отличие от амилозы, его молекула разветвлённая. В линейных участках цепи остатки  $\alpha$ -D-глюкопиранозы соединены  $\alpha$ 1,4-гликозидными связями, а в точках ветвления —  $\alpha$ 1,6-гликозидными связями. Каждая ветвь имеет длину 24–30 остатков глюкозы, участки ветвления возникают примерно через каждые 15–25 остатков глюкозы основной линейной цепи.



*Гликоген* — резервный полисахарид животных, аналог растительного крахмала, находится в цитоплазме многих типов клеток, в наибольшем количестве в гепатоцитах и миоцитах. В постабсорбтивном периоде гранулы гликогена могут составлять до 7% массы клеток печени. Структурно он схож с амилопектином, но более компактен за счёт более частого расположения участков ветвления — через каждые 8–12 остатков глюкозы (рис. 1.1). Высокая компактность молекулы гликогена позволяет депонировать большое количество остатков глюкозы в гранулах высокой

плотности, не повышая внутриклеточное осмотическое давление\*. Каждая ветвь гликогена заканчивается восстанавливающим остатком глюкозы, к которому присоединяются ферменты синтеза или распада гликогена.

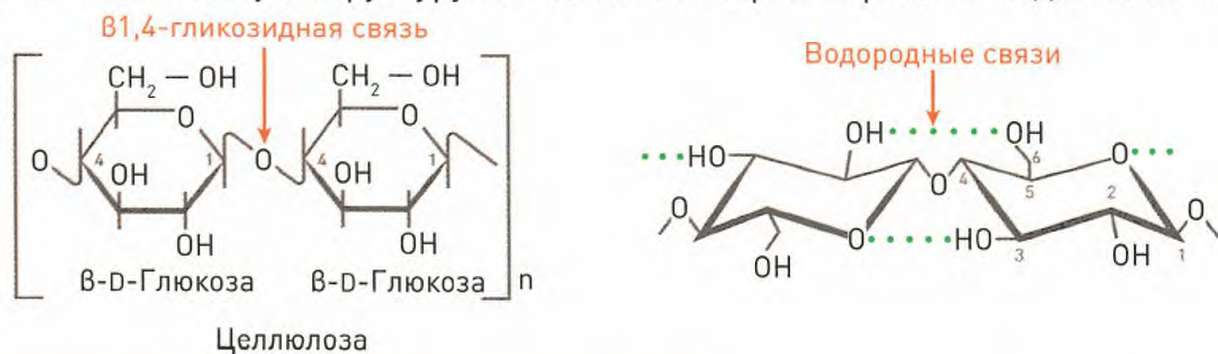


\* Осмотическое давление возрастает пропорционально количеству растворённых молекул в растворителе определённого объема. Связывание растворимых остатков глюкозы в нерастворимый полимер позволяет клетке одновременно накапливать глюкозу и удерживать осмотическое давление.

**Таблица 1.2.** Сравнительная характеристика полисахаридов, состоящих из остатков глюкозы

	Целлюлоза	Крахмал		Гликоген
		Амилоза	Амилопектин	
Источник	Растительный	Растительный	Растительный	Животный
Мономер	$\beta$ -Глюкоза	$\alpha$ -Глюкоза	$\alpha$ -Глюкоза	$\alpha$ -Глюкоза
Гликозидные связи	1-4	1-4	1-4 и 1-6	1-4 и 1-6
Наличие ветвлений	Нет	Нет	Да (одно ветвление на 20 углеводных остатков)	Да (одно ветвление на 8–14 углеводных остатков)
Положение мономеров				
Общий вид молекулы				

**Целлюлоза** — неразветвлённый  $\beta$ 1,4-глюкан\*, состоящий из линейной последовательности до 15 000 остатков глюкозы (D-глюкопиранозы), связанных  $\beta$ 1,4-гликозидными связями. Важный структурный компонент клеточных стенок растений и некоторых водорослей. Целлюлоза является самым распространённым органическим соединением биосферы, около половины всего углерода Земли находится в её составе, примерно  $10^{15}$  кг целлюлозы ежегодно синтезируется и разрушается. Древесина состоит из целлюлозы примерно на 50–60%, а хлопок и лён являются практически чистой целлюлозой. Помимо растений, целлюлозу также способны синтезировать оболочечники, или личиночнохордовые (подтип *Urochordata*). В отличие от крахмала и гликогена, целлюлоза является преимущественно внеклеточной молекулой, имеет волокнистую структуру и абсолютно нерастворима в воде (табл. 1.2).



\* Полисахариды (гликаны), содержащие только остатки глюкозы, также называются глюканами.

В отличие от амилозы, в целлюлозе образуются дополнительные водородные связи между  $-OH$ -группой при  $C_6$  одного остатка глюкозы и  $-OH$ -группой при  $C_2$  второго остатка, а также между кислородом кольца одного остатка и  $-OH$ -группой при  $C_3$  другого остатка. Такие связи могут образовываться благодаря  $\beta$ -конфигурации аномерного центра, при этом соседние остатки моносахаридов развёрнуты на  $180^\circ$  и выстраиваются в одну линию. Наличие водородных связей приводит к формированию устойчивой структуры, которая не подвержена вращению вокруг связи между мономерами. Это дополняет ковалентную связь, делая её неподвижной. В результате молекула целлюлозы приобретает химическую инертность, а также способность формировать кристаллические структуры. В процессе синтеза целлюлозы растительными клетками шесть целлюлозных цепей образуются параллельно и сразу связываются между собой водородными связями. Образуются прочные фибриллы, обеспечивающие клеточной стенке механическую прочность.

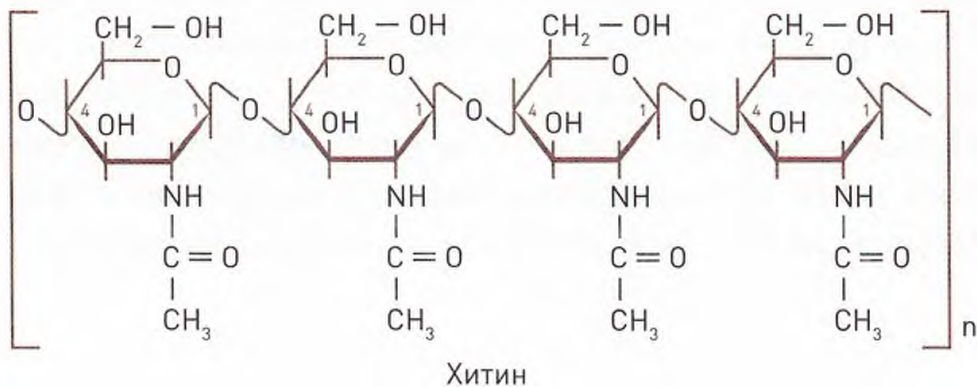


*Млекопитающие не имеют ферментов, разрушающих  $\beta$ 1,4-гликозидные связи, однако в ЖКТ травоядных животных присутствует большое количество симбиотических бактерий, обладающих такими ферментами. Под действием ферментов бактерий из целлюлозы образуются ацетат, пропионат и  $\beta$ -гидроксibuтират, которые всасываются в тонкой кишке и используются в метаболических процессах животного. Поскольку целлюлоза упакована в виде плотных фибрилл и связи между моносахаридными остатками практически недоступны для ферментов, гидролиз целлюлозы при участии бактерий — длительный и трудоёмкий процесс. Именно по этой причине крупные травоядные животные (например, коровы), имеют многокамерный желудок, в котором накапливают, а затем срыгивают и пережёвывают повторно полугидролизованную целлюлозу.*



*Микрокристаллическая целлюлоза (E460i) используется в качестве вспомогательного компонента таблетированных лекарственных средств, задавая форму таблетке, выстраивая структуру для размещения молекул действующего вещества и обеспечивая их равномерное высвобождение в процессе прохождения таблетки в ЖКТ.*

**Хитин** — линейный не растворимый в воде полимер, состоящий из мономеров N-ацетил-D-глюкозамина, связанных β1,4-гликозидными связями. Хитин отличается от целлюлозы наличием в положении C<sub>2</sub> ацетилированной аминогруппы вместо гидроксильной группы. Основной компонент клеточных стенок грибов и некоторых водорослей, а также экзоскелетов моллюсков и членистоногих — насекомых, пауков, ракообразных. Хитин по распространению в природе занимает второе место после целлюлозы, в биосфере примерно 10<sup>14</sup> кг хитина синтезируется ежегодно.



При удалении ацетильных групп из хитина можно получить хитозан, обладающий выраженными мукоадгезивными свойствами, то есть способностью прилипать к слизистым оболочкам. Эти свойства хитозана активно используются для создания лекарственных форм для введения в организм препаратов через слизистые оболочки, а также адгезивных материалов для закрытия раневых поверхностей. Благодаря катионной природе, хитозан может образовывать нерастворимые комплексы с анионными полимерами. Эта способность востребована в технологиях создания кишечнорастворимых капсул, которые позволяют доставлять лекарственные средства непосредственно в кишечник и защищают их от пагубного действия кислой среды желудка.

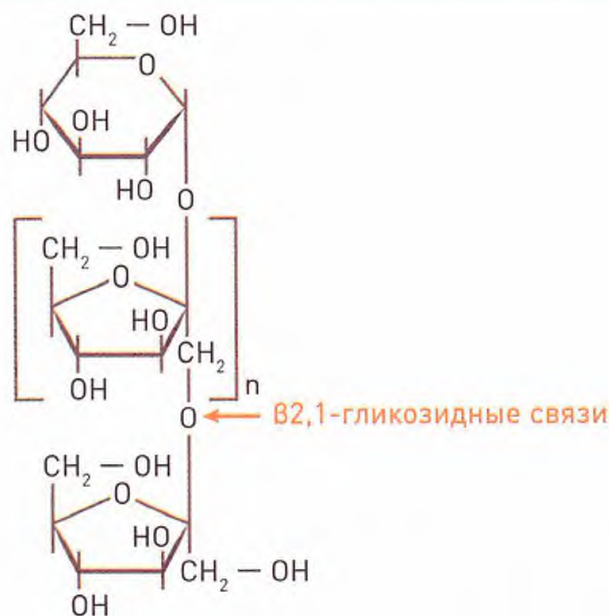
**Декстран** — разветвлённый полисахарид, состоящий из мономеров α-D-глюкопиранозы, соединённых линейно α1,6-гликозидными связями, а в участках ветвления α1,3-, реже α1,4- или α1,2-гликозидными связями. Декстраны формируют основу клеточной стенки дрожжей.



Декстраны, синтезирующиеся обитающими в полости рта бактериями, входят в состав зубного налёта. Они облегчают прилипание бактерий к эмали зубов, а также снабжают их при гидролизе полисахаридных связей свободной глюкозой.



Низкомолекулярный декстран с молекулярной массой 40 или 70 кДа (Полиглюкин® и др.) используется в качестве препарата-заменителя плазмы для улучшения капиллярного кровотока и восполнения объёма циркулирующей крови при шоковых состояниях, для замещения объёма плазмы при кровопотере, для заполнения аппаратов искусственного кровообращения (в определённых пропорциях с кровью). Декстран снижает агрегацию тромбоцитов, способствует увеличению объёма циркулирующей крови за счёт перемещения жидкости из тканей в кровеносное русло. Каждый грамм декстрана способствует перераспределению 20–25 мл жидкости из тканей в кровяное русло. По осмотическому механизму стимулирует диурез (фильтруется в клубочках, создаёт в первичной моче высокое онкотическое давление и препятствует реабсорбции воды в канальцах), чем способствует выведению ядов и токсинов. Увеличение объёма циркулирующей крови положительно сказывается на гемодинамике и одновременно сопровождается вымыванием продуктов метаболизма из тканей, что вместе с увеличением диуреза обеспечивает ускоренную детоксикацию организма. Декстраны образуют мономолекулярную плёнку на интимае сосудов, а также на поверхности тромбоцитов, что предотвращает как агрегацию тромбоцитов, так и их адгезию к стенке сосуда. Декстраны также увеличивают количество циркулирующего тканевого активатора плазминогена (t-PA) путём блокирования действия ингибитора активатора плазминогена (PAI-1).



Инулин — группа природных полисахаридов, входящая в класс фруктанов, полимеров D-фруктопиранозы, соединённых β2,1-гликозидными связями. Инулин образуется в растениях путём наращивания молекулы кестозы. Молекулы инулина преимущественно линейные, содержат, как правило,

несколько десятков (не более 200) остатков фруктозы с редкими участками ветвления. Присутствует в большом количестве в корне цикория, клубнях топинамбура и иерусалимском артишоке. Он достаточно хорошо растворим в горячей воде и нерастворим в холодной. Инулин легко гидролизуется, как и сахароза, однако в организме человека не усваивается.



*Почечным фильтром в норме задерживаются все молекулы инулина, вследствие чего он не секретируется с мочой. При нарушении целостности мембраны почечного фильтра клиренс инулина увеличивается, что позволяет использовать инулин при внутривенном введении для оценки уровня клубочковой фильтрации. Однако в настоящее время используют более простой метод оценки уровня клубочковой фильтрации по клиренсу креатинина.*

Леван — ещё один резервный полисахарид растений. Леван образуется при удлинении молекулы путём присоединения дополнительных фруктозных остатков к  $C_6$  остатка фруктозы в молекуле сахарозы. Он может существовать как в линейной, так и в разветвлённой форме, содержит  $\beta 2,6$ -гликозидные связи в линейной последовательности и  $\beta 2,1$ -гликозидные связи в участках ветвления.

## Гетерополисахариды

Гемицеллюлозы — группа гетерополимеров, состоящих из 500–3000 остатков моносахаридов, присутствует в клеточных стенках растительных клеток. В зависимости от моносахаридного состава основной цепи выделяют несколько вариантов гемицеллюлозы: ксиланы, глюкоманнаны и галактаны (табл. 1.3). Среди различных вариантов гемицеллюлозы преобладают варианты, содержащие много полимеров ксилозы. Молекула ксилозы в составе полимера образует меньше водородных связей, чем глюкоза в целлюлозе, поэтому гемицеллюлоза выступает в роли вещества, заполняющего пространство между целлюлозными волокнами.



*Галактоманнаны входят в состав клеточных стенок грибов *Aspergillus*. Определение содержания галактоманнана в плазме крови используется для диагностики инвазивного аспергиллёза.*

Пептидогликаны (муреин) — компоненты клеточной стенки бактерий, гетерополисахариды, состоящие из остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединённых  $\beta 1,4$ -гликозидными связями. Полисахаридные цепи укладываются на поверхности клеточной стенки

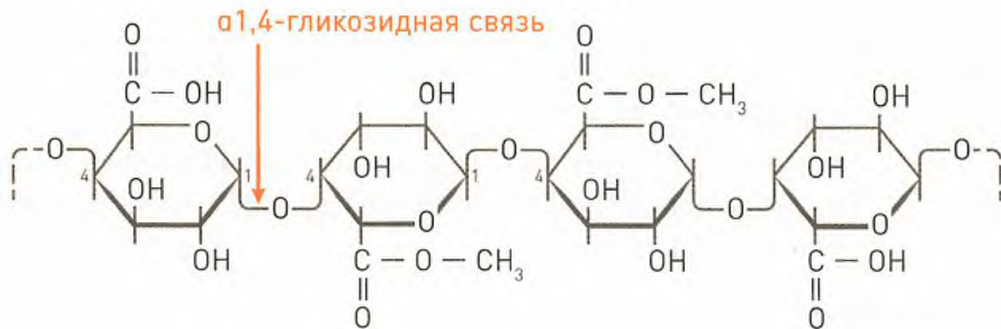
**Таблица 1.3.** Различные варианты гемицеллюлозы

Полисахарид	Строение
<i>Гомополисахариды</i>	
Смешанные β-глюканы	Состоят из остатков глюкозы, соединённых β1,4- или β1,3-гликозидными связями
Гомоксиланы	Состоят из остатков ксилозы, соединённых β1,4-гликозидными связями, в участках ветвления — β1,3-гликозидными связями
<i>Гетерополисахариды</i>	
Гетероксиланы	Состоят из остатков ксилозы и других моносахаридов (например, арабиноксиланы состоят из остатков ксилозы и L-арабинозы; глюкуроноксиланы — из остатков ксилозы и 4-О-метил-D-глюкуроновой кислоты)
Галактоманнаны	Состоят из остатков маннозы, соединённых β1,4-гликозидными связями (основная цепь), а также галактозы, присоединённых к основной цепи α1,6-гликозидными связями
Глюкоманнаны	Состоят из остатков маннозы и глюкозы, соединённых β1,4-гликозидными связями
Ксилоглюканы	Основная цепь состоит из остатков глюкозы, соединённых β1,4-гликозидными связями, к ней присоединяются различные моносахариды при помощи α1,6-гликозидных связей

и связываются друг с другом пептидами, состав которых у различных бактерий варьирует. Пептиды как бы «цементируют» полисахаридные цепи, формируя прочный каркас, защищающий клетку. Толщина слоя пептидогликанов существенно толще у грамположительных бактерий (20–80 нм), чем у грамотрицательных (7–8 нм). У грамположительных бактерий пептидогликан составляет от 40 до 90% сухой массы клеточных стенок. Антибактериальный эффект белка лизоцима, присутствующего в слюне или слёзной жидкости, обусловлен его способностью гидролизовать β1,4-гликозидные связи между остатками N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, разрушая защитную оболочку бактерий.

*Пектин* — кислые гетерополисахариды, содержащиеся в клеточных стенках и межклеточных пластинках растений. Основной компонент пектина — остатки D-галактуроновой кислоты, связанные между собой α1,4-гликозидными связями. В ряде случаев к остаткам галактуроновой кислоты могут присоединяться D-ксилоза, D-рамноза, D-галактоза, L-арабиноза или D-апиоза (ксилогалактуронан, рамногалактуронан и др.). Примерно

80% карбоксильных групп галактуроновой кислоты этерифицированы метанолом. За счёт диссоциации карбоксильной группы полигалактуронат в нормальных условиях заряжен отрицательно.



Пектин

Растворимые пектины находятся главным образом в соках растений, нерастворимые — образуют межклеточные вещества и составляют большую часть стенки молодых растений. Частично этерифицированные полиурониды называются пектиновыми кислотами, а сами полиурониды — пектовыми кислотами. Пектины способны образовывать в растворах прочные гели, что обусловлено межмолекулярной ассоциацией. Это свойство пектинов находит практическое применение в кондитерской и фармацевтической промышленности.

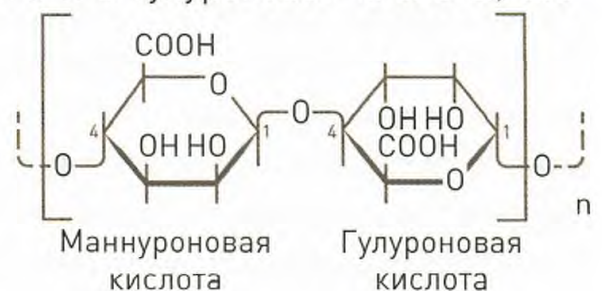
Агароза построена из чередующихся остатков D-галактозы и 3,6-ангидро-L-галактозы, связанных попеременно  $\beta$ 1,4- и  $\alpha$ 1,3-связями. В водной среде агароза образует гель с большими порами, размер которых определяется её концентрацией.



Агарозные гели используются для фракционирования белков и нуклеиновых кислот (гель-фильтрация, электрофорез) и их исследования (иммунодиффузия, иммуноэлектрофорез). В агарозных гелях иммобилизуют бактерии и лимфоидные клетки в молекулярно-биологических и иммунологических исследованиях.

Альгиновые кислоты — природные полисахариды бурых водорослей. Составляют из остатков D-маннурановой кислоты и D-гулурановой кислоты, соединённых 1,4-гликозидными связями.

Основная задача альгиновых кислот — формировать слизь на поверхности водорослей с целью предотвратить их высыхание при попадании на сушу. Способность к образованию вязких



гидратированных растворов связана с наличием свободных карбоксильных групп. Как и пектины, альгиновые кислоты могут использоваться для загущения растворов.

### Гликозаминогликаны

Структурные полисахариды у млекопитающих встречаются в основном во внеклеточном матриксе соединительной ткани. Их строение имеет общую черту: это неразветвлённые цепи, построенные из дисахаридных остатков, в состав которых входят уроновая кислота (D-глюкуроновая, D-галактуронозная или L-идуронозная) и N-ацетилгексозамин (N-ацетилглюкозамин или N-ацетилгалактозамин). В организме человека они могут присутствовать как в неизменённом, так и в сульфатированном виде. Гликозаминогликаны входят в состав внеклеточных протеогликанов, где составляют до 95% по массе (остальные 5% составляет белковая часть молекулы). Гликозаминогликаны обладают высокой гидрофильностью, отрицательным зарядом и, таким образом, удерживают  $H_2O$ , ионы  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ , обеспечивая упругость тканей.

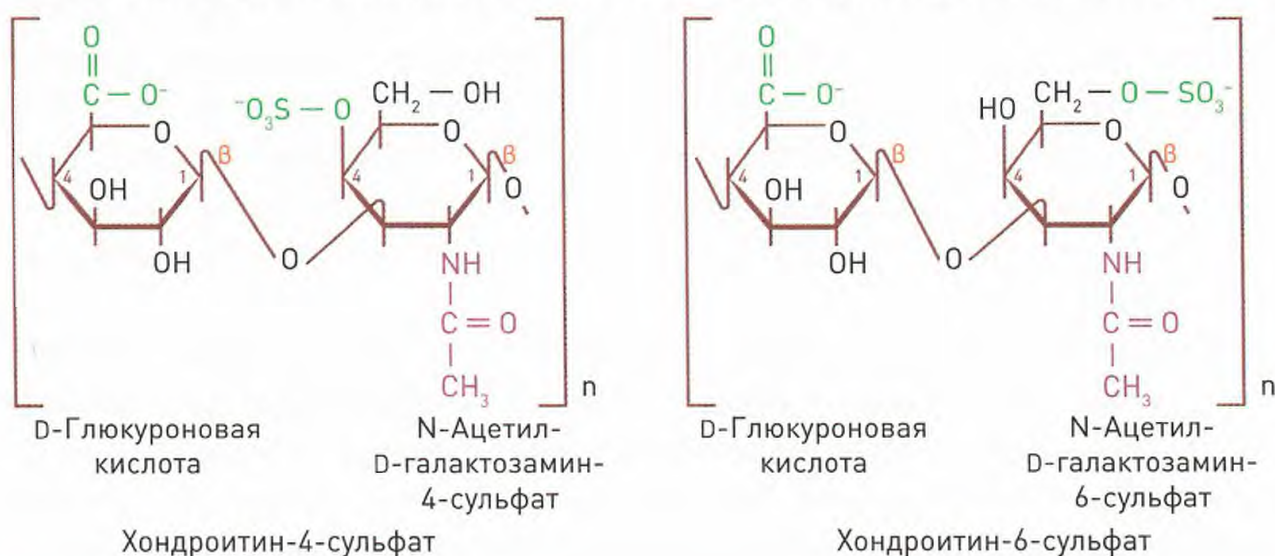
Гиалуроновая кислота состоит из остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина, которые связаны в дисахарид при помощи  $\beta 1,3$ -гликозидных связей. Дисахариды, в свою очередь, связываются друг с другом  $\beta 1,4$ -гликозидными связями. Таким образом, получается цепочка с чередованием  $\beta 1,3$ - и  $\beta 1,4$ -гликозидных связей, которая вытягивается за счёт отрицательных зарядов глюкуроновой кислоты. Растворы гиалуроновой кислоты обладают высокой вязкостью, с чем связывают её барьерную функцию, обеспечивающую непроницаемость соединительной ткани для патогенных микроорганизмов.

Гиалуроновая кислота находится в межклеточном матриксе, соединительнотканых капсулах, отграничивающих очаг бактериального роста, составляет основное вещество стекловидного тела. В синовиальной жидкости гиалуроновая кислота служит в качестве смазки суставных поверхностей. Она входит в состав гликокаликса мембран большинства клеток, находится на поверхности яйцеклетки. Некоторые патогенные бактерии, а также сперматозоиды секретируют



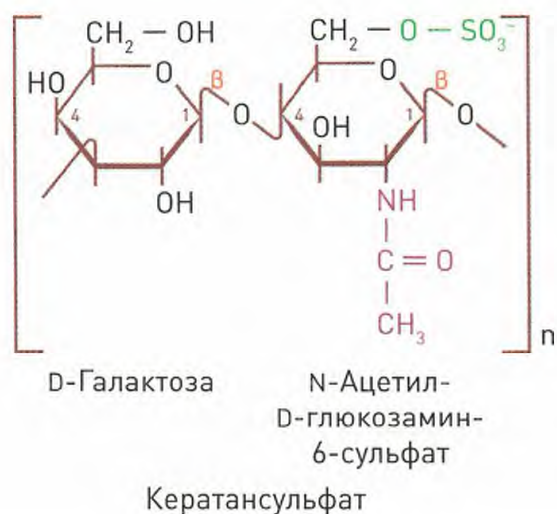
гиалуронидазу — фермент, гидролизующий гиалуроновую кислоту и облегчающий бактериальную инвазию или слияние сперматозоида с яйцеклеткой.

**Хондроитинсульфат** образуется из повторяющихся дисахаридов, содержащих D-глюкуроновую кислоту и сульфатированный N-ацетилгалактозамин, которые связаны β1,3-гликозидной связью. Обнаруживается в основном в хрящевой ткани. Полимерные цепи достаточно короткие, включают в среднем 20–40 повторяющихся дисахаридных единиц. В зависимости от положения сульфатной группы (у C<sub>4</sub> или C<sub>6</sub>) выделяют хондроитин-4-сульфаты и хондроитин-6-сульфаты. Однако это деление условно, так как в одном соединении могут присутствовать оба варианта хондроитина.



Препараты хондроитина сульфата в сочетании с глюкозамином применяются при лечении остеоартрита, уменьшая боль в суставах и улучшая их подвижность.

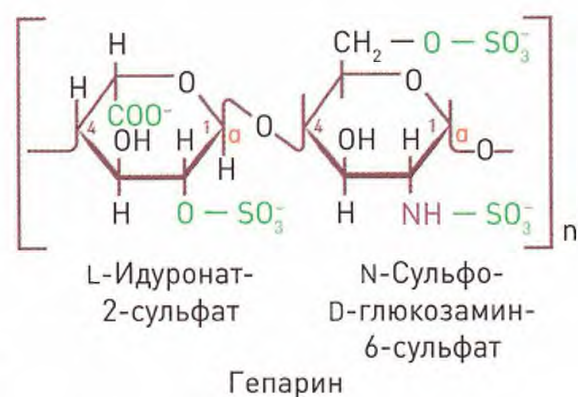
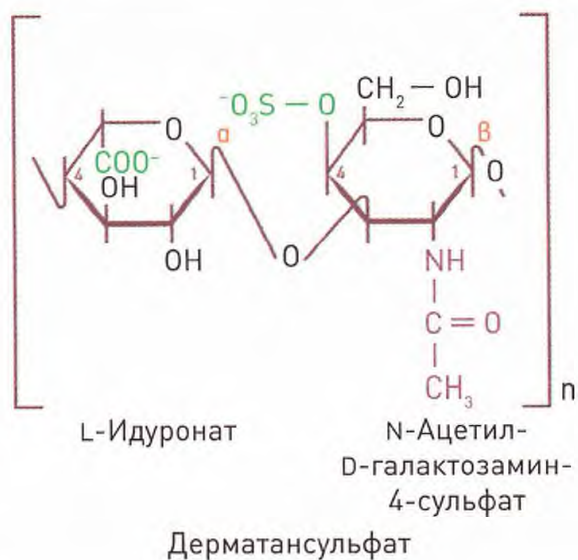
**Кератансульфат** состоит из повторяющихся дисахаридов, в которых присутствуют галактоза и сульфатированный N-ацетилглюкозамин, связанные β1,4-гликозидными связями. Заряд сосредоточен на глюкозамине. Это короткие цепочки, содержащие в среднем по 25 дисахаридных остатков. Присутствует в хрящевой, костной ткани, роговице, волосах и ногтях. Кератансульфат может при-



соединять остатки фукозы, маннозы, N-ацетилглюкозамина и сиаловых кислот.

**Дерматансульфат** представляет короткоцепочечный полисахарид. По структуре он похож на хондроитинсульфат, но вместо остатков глюкуроновой кислоты содержит остатки идуруновой. Длина цепочек обычно около 15–20 остатков.

**Гепарин** состоит из повторяющихся дисахаридных единиц, содержащих D-глюкозамин и уруновую кислоту (D-глюкуроновую или L-идуруновую), соединённых  $\alpha$ 1,4-гликозидными связями. В количественном отношении преобладает L-идуруновая кислота. Внутри дисахаридного мономера мономеры связаны  $\alpha$ 1,4-гликозидной связью, а между дисахаридными фрагментами  $\alpha$ 1,4- или  $\beta$ 1,4-гликозидной связью, в случае если фрагмент оканчивается L-идуруновой или D-глюкуроновой кислотой соответственно. Каждый дисахаридный фрагмент гепарина несёт в среднем 2,5 сульфатных группы, что определяет его выраженный отрицательный заряд.



Препараты гепарина широко используются для лечения и профилактики тромбозов. К ним относятся нефракционированный гепарин, а также низкомолекулярные гепарины (далтепарин натрия, надропарин кальция, эноксапарин натрия и др.). Низкомолекулярные гепарины получают путём деполимеризации стандартного гепарина.

Гепарин и его производные способны инактивировать тромбин в присутствии плазменных кофакторов (особенно антитромбина III). Связывание препаратов гепарина с антитромбином III приводит к ускоренному ингибированию фактора Ха.

Препараты гепарина применяют для профилактики венозных тромбозов и эмболий при хирургических вмешательствах, у пациентов, находящихся на постельном режиме; для профилактики тромбообразования в системе экстракорпорального кровообращения во время гемодиализа; для лечения тромбоза глубоких вен.

## Рекомендуемая литература

Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt. Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.

David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer. Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.

Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И., Зурабян С.Э. Биоорганическая химия. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020, 416 с.

## Задания для обсуждения



Сколько различных дисахаридов можно получить из двух молекул D-глюкозы? Учитывайте, что D-глюкоза может существовать в пиранозной или фуранозной форме.

- Нарисуйте формулы получившихся дисахаридов.
- Какие из них обладают восстанавливающими свойствами? Отметьте полуацетальную гидроксильную группу.
- Какие из образовавшихся дисахаридов имеют физиологическое значение?



Материнское молоко содержит трисахарид 2'-фукозиллактозу [ $\alpha$ -L-фукопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-галапиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-D-глюкопираноза]. Считается, что этот трисахарид обладает антибактериальным эффектом, защищая новорождённого от бактериальных инфекций, в частности, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium*, *Helicobacter pylori*. Он предотвращает адгезию патогенов к эпителиальным клеткам желудочно-кишечного тракта, а также служит субстратом для питания бактерий нормальной микрофлоры (в частности, бифидобактерий).

- Запишите формулу 2'-фукозиллактозы. Отметьте полуацетальную гидроксильную группу.
- Предположите механизм снижения адгезии патогенов при участии 2'-фукозиллактозы.
- Может ли 2'-фукозиллактоза перевариваться в желудочно-кишечном тракте новорождённого?



Гепарансульфат и гепарин являются «родственными» гликозаминогликанами и отличаются в основном количеством сульфатных групп (гепарин содержит их больше, чем гепарансульфат).

- Какое количество сайтов сульфатирования содержит дисахаридная единица гепарансульфата (L-идуроновая кислота + N-ацетилглюкозамин)?
- Сколько протонов может связать молекула гепарина, состоящая из 100 дисахаридных повторов?
- Посчитайте, сколько дисахаридных остатков входит в состав молекулы гепарина массой 15 кДа.
- Предположите, почему для нейтрализации эффекта передозировки гепарина можно использовать сульфат протамина.

# 2

## Переваривание углеводов

Большую часть энергии, которая необходима для нормальной жизнедеятельности, около 50–60% суточной энергетической потребности человек получает с углеводами. Для замещения этой потребности в сутки он должен получать с пищей около 350–400 г углеводов.

Основные пищевые углеводы включают глюкозосодержащие полисахариды (крахмал, в меньшей степени гликоген), дисахариды (сахароза, лактоза, мальтоза, реже трегалоза), а также моносахариды (глюкоза, фруктоза, галактоза и рибоза). С растительной пищей человек также получает много пищевых волокон, большинство из которых является сложными углеводами, которые, однако, не могут перевариваться имеющимися у человека пищеварительными ферментами и усваиваться.

---



Основной источник углеводов в рационе человека — крахмал растительного происхождения

---

Поскольку проникать через мембрану энтероцитов могут только моносахариды (и в очень незначительном количестве дисахариды), первым этапом переваривания полученных с пищей углеводов является гидролиз сложных полисахаридов на более короткие олигосахариды, которые затем могут превращаться в моносахариды. Гидролиз сложных полисахаридов (например, крахмала) до олигосахаридов начинается в полости рта под действием  $\alpha$ -амилазы слюны и продолжается в процессе

*полостного пищеварения* в просвете тонкой кишки под действием панкреатической  $\alpha$ -амилазы. При этом относительно плохо растворимый крахмал превращается в хорошо растворимые олигосахариды и декстрины. Дальнейшее расщепление олигосахаридов катализируют ферменты *пристеночного пищеварения*, локализованные на апикальной мембране энтероцитов тонкой кишки. В результате работы ферментов пристеночного пищеварения образуются моносахариды, которые могут переноситься белками-транспортёрами через апикальную мембрану энтероцита и затем всасываться в кровь.



Сложные углеводы (крахмал и гликоген) последовательно расщепляются  $\alpha$ -амилазой слюны и поджелудочной железы до олигосахаридов. Олигосахариды, в свою очередь, гидролизуются ферментами апикальной поверхности клеток эпителия кишки до моносахаридов, которые всасываются в кровь. Все ферменты, участвующие в переваривании углеводов, относятся к классу гидролаз

---

В процессе переваривания углеводов в ЖКТ человека принимают участие следующие группы ферментов:

- $\alpha$ -амилаза слюны и панкреатическая  $\alpha$ -амилаза, участвующие в полостном пищеварении;
- ферменты, «заякоренные» в апикальной мембране энтероцитов (сахараза-изомальтаза, лактаза, мальтаза-гликоамилаза и трегалаза) — ферменты пристеночного пищеварения;
- различные ферменты бактерий микробиоты человека, способные к ферментации углеводов (табл. 2.1).

Все ферменты, участвующие в переваривании углеводов, относятся к классу гидролаз, подклассу гликозидаз (гликозид гидролаз). Гликозидазы катализируют гидролиз гликозидных связей внутри поли- и олигосахаридов.

Таблица 2.1. Пищеварительные ферменты человека

Происхождение	Фермент	Действие
Слюнные железы	$\alpha$ -Амилаза	Гидролиз внутренних $\alpha$ 1,4-гликозидных связей: крахмал (гликоген) $\rightarrow$ декстрины*, мальтотриоза, мальтоза, изомальтоза
Поджелудочная железа	$\alpha$ -Амилаза	
Энтероциты (пристеночное пищеварение)	Сахараза-изомальтаза	Гидролиз $\alpha$ 1,2-, $\alpha$ 1,4-, $\alpha$ 1,6-гликозидных связей: <ul style="list-style-type: none"> <li>• декстрины <math>\rightarrow</math> глюкоза;</li> <li>• сахароза <math>\rightarrow</math> глюкоза + фруктоза;</li> <li>• изомальтоза <math>\rightarrow</math> глюкоза + глюкоза;</li> <li>• мальтоза <math>\rightarrow</math> глюкоза + глюкоза</li> </ul>
	Мальтаза-гликоамилаза	Гидролиз $\alpha$ 1,4-гликозидных связей: <ul style="list-style-type: none"> <li>• амилоза <math>\rightarrow</math> глюкоза;</li> <li>• мальтотриоза <math>\rightarrow</math> глюкоза + глюкоза + глюкоза;</li> <li>• мальтоза <math>\rightarrow</math> глюкоза + глюкоза</li> </ul>
	Лактаза	Гидролиз $\beta$ 1,4-гликозидных связей: лактоза $\rightarrow$ галактоза + глюкоза
	Трегалаза	Гидролиз $\alpha$ 1,1-гликозидных связей: трегалоза $\rightarrow$ глюкоза + глюкоза

\* Декстрины — группа поли- или олигосахаридов, начальные продукты гидролитического расщепления крахмала либо гликогена. Это полимеры D-глюкозы, остатки которой связаны между собой  $\alpha$ 1,4- и  $\alpha$ 1,6-гликозидными связями. Амилодекстрины — линейные (неразветвлённые) декстрины, содержащие 20–30 остатков глюкозы, связанные  $\alpha$ 1,4-гликозидными связями, образуются при гидролизе амилозы. Ограниченные декстрины — разветвлённые декстрины, образованные при гидролизе амилопектина, имеют как  $\alpha$ 1,4-, так и  $\alpha$ 1,6-гликозидные связи.

## $\alpha$ -Амилаза

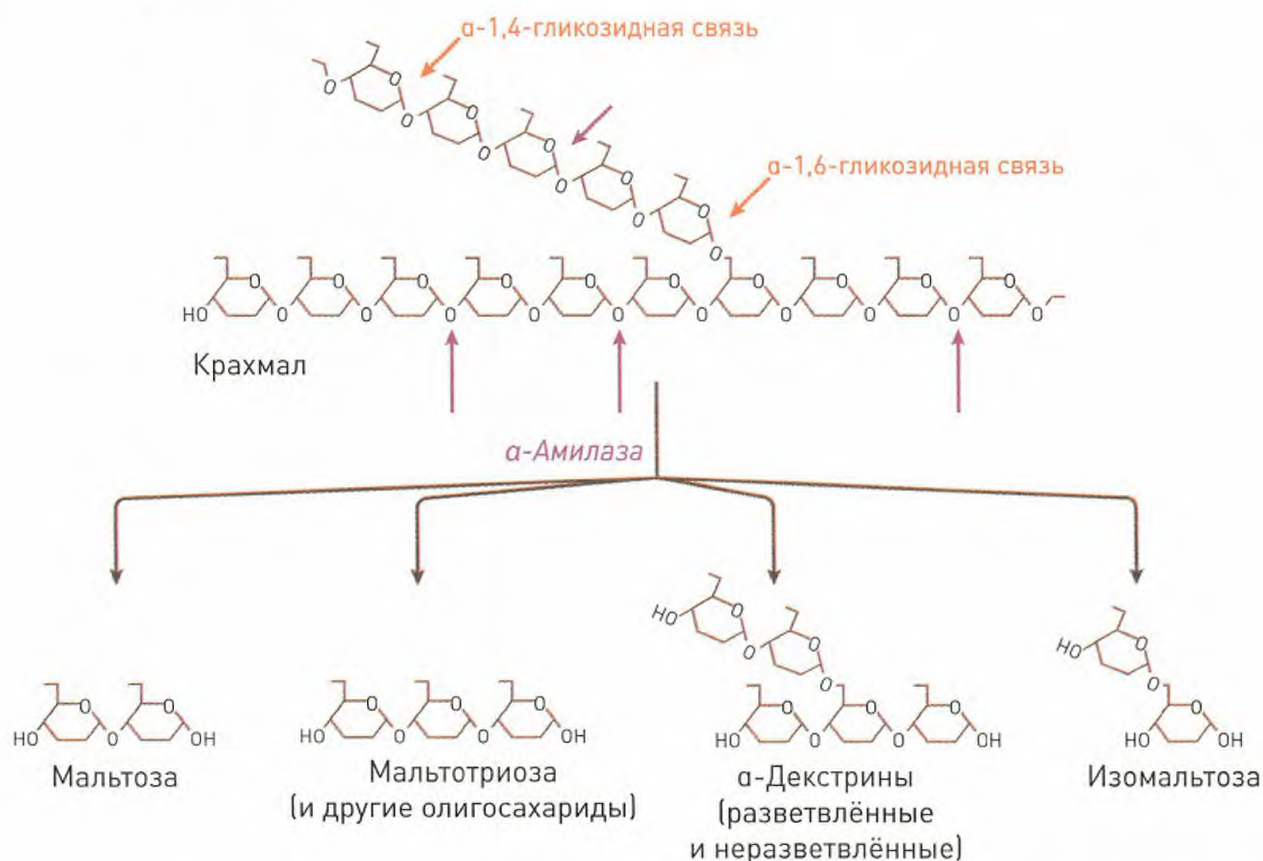
$\alpha$ -Амилаза (1,4- $\alpha$ -D-глюканглюканогидролаза, КФ 3.2.1.1) —  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый фермент, гидролизующий  $\alpha$ 1,4-гликозидные связи в полисахаридах (крахмал, гликоген).  $\alpha$ -Амилаза вырабатывается слюнными железами\* и поджелудочной железой, в обоих случаях имеет оптимум pH 7,0–7,2.  $\alpha$ -Амилаза активируется ионами  $\text{Cl}^-$ .

В полости рта  $\alpha$ -амилаза слюны беспорядочно расщепляет внутренние  $\alpha$ 1,4-гликозидные связи молекул крахмала или гликогена с образованием декстринов — разветвлённых (с  $\alpha$ 1,4- и  $\alpha$ 1,6-гликозидными связями) и неразветвлённых (с  $\alpha$ 1,4-гликозидными связями) олигосахаридов, состоящих из остатков глюкозы. В просвете желудка из-за низкого pH амилаза инак-

\*  $\alpha$ -Амилаза слюны также имеет тривиальное название таилин (англ. *ptyalin*, от греч. *πτυω* плевать).

тивируется, хотя некоторое время расщепление полисахаридов продолжается внутри пищевого комка. При 37 °С и рН 3,3 амилаза слюны полностью инактивируется в течение 20 мин. При повышении рН до 4,3 (недостаточной кислотности желудочного сока) до 50% активности фермента сохраняется в течение 150 мин.

В просвете тонкой кишки гидролиз крахмала и гликогена продолжается уже при участии панкреатической  $\alpha$ -амилазы, расщепляющей внутренние  $\alpha$ 1,4-гликозидные связи с образованием мальтозы, мальтотриозы и ограниченных декстринов.



$\alpha$ -Амилаза слюны кодируется генами *AMY1A*, *AMY1B*, *AMY1C*, панкреатическая  $\alpha$ -амилаза — генами *AMY2A*, *AMY2B*. Вследствие альтернативного сплайсинга этих генов могут получаться существенно различающиеся варианты фермента. В геноме человека, как правило, присутствует несколько копий гена  $\alpha$ -амилазы (все на хромосоме 1), что можно рассматривать как результат эволюционного процесса адаптации к увеличению содержания растительной пищи в рационе. Вероятно, древние люди не имели такого количества копий гена, и  $\alpha$ -амилаза не могла вырабатываться слюнными железами. Это предположение подтверждается тем фактом, что у шимпанзе и бонобо имеется только одна копия гена  $\alpha$ -амилазы, и они существенно хуже усваивают пищу, содержащую сложные углеводы. Кроме того,

число копий гена  $\alpha$ -амилазы у современных людей коррелирует с количеством растительного крахмала в рационе, традиционном для представителей их народа. Минимальное число копий (2–3 копии гена) отмечается у народов, которые традиционно практикуют оленеводство и охоту и в рационе которых преобладает животная пища, как, например, у якутов или пигмеев биака. Максимальное число копий (6–14 копий гена) обнаруживается у европейцев и японцев, в рационе которых в течение нескольких тысячелетий присутствуют углеводы (рис и пшеница).



Определение активности панкреатической  $\alpha$ -амилазы в плазме крови или в моче широко используется для диагностики панкреатита. В норме только небольшое количество амилазы циркулирует в кровотоке и попадает в мочу. В сыворотке крови выделяют панкреатический (P-тип) и слюнный (S-тип) изоферменты амилазы, в норме около 60% активности составляет слюнная амилаза, а остальные 40% — панкреатическая амилаза. При повреждении клеток поджелудочной железы (например, при панкреатите, травме или опухоли поджелудочной железы) или блокаде панкреатического протока камнем либо опухолью амилаза начинает в больших количествах попадать в кровоток, а затем в мочу.

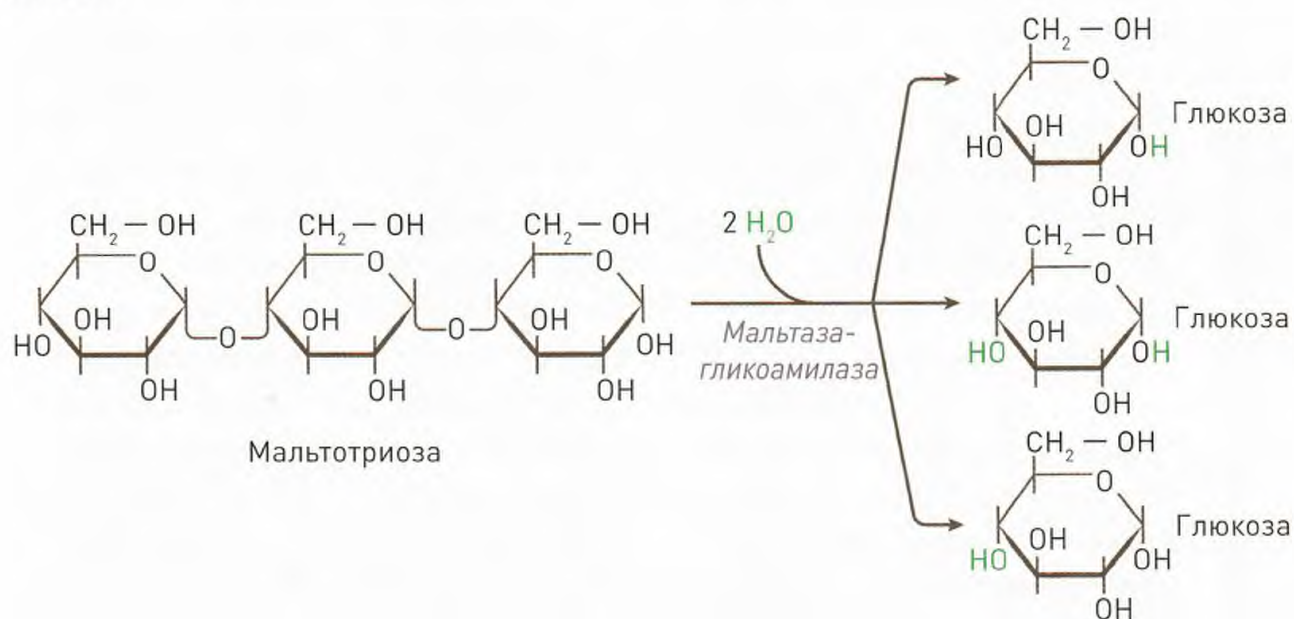
При остром панкреатите активность амилазы может превышать верхнюю границу диапазона референсных значений в 6–10 раз. Активность фермента обычно повышается через 2–12 ч после повреждения поджелудочной железы, достигает максимума через 12–48 ч и сохраняется высокой в течение 3–5 дней. Активность амилазы мочи (иногда называемой также диастазой) соответствует активности амилазы крови, однако повышается и снижается с задержкой 6–10 ч после амилазы крови. Активность амилазы мочи может оставаться повышенной до 7–10 дней после острого приступа панкреатита. Тем не менее у некоторых больных острым панкреатитом активность амилазы иногда повышается незначительно или даже остаётся в норме. Именно поэтому считается, что активность амилазы напрямую не отражает тяжести поражения поджелудочной железы. Например, при массивном панкреатите может происходить гибель большинства клеток, вырабатывающих амилазу, поэтому её активность не изменяется.

Активность общей амилазы в плазме крови также может увеличиваться при травме слюнных желёз, инфекционном паротите (вследствие попадания в кровь амилазы слюны), а также почечной недостаточности (вследствие нарушения экскреции  $\alpha$ -амилазы).

Снижение активности общей амилазы в сыворотке крови может отмечаться при муковисцидозе, снижении внешнесекреторной функции поджелудочной железы.

## Мальтаза-гликоамилаза

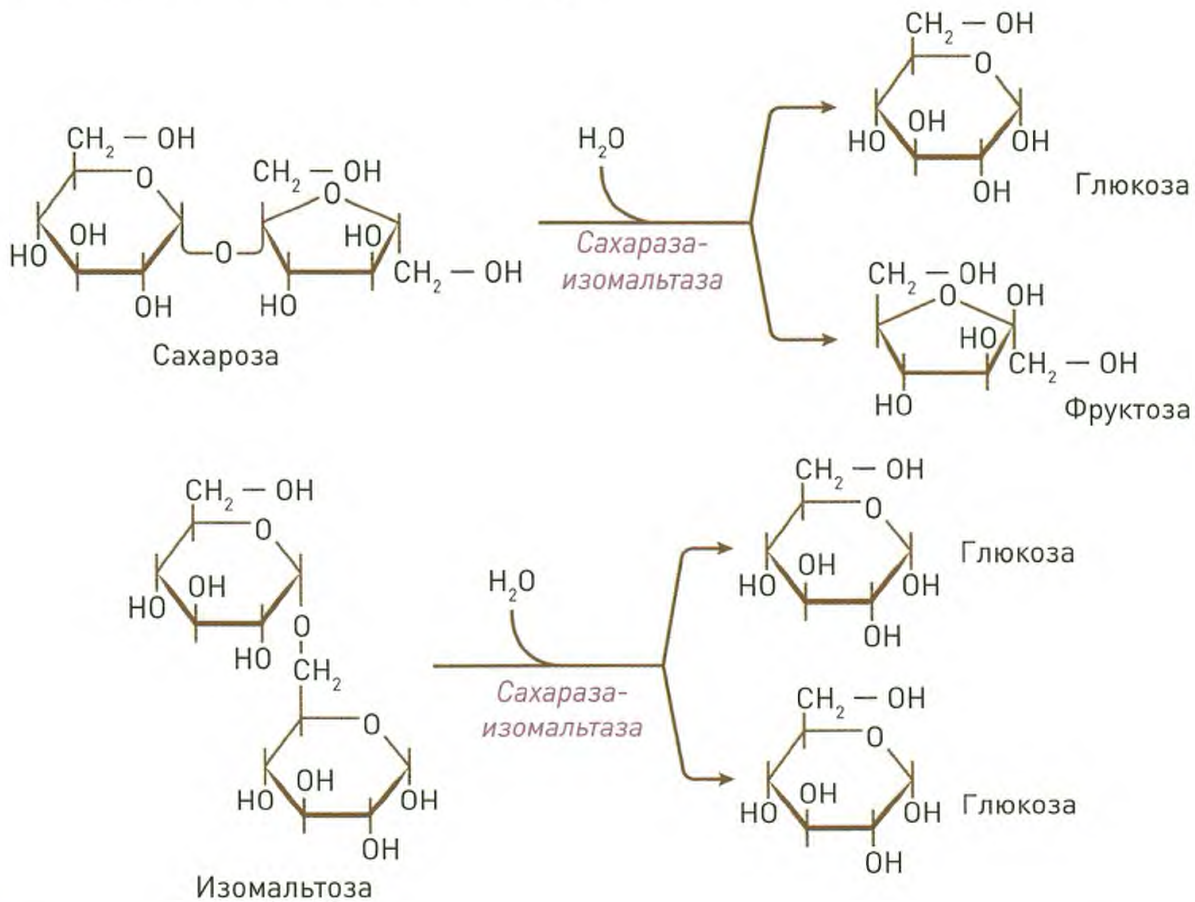
*Мальтаза-гликоамилаза* (глюкан 1,4- $\alpha$ -гликозидаза, 4- $\alpha$ -D-глюкан-гидролаза,  $\gamma$ -амилаза, КФ 3.2.1.3) — фермент пристеночного пищеварения, локализованный на щёточной каёмке апикальной мембраны энтероцитов тонкой кишки, кодируется геном *MGAM*. По массе составляет примерно 2% белков, расположенных на апикальной мембране энтероцитов. Фермент содержит два активных центра, обладающих разным сродством к субстратам. N-терминальный каталитический домен обладает максимальным сродством в отношении мальтозы, в то время как С-терминальный каталитический домен имеет более широкую субстратную специфичность и может катализировать гидролиз до моно- и дисахаридов декстранов с более длинной цепочкой. Максимальную активность мальтаза-гликоамилаза демонстрирует в отношении олигосахаридов, содержащих от 5 до 9 остатков глюкозы, соединённых  $\alpha$ 1,4-гликозидной связью. В кишечнике человека мальтаза-гликоамилаза вместе с  $\alpha$ -амилазой и сахараза-изомальтазным комплексом принимает активное участие в переваривании крахмала и гликогена.



## Сахараза-изомальтаза

*Сахараза-изомальтаза* (сахараза-изомальтазный комплекс) — фермент щёточной каёмки апикальной мембраны энтероцитов тонкой кишки, кодируемый геном *SI*. Четвертичная структура фермента представлена гетеродимером, формирующим два активных центра. В одном активном центре происходит гидролиз  $\alpha$ 1,6-гликозидной связи изомальтозы (изомальтаза,

КФ 3.2.1.10), в другом — гидролиз α1,2-гликозидной связи сахарозы (сахараза, КФ 3.2.1.48). Помимо гидролиза α1,2- и α1,6-гликозидных связей, изомальтазный домен способен также гидролизовать мальтозу, разрушая α1,4-гликозидные связи. Фермент заякоривается в мембране энтероцита при помощи гидрофобного домена, расположенного вблизи N-терминального конца изомальтазного мономера.



### **Врождённый дефицит сахараза-изомальтазного комплекса**

Заболевание широко распространено в популяции инуитов Гренландии, Аляски и Канады (до 10 % населения). В странах Европы дефицит сахараза-изомальтазного комплекса диагностируют у 0,05–0,2% населения. У пациентов с мутациями в гене сахараза-изомальтазы, как правило, нарушен метаболизм сахарозы, но при этом фермент часто сохраняет способность катализировать гидролиз изомальтозы.

Остатки непереваренных углеводов попадают в толстую кишку, повышая осмотическое давление. В просвет кишки по осмотическому градиенту устремляется вода, вызывая водянистую диарею. Расщепление углеводов при участии ферментов микрофлоры толстой кишки (ферментация) стимулирует газообразование и снижает pH кишечного содержимого.



У новорождённых симптомы появляются, когда родители начинают им давать прикорм: фруктовые пюре, соки и сахарозо-содержащие пищевые добавки. Симптомы возникают после приёма углеводной пищи. Классическая клиническая картина включает симптомы диспепсии (боль в животе, метеоризм, диарею или, реже, запоры), гипогликемию, головные боли, а также медленный набор массы тела. Точный диагноз устанавливают при помощи биопсии стенки кишки с последующим определением активности ферментов апикальной мембраны энтероцитов.

У некоторых пациентов возможен вторичный (приобретённый) дефицит сахараза-изомальтазного комплекса вследствие патологии тонкой кишки (болезнь Крона, целиакия или кишечные инфекции).

Лечение может включать изменение рациона питания (исключение углеводов — сахарозы и крахмала — из рациона). В отдельных случаях возможна ферментозаместительная терапия.

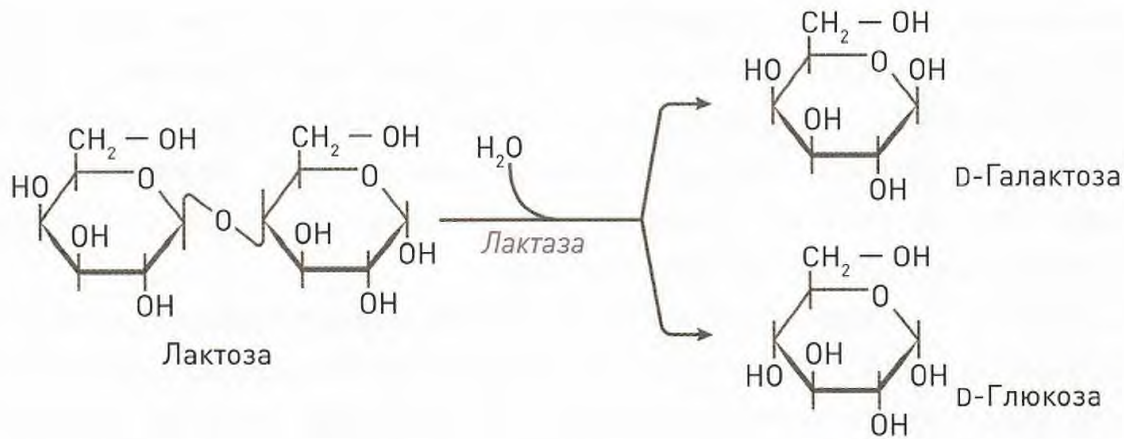
## Лактаза

*Лактаза* (лактаза-флоризин гидролаза, β-галактозидазный комплекс, КФ 3.2.1.108) — фермент, кодируется геном *LCT*, расположен на щёточной каёмке апикальной мембраны энтероцитов тонкой кишки. Катализирует реакцию гидролиза β1,4-гликозидной связи дисахарида лактозы с образованием моносахаридов галактозы и глюкозы. Лактаза — единственный фермент переваривания углеводов, который способен гидролизовать гликозидные связи в β-конфигурации.

В процессе трансляции на рибосомах образуется препролактаза (профермент), который при созревании подвергается посттрансляционной модификации:

- в ЭПР от препролактазы отщепляется сигнальный пептид с образованием пролактазы;
- пролактаза попадает в аппарат Гольджи, где подвергается гликозилированию и частичному протеолизу;
- из аппарата Гольджи зрелый фермент встраивается в апикальную мембрану энтероцита.

С-конец зрелого фермента находится в цитоплазме, а N-конец, несущий активный центр, обращён в просвет тонкой кишки.



Активность лактазы на апикальной мембране энтероцитов у плода определяется, начиная с 8-й недели гестации, и достигает пика к родам. Дети рождаются с высокой экспрессией лактазы, которая жизненно необходима для усвоения молока матери в период грудного вскармливания. Через несколько месяцев жизни экспрессия лактазы начинает постепенно снижаться. Эта особенность характерна для всех млекопитающих и обусловлена типичным пищевым поведением: в рацион особей после прекращения грудного вскармливания молоко и молочные продукты, как правило, не входят, следовательно, нет физиологической необходимости в переваривании лактозы.

У некоторых людей, однако, активность лактазы остаётся высокой и во взрослом возрасте (англ. *lactase persistence*). Сохранение активности лактазы эволюционно связано с одомашниванием скота и развитием молочного животноводства на протяжении последних 10 000 лет, и существенно различается у разных народов. Так, активность лактазы сохраняется во взрослом возрасте у ирландцев (до 100% популяции), шведов, норвежцев и голландцев (более 90%), финнов (около 80%), народов России (70–90%) с уменьшением активности к югу: способность переваривать лактозу во взрослом возрасте сохраняется у примерно 17–30% греков. Наименьшая способность к гидролизу лактозы во взрослом возрасте наблюдается у китайцев, тайцев и народов Юго-Восточной Азии, индейцев Америки (менее 5% популяции) и большинства народов Африки. Однако у некоторых кочевых народов, традиционно практикующих молочное животноводство (фулани, тутси, беджа, нгуни, бедуины), активность лактазы сохраняется высокой, независимо от региона географического проживания, что подтверждает гипотезу об эволюционных изменениях с целью адаптации к рациону питания.

Таким образом, в настоящее время в популяции людей существуют два генетически обусловленных фенотипа — приобретённый фенотип

с сохранением активности лактазы во взрослом возрасте (англ. lactase persistent, до 30–35% населения) и традиционный фенотип с потерей активности лактазы с возрастом (англ. lactase non-persistent, гиполактазия, до 65–70% населения). Оба фенотипа можно считать вариантом нормы, но люди со сниженной активностью лактазы во взрослом возрасте демонстрируют непереносимость лактозы.

У пациентов с сохранением активности лактазы наблюдается более высокая экспрессия мРНК, более высокая активность лактазы и, следовательно, бóльшая способность к перевариванию и усвоению лактозы. Механизмы снижения активности лактазы включают два основных варианта: уменьшение синтеза молекул фермента с возрастом либо снижение интенсивности созревания лактазы и, следовательно, уменьшение образования активной лактазы. Экспрессия гена *LCT* регулируется цис-действующим регуляторным геном *MCM6*, который расположен на хромосоме 2 непосредственно перед *LCT* и выполняет функцию энхансера, «включая» или «выключая» промотор гена *LCT*\*. Анализ ДНК останков древних людей показал, что мутации в гене *MCM6*, поддерживающие ген *LCT* в постоянно «включённом» состоянии, появились примерно 4300 лет назад. Положительное влияние на экспрессию гена *LCT* может также оказывать метилирование его энхансера. Наследование способности поддерживать активную экспрессию лактазы по мере взросления происходит по аутосомно-доминантному механизму, следовательно, пациенты с фенотипом гиполактазии, как правило, гомозиготны.

### **Непереносимость лактозы**



Непереносимость лактозы (или гиполактазия) — термин, использующийся для описания как патологических, так и физиологических состояний, вызванных снижением активности лактазы и, следовательно, сопровождающихся нарушением переваривания лактозы. Выделяют четыре типа непереносимости лактозы\*\*:

- † первичная — обусловлена снижением экспрессии гена *LCT* и, следовательно, активности фермента, с возрастом;
- † вторичная — связана с заболеваниями тонкой кишки (острый гастроэнтерит, целиакия, болезнь Крона, кишечные паразитарные инфекции);

\* Идентифицированы как минимум 7 мутаций гена *MCM6*, обеспечивающие сохранение активности лактазы во взрослом возрасте. В европейской популяции преобладает замена C→T-13910.

\*\* Непереносимость лактозы следует отличать от аллергической реакции на молоко. Аллергия, в отличие от непереносимости лактозы, сопровождается развитием иммунной реакции на белки молока, в частности казеин. Использование безлактозного молока позволяет отличить аллергическую реакцию от непереносимости лактозы.

- † онтогенетическая (англ. developmental) — развивается у недоношенных детей и, как правило, проходит в течение нескольких недель;
- † врождённая — крайне редкое генетическое заболевание, связанное с мутацией гена LCT и потерей активности фермента.

Вследствие нарушения гидролиза лактоза попадает в толстую кишку, где подвергается ферментации (анаэробному окислению) при участии бактерий. В результате ферментации образуются водород,  $\text{CO}_2$  и метан, вызывающие газообразование. Избыток углеводов в толстой кишке повышает осмотическое давление, стимулируя секрецию в просвет толстой кишки воды и диарею.

Первичная непереносимость лактозы встречается примерно у 65–70% населения, с меньшей частотой в Северной Европе и максимальной распространённостью в странах Африки и Ближнего Востока. Первичная непереносимость лактозы манифестирует, как правило, в подростковом возрасте; выраженность симптомов с возрастом постепенно нарастает. Симптомы могут включать боль и урчание в животе, диарею, метеоризм и тошноту, они появляются, как правило, в течение 30–120 мин после употребления в пищу молочных продуктов. Тяжесть клинических проявлений зависит от количества выпитого молока. Большинство людей способны метаболизировать некоторое количество лактозы (как правило, 12–13 г на приём пищи, что соответствует 250 мл молока), и симптомы проявляются только при превышении определённого уровня потребления. Пороговые максимальные количества лактозы, которые могут не вызывать кишечного дискомфорта, зависят от различных факторов, включая уровень остаточной активности лактазы, одновременный приём других пищевых продуктов, время пассажа содержимого ЖКТ, а также состав и скорость пролиферации бактерий толстой кишки. Как правило, симптомы недостаточности лактазы не проявляются до тех пор, пока сохраняется не менее 50% исходной активности. Методы диагностики включают водородный дыхательный тест\*, тест толерантности к лактозе\*\*,

\* Водородный ( $\text{H}_2$ ) дыхательный тест: пациенту натощак дают 25 г лактозы. В случае лактазной недостаточности бактерии кишечника метаболизируют лактозу с образованием водорода и метана, которые, в свою очередь, определяются в выдыхаемом воздухе методом газовой хроматографии. Высокий уровень  $\text{H}_2$  в выдыхаемом воздухе свидетельствует о возможной непереносимости лактозы. У пациентов с недостаточностью лактазы тест может вызвать выраженную диарею, поэтому его не используют у детей. Ложноположительные результаты возможны при избыточном росте бактерий в ЖКТ или быстром пассаже содержимого кишечника, ложноотрицательные — в случае преобладания в микробиоте бактерий, не продуцирующих  $\text{H}_2$ .

\*\* Тест толерантности к лактозе — определение содержания глюкозы в плазме крови после перорального приёма 50 г лактозы натощак. Отсутствие изменений уровня глюкозы плазмы крови или увеличение содержания глюкозы  $<1,1$  ммоль/л в течение 3 ч после приёма лактозы внутрь позволяет предположить непереносимость лактозы. Ложноположительные результаты возможны при нарушении всасывания глюкозы в тонкой кишке, ложноотрицательные — в связи с колебаниями уровня глюкозы плазмы крови.

тест на кислотность кала\*, определение генетического полиморфизма гена MCM6 13910C/T (в европейской популяции), а также определение активности фермента в биоптате стенки тонкой кишки.

Врождённый дефицит лактазы (алактазия) приводит к непереносимости грудного вскармливания. Описано всего около 40 случаев, в основном в Финляндии. В случае если врождённый дефицит лактазы не диагностируется непосредственно после родов, заболевание летально. При диагностике алактазии показано использование безлактозного молока во время вскармливания и полное исключение продуктов, содержащих лактозу, в течение жизни.

Ведение пациентов с непереносимостью лактозы предполагает коррекцию имеющихся симптомов и изменение пищевого поведения с целью предотвращения обострений. Первичная непереносимость лактозы предполагает исключение (или уменьшение потребления) продуктов, содержащих лактозу, из рациона, восполнение дефицита кальция, а также использование ферментозаместительной терапии. Некоторые пациенты могут употреблять продукты, прошедшие процесс молочнокислого брожения (сыр, кефир, творог, йогурт), так как в них в процессе ферментации содержание лактозы существенно снижается. Пациенты с низким порогом чувствительности к молочным продуктам могут употреблять безлактозные молочные продукты\*\*.

Регулярный приём небольшого количества молочных продуктов в течение длительного времени позволяет адаптировать микрофлору кишечника и повысить способность к перевариванию лактозы. Улучшить состав микрофлоры возможно также с помощью йогуртов, содержащих лактобактерии, способные метаболизировать лактозу. Лечение вторичной непереносимости лактозы предполагает в первую очередь лечение основного заболевания. Так, у пациентов с целиакией безглютеновая диета позволяет в течение нескольких месяцев восстановить способность переваривать лактозу.



Таблетированные лекарственные формы  $\beta$ -галактозидазы — фермента, расщепляющего  $\beta$ -гликозидные связи галактозы с другими моносахаридами, — могут использоваться для заместительной терапии непереносимости лактозы.

\* Тест на кислотность кала используют у детей. В случае лактазной недостаточности лактоза достигает толстой кишки, где метаболизируется бактериями с закислением среды. Снижение pH кала менее 5,5 позволяет предположить наличие непереносимости лактозы.

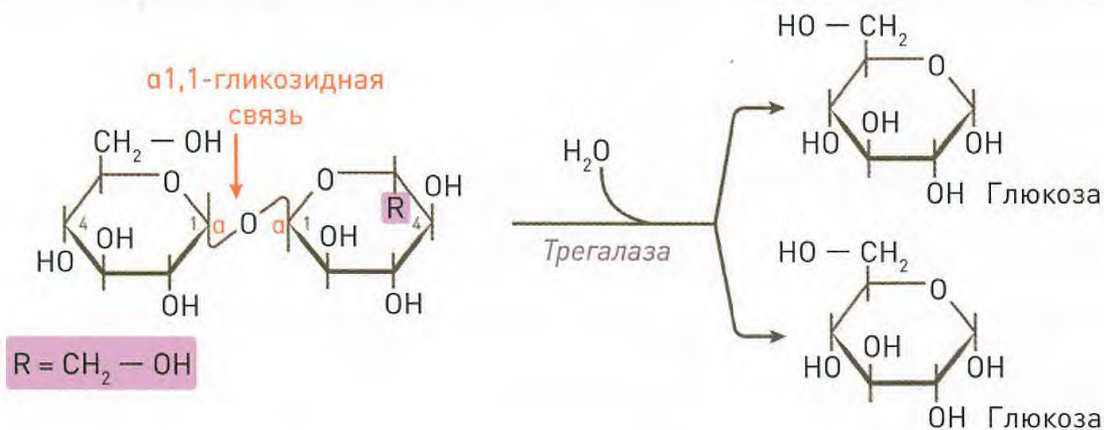
\*\* Для удаления лактозы из молочных продуктов используется рекомбинантная лактаза или другие ферменты, разрушающие лактозу.

## Трегалаза

*Трегалаза* (КФ 3.2.1.28) — фермент щёточной каёмки апикальной мембраны энтероцитов тонкой кишки, гидролизует  $\alpha$ 1,1-гликозидную связь в молекуле трегалозы, кодируется геном *TREN*. Трегалоza служит запасным дисахаридом многих видов микроорганизмов, растений, грибов и животных, за исключением млекопитающих. Трегалоza не является типичным компонентом рациона человека, однако присутствует в существенных количествах в грибах.

### Дефицит трегалазы

При дефиците трегалазы и избытке в рационе трегалозы (например, из грибов), у человека могут появляться симптомы диспепсии (боль и вздутие живота, диарея). Патогенез этих состояний аналогичен непереносимости лактозы или сахарозы: избыток трегалозы в толстой кишке приводит к секреции воды по осмотическому градиенту и диарее, а также избыточному метаболизму трегалозы при участии микрофлоры толстой кишки с повышенным газообразованием.



## Пищевые волокна

*Пищевые волокна* — углевод-содержащие полимеры и лигнин, которые не расщепляются пищеварительными ферментами и не всасываются в тонкой кишке человека. Основную массу пищевых волокон человек получает из продуктов растительного происхождения: фруктов, овощей и цельнозерновых культур. В суточном рационе человека должно быть не менее 30–40 г пищевых волокон. На парафармацевтическом рынке представлен также большой выбор биологически активных или пищевых добавок, содержащих различные пищевые волокна, которые производители рекомендуют применять в качестве энтеросорбентов,

а также для коррекции уровня холестерина плазмы крови, уменьшения риска развития рака толстой кишки, сахарного диабета типа 2 и снижения массы тела (табл. 2.2).

**Таблица 2.2.** Типы пищевых волокон и их источники

Тип пищевых волокон	Пищевые источники
<i>Нерастворимые в воде пищевые волокна</i>	
Целлюлоза	Все продукты растительного происхождения
Хитин	Грибы, экзоскелеты ракообразных
Гемицеллюлоза	Пшеница, ячмень, рожь, овёс
Лигнины*	Продукты растительного происхождения
Ксантан (ксантановая камедь)	Входит в состав соусов и салатных заправок
Неперевариваемый крахмал	Кукуруза и пшеница с высоким содержанием амилозы, ячмень, незрелые бананы, бобовые культуры, картофель и некоторые макаронные изделия
<i>Водорастворимые пищевые волокна</i>	
Арабиноксилан (гемицеллюлоза)	<i>Psyllium</i> (шелуха семян подорожника)
Фруктаны (инулин)	Топинамбур, цикорий и др.
Пектин (полиурониды)	Кожура многих фруктов (яблоки, айва)
Альгинаты (полиурониды)	Водоросли
Раффиноза	Бобовые культуры
Полидекстроза	Синтетический полимер, сахарозаменитель

Пищевые волокна в кишечнике человека выполняют три основные функции: обеспечивают достаточный объём каловых масс, регулируют процесс пищеварения (перистальтику и доступность молекул пищевых продуктов для гидролиза пищеварительными ферментами), а также поддерживают метаболизм микрофлоры толстой кишки. Поскольку пищевые волокна не перевариваются ферментами поджелудочной железы и тонкой кишки, они практически в неизменённом виде достигают толстой кишки. Бактерии

\* Лигнины — высокогетерогенная группа полимеров, полученных из предшественников лигнолов, не относятся к углеводам.

толстой кишки имеют ферменты, способные метаболизировать некоторые пищевые волокна, в первую очередь растворимые. Пищевые волокна влияют на рН тонкой кишки, а также служат субстратами для образования короткоцепочечных жирных кислот под действием бактериальных ферментов. За счёт ферментации бактерии получают энергию для размножения и построения новых клеток.

Растворимые пищевые волокна в процессе пищеварения адсорбируют воду и повышают вязкость химуса, замедляя опорожнение желудка и уменьшая время прохождения пищи по тонкой кишке. Формируя желеобразную массу, они «защищают» часть перевариваемых углеводов от пищеварительных ферментов, растягивая во времени их гидролиз и усвоение, что уменьшает постпрандиальные колебания уровня глюкозы в плазме крови. Растворимые пищевые волокна снижают уровень общего холестерина и холестерина ЛПНП, уменьшая риски сердечно-сосудистых заболеваний. Нерастворимые пищевые волокна ускоряют прохождение пищи по ЖКТ, увеличивают объём кала, что препятствует запорам, а также опосредованно снижают уровень глюкозы в плазме крови.

Пищевые волокна оказывают существенное влияние на обмен холестерина в организме. Они увеличивают выведение холестерина и желчных кислот с каловыми массами, тем самым уменьшая их рециркуляцию. Желчные кислоты задерживаются в каловых массах за счёт того, что пищевые волокна повышают вязкость кала, а лигнин способен их связывать непосредственно. Повышенное выведение желчных кислот перенаправляет запасы холестерина печени на их синтез. Кроме того, в процессе ферментации некоторых пищевых волокон под действием бактериальных ферментов образуются короткоцепочечные жирные кислоты, в частности пропионовая, которые замедляют синтез холестерина гепатоцитами.

*Целлюлоза* — неразветвлённый полисахарид, состоящий из остатков D-глюкозы, связанных β1,4-гликозидными связями. Пищеварительные ферменты человека не могут гидролизовать β1,4-гликозидные связи, но они могут разрушаться под действием бактериальных ферментов — целлюлаз с образованием олигосахаридов — целлобиозы, целлотриозы, целлотетрозы и др. Целлобиоза, в свою очередь, может гидролизироваться бактериальной целлобиазой до двух остатков глюкозы. Глюкоза частично используется самой микрофлорой и окисляется до органических кислот (масляной, молочной), которые стимулируют перистальтику кишечника. Небольшая часть глюкозы может всасываться в кровь.

Хитин также не переваривается в ЖКТ. С экспозицией хитина связывают аллергические реакции на клещей домашней пыли.



*В организме человека экспрессируется хитиназо-3-подобный белок 1 (CHI3L1 или YKL-40), кодируемый геном CHI3L1. Белок YKL-40 не способен катализировать гидролиз хитина, однако его первичная структура высокоомологична хитиназам других биологических видов. Функция белка YKL-40 в организме человека остаётся неясной, но его высокая экспрессия в макрофагах, нейтрофилах, хондроцитах и синовиальных клетках позволяет предполагать, что этот белок может участвовать в воспалительных реакциях, ремоделировании внеклеточного роста, процессах пролиферации. Высокая экспрессия YKL-40 при ряде солидных опухолей повышает выживаемость опухолевых клеток и связана с плохим прогнозом. Повышенные уровни YKL-40 в цереброспинальной жидкости отмечаются при болезни Гентингтона и болезни Альцгеймера, коррелируя с тяжестью заболевания.*

Гемицеллюлоза, в отличие от целлюлозы, которая имеет жёсткую кристаллическую структуру, представляет собой разветвлённые аморфные полисахариды, малоустойчивые к гидролизу и действию различных гемицеллюлаз. Арабиногалактаны, глюкоманнаны и галактоманнаны (гуаровая камедь) используются как эмульгаторы, загустители и стабилизаторы в различных пищевых продуктах (мороженое, мягкие сыры, салатные заправки и др.). Глюкоманнаны входят в состав различных биологически активных добавок, которые позиционируются как средства, способствующие снижению массы тела и устранению запоров. Находясь в желудке, глюкоманнаны «разбухают», формируя желеобразную массу, которая ввиду большого объёма вызывает чувство насыщения. Способность таких БАДов снижать массу тела, однако, не подтверждена клиническими исследованиями. Ксилоглюканы могут расщепляться ферментами *Bacteroides sp.* до олиго- и моносахаридов, которые усваиваются организмом человека.

Лигнины — класс сложных органических полимеров, не относящихся к углеводам, состоят из связанных между собой производных фенола. Лигнины являются структурными компонентами растительных клеток, заполняя собой пространства в клеточной стенке между другими её компонентами — целлюлозами, гемицеллюлозами, пектином. В процессе кишечного пищеварения лигнины выполняют функцию энтеросорбентов, связывая различные микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности, токсины экзогенной и эндогенной природы, билирубин, холестерин, желчные кислоты, ксенобиотики, тяжёлые металлы, двухвалентные катионы. Они практически не подвергаются ферментации при участии бактерий и выводятся с калом в неизменённом виде.



Препараты на основе гидролизованного лигнина (Полифан®, Полифепан® и др.) используются в качестве энтеросорбентов при экзогенных и эндогенных токсикозах различного происхождения: для оказания первой помощи при острых отравлениях лекарственными препаратами, алкалоидами, солями тяжёлых металлов, алкоголем и другими ядами, при комплексном лечении пищевых токсикоинфекций, дисбактериоза, диспепсии, а также гнойно-воспалительных заболеваний, сопровождающихся интоксикацией. Препараты лигнина могут быть полезны при печёночной и почечной недостаточности (гипербилирубинемии и гиперазотемии), применяются для выведения из организма ксенобиотиков.

*Ксантановая камедь* — полисахарид, образующийся в процессе полимеризации глюкозы и сахарозы при обработке ферментами *Xanthomonas campestris*, состоит из повторяющихся остатков глюкозы, маннозы и глюкуроновой кислоты, соединённых между собой различными β-гликозидными связями. Подвергается гидролизу при участии ферментов бактерий ЖКТ. Широко используется в пищевой промышленности в составе пищевых добавок — разрыхлителей и стабилизаторов, существенно повышает вязкость раствора, предотвращая преждевременный гидролиз компонентов пищи.

*Неперевариваемый (устойчивый) крахмал* — не расщепляющийся ферментами ЖКТ человека. Гранулы растительного крахмала, присутствующие в незрелых бананах или сыром картофеле, слишком плотные и не могут эффективно расщепляться α-амилазой. Они достигают толстой кишки, где ферментируются бактериями с образованием короткоцепочечных жирных кислот, которые используются самими бактериями и энтероцитами, а также могут всасываться в кровь и участвовать в метаболизме жирных кислот в печени. Ферментация неперевариваемого крахмала является основным источником масляной кислоты (бутирата) для бактерий толстой кишки. По некоторым данным, наличие достаточного количества неперевариваемого крахмала в рационе может снижать риск развития сахарного диабета типа 2.

*Инулин* не переваривается ферментами ЖКТ человека, но может метаболизироваться бактериями толстой кишки с образованием углекислого газа, метана и водорода. Инулин оказывает пребиотический эффект: обладает способностью ингибировать рост патогенных бактерий и стимулировать рост полезных бактерий ЖКТ. Инулин обладает слегка сладковатым вкусом, его применение в составе пищевых добавок снижает уровень биомаркёров метаболического синдрома. У некоторых пациентов избыток инулина в рационе может вызывать диарею и повышенное газообразование.

*Пектин* используется в пищевой промышленности в качестве желатирующего средства, стабилизатора и загустителя. В ЖКТ человека пектин связывает холестерин, а также углеводы, замедляя их всасывание. Может метаболизироваться бактериями толстой кишки с образованием метанола. Потребление пектина может незначительно (на 3–7%) снижать уровень холестерина ЛПНП в плазме крови. Пектин увеличивает объём и вязкость каловых масс и может способствовать нормализации стула при диарее или запоре.

*Альгинаты* — натриевые, калиевые и кальциевые соли альгиновых кислот — используются в качестве загустителей и желатирующих агентов при производстве напитков, мороженого, желе.



*Альгинаты являются важным компонентом биоплёнок, которые продуцируются синегнойной палочкой *Pseudomonas aeruginosa*, часто поражающей лёгкие у пациентов с муковисцидозом. Альгинаты поддерживают плохую проницаемость биоплёнок для антибактериальных препаратов, что обуславливает высокую антибиотикорезистентность бактерий.*

*Раффиноза* может гидролизироваться до D-галактозы и сахарозы при участии  $\alpha$ -галактозидазы бактерий. При метаболизме раффинозы бактериями толстой кишки образуются короткоцепочечные жирные кислоты. Присутствие раффинозы в рационе оказывает пребиотическое действие: способствует росту лакто- и бифидобактерий.



*Альгинат натрия входит в состав лекарственных препаратов для симптоматического лечения диспепсии, связанной с повышенной кислотностью желудочного сока и гастроэзофагеальным рефлюксом (изжога, кислая отрыжка), ощущения тяжести в желудке после приёма пищи (например, Гевискон®). При приёме внутрь альгинаты быстро реагируют с кислым содержимым желудка. При этом образуется гель альгината, имеющий почти нейтральное значение pH. Гель формирует защитную оболочку на поверхности содержимого желудка и действует до 4 ч, предотвращая возникновение гастроэзофагеального рефлюкса. В случае регургитации гель с большей вероятностью, чем содержимое желудка, попадает в пищевод, где он уменьшает раздражение слизистой оболочки.*

## **Роль бактерий в переваривании углеводов**

Микробиота ЖКТ может метаболизировать углеводы, которые не гидролизуются ферментами человека. При участии бактериальных ферментов пищевые углеводы (как те, которые могут перевариваться ферментами ЖКТ человека, так и пищевые волокна) могут метаболизироваться с образованием газов (водород, углекислый газ и метан), а также короткоцепочечных жирных кислот и их солей: валерата (валериановая кислота, C5\*) бутирата (масляная кислота, C4), пропионата (пропионовая кислота, C3) и ацетата (уксусная кислота, C2). Образованные при участии бактерий ЖКТ жирные кислоты в просвете кишки обеспечивают сами бактерии энергией, необходимой для их жизнедеятельности, снижают уровень pH в толстой кишке, что улучшает всасывание минеральных веществ, а также регулируют местный иммунный ответ, модулируя иммунные и воспалительные реакции.

Пропионат и ацетат всасываются в толстой кишке и попадают в систему воротной вены печени, они могут окисляться в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) с получением энергии либо использоваться для синтеза высших жирных кислот (ВЖК). Опосредованно на организм человека они оказывают следующее влияние:

- стабилизируют уровень глюкозы плазмы крови, регулируя выброс инсулина поджелудочной железой и регулируя распад гликогена в печени;
- стимулируют экспрессию генов транспортёров глюкозы в энтероцитах, регулируя её всасывание в тонкой кишке;
- уменьшают интенсивность синтеза холестерина в печени, снижают уровень холестерина ЛПНП и триацилглицеролов (ТАГ).

Особое значение состав микробиоты и интенсивность метаболизма углеводов при участии бактерий приобретают при недостаточности у пациента собственных ферментов, например низкой активности сахараза-изомальтазного комплекса или лактазы.

## **Гликемический индекс**

*Гликемический индекс*\*\* — условное значение от 0 до 100, отражающее относительное увеличение уровня глюкозы плазмы крови через 2 ч после приёма пищи. Гликемический индекс нормируется относительно чистой

\* Здесь и далее указано количество атомов углерода в составе молекулы.

\*\* Понятие гликемического индекса было впервые введено Дэвидом Дженкинсом в 1981 г. с целью проведения количественной сравнительной оценки скорости переваривания и усвоения различных углевод-содержащих продуктов.

пищевой глюкозы, способность которой повышать уровень глюкозы плазмы крови принят за 100. Гликемический индекс определённых продуктов зависит от количества и типа углеводов, которые в них содержатся. На гликемический индекс влияет содержание жирных кислот, жиров и белков в продукте, а также способ приготовления. Низким считается гликемический индекс менее 55, высоким — более 70.

Гликемический индекс позволяет прогнозировать возможный выброс инсулина в ответ на приём углеводной пищи, при этом следует помнить о существенной вариабельности индивидуальных ответов.

Продукты с низким гликемическим индексом (менее 55) перевариваются медленно, в течение нескольких часов, медленнее усваиваются и вызывают меньшее и отсроченное повышение уровня глюкозы в плазме крови, а следовательно, как правило, уровня инсулина. Глюкоза поступает в кровь по мере усвоения углеводов и постепенно расходуется на физиологические процессы и физическую активность, сохраняя чувство насыщения. В этом случае пищевая глюкоза не используется для пополнения жировых запасов.

Продукты с высоким гликемическим индексом (более 70) быстро гидролизуются и превращаются в глюкозу, которая попадает в кровь. Организм расходует для получения энергии не всю глюкозу, а её избыток превращается в ТАГ. При избыточной массе тела рекомендуется избегать или ограничивать потребление продуктов с высоким гликемическим индексом (табл. 2.3).

**Таблица 2.3.** Гликемические индексы некоторых продуктов

Продукты	Гликемический индекс
Зелень (петрушка, базилик)	5
Авокадо, листовой салат	10
Тофу (соевый творог), соя, отруби, шпинат, брокколи, кочанная капуста, корень сельдерея, брюссельская капуста, цветная капуста, перец чили, свежий огурец, спаржа, имбирь, грибы, кабачок, репчатый лук, лук-порей, оливки, миндаль, кешью, фундук, грецкий орех, кедровый орех, арахис, фисташки	15
Артишок, баклажан, ежевика	20
Зелёная и красная чечевица, золотистая фасоль, соевая мука, вишня, свежая малина, красная смородина, клубника, земляника, крыжовник	25

## Окончание таблицы 2.3

Продукты	Гликемический индекс
Молоко (любой жирности), творог обезжиренный, коричневая и жёлтая чечевица, перловая крупа, батат, свежий абрикос, груша, томат, черника, голубика, маракуйя, мандарин, горький шоколад (более 70% какао), томатный сок	30
Фасоль, дикий (чёрный) рис, яблоко, слива, айва, нектарин, гранат, персик, грейпфрут	35
Курага, чернослив, морковный сок	40
Кокос, свежевыжатый апельсиновый сок	45
Гречка (без предварительной обжарки), рис басмати, коричневый неочищенный рис, апельсин, киви, манго, яблочный сок	50
Спагетти, консервированные персики, песочное печенье, виноград	55
Длиннозёрный рис, овсяная каша, гречка (коричневая, с обжаркой), банан	60
Пшеничная мука, варенье, чёрный дрожжевой хлеб, ржаной хлеб, цельнозерновой хлеб, изюм, пакетированный апельсиновый сок, варёный картофель (в мундире)	65
Пшено, белый рис, кускус, манка, лапша из мягких сортов пшеницы, сырая морковь, ананас, молочный шоколад, картофельные чипсы, сахар (белый или бурый), пельмени	70
Сладкая выпечка (вафли, сдобные булочки), тыква, арбуз, дыня, рисовая каша на молоке	75
Кукурузные хлопья, морковь (варёная или тушёная), варёный картофель, картофельное пюре	85
Рис быстрого приготовления, мёд	90
Консервированные абрикосы, блинчики, запечённый картофель	95
Белый хлеб	100

## Гликемическая нагрузка

Гликемическая нагрузка пищи отражает содержание углеводов в пище и их способность повышать уровень глюкозы плазмы крови. Гликемическая нагрузка рассчитывается на основе гликемического индекса путём перемножения массы углеводов в пище на гликемический индекс продукта, затем полученное значение делится на 100. Одна единица гликемической нагрузки примерно соответствует эффекту приёма внутрь 1 г глюкозы.

Например, гликемический индекс дыни составляет 75. 100 г дыни содержит 5 г углеводов. Гликемическая нагрузка составляет  $(5 \times 75) / 100 = 3,75$ .

## Хлебные единицы

*Хлебная единица* (ХЕ, углеводная единица) — условная единица, используется для приблизительной оценки количества углеводов в продуктах: 1 ХЕ равна 10 г (без учёта пищевых волокон), или 12 г (с учётом пищевых волокон) углеводов, или 20 (25) г хлеба. Понятие хлебных единиц важно для обеспечения гликемического контроля у пациентов с сахарным диабетом. Правильно рассчитанное количество хлебных единиц в рационе больного сахарным диабетом способствует улучшению компенсации нарушений углеводного обмена.

## Рекомендуемая литература

*Michael King. Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.*

Биохимия/Под ред. Е.С. Северина. 5-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020, 768 с.

## Задания для обсуждения



В младенчестве подавляющее большинство детей, за исключением случаев врождённой лактазной недостаточности, способны усваивать материнское молоко. Однако по мере взросления активность лактазы снижается примерно до 10% исходного уровня. Потеря способности переваривать лактозу приводит к тому, что пищевая лактоза достигает толстой кишки, где подвергается окислению бактериальными ферментами, что сопровождается вздутием живота, диареей и другими симптомами диспепсии. Известно несколько мутаций гена лактазы, возникших у человека в недавней истории (7–10 тыс. назад), которые позволили

усваивать лактозу во взрослом состоянии (LP — lactase persistence). Отсутствие супрессии гена лактазы у взрослых имело эволюционные преимущества с точки зрения получения качественного молочного белка. Вместе с тем некоторые негативные аспекты потребления цельного лактозосодержащего молока всё равно остаются. В частности, отмечено, что в популяциях с высоким потреблением цельного коровьего молока распространённость катаракты у взрослых выше.

- А. Напишите реакцию, катализируемую лактазой.
- Б. Поясните, почему избыток лактозы может вызывать описанные симптомы диспепсии.
- В. Поясните механизм образования катаракты у людей, потребляющих высокие количества лактозы.
- Г. Предположите механизмы регуляции активности фермента, приводящие к снижению с возрастом его активности до 10% исходной.



Известно, что викинги побывали в Северной Америке на несколько столетий раньше, чем западные европейцы, однако не сумели организовать на новом континенте постоянные поселения. Одной из причин неприятия викингов коренными американцами, возможно, были неудачные попытки подношения даров. В частности, в знак признательности викинги угощали коренных американцев едой, приготовленной на молоке, после которой у местных жителей появлялись тяжёлые признаки лактазной недостаточности, так как в популяции коренных американцев мутаций, которые подавляли бы супрессию гена лактазы с возрастом, не было. В итоге недопонимание и вражда не позволили викингам обосноваться на новом материке.

- А. Напишите реакцию, катализируемую лактазой.
- Б. Какие симптомы лактазной недостаточности могли отмечаться у коренных народов Америки, и каковы их патогенетические причины?
- В. Поясните, каковы механизмы развития врождённой и приобретённой лактазной недостаточности.



В педиатрическую больницу поступил ребёнок, 5 мес, с диареей. Из анамнеза известно, что диарея у ребёнка появилась с рождения, периодически прогрессировала. Задержки развития не отмечается. Врач предположил недостаточность лактазы и назначил тест на толерантность к лактозе. Натощак ребёнку дали 30 г лактозы, растворённой в воде. Через 30, 60 и 120 мин определяли содержание глюкозы в плазме крови.

- А. Предположите, как будет изменяться содержание глюкозы в плазме крови у ребёнка в случае, если предварительный диагноз оказался верным.
- Б. На какие моносахариды расщепляется лактоза?
- В. Где в организме образуется лактаза и в каком отделе ЖКТ осуществляется переваривание лактозы?
- Г. Каким образом осуществляется всасывание углеводов в тонкой кишке?



Ребёнок в возрасте 2 нед находится на грудном вскармливании. Мать жалуется, что в последние дни он стал беспокойным, часто плачет, плохо спит, во время кормления бросает сосать, кричит. Стул водянистый, с кислым

запахом, пенистый. После кормления у ребёнка урчит в животе. Контакт с инфекционными больными мать исключает. Эпизодов повышения температуры в анамнезе не было. При объективном обследовании живот вздут, при пальпации урчит, ребёнок реагирует на осмотр негативно.

- А. Какое нарушение переваривания углеводов заподозрил врач?
- Б. Какие методы исследования на начальном этапе позволят подтвердить предварительный диагноз? Опишите ожидаемые результаты.
- В. Какие рекомендации следует дать матери по кормлению ребёнка?



18-летний молодой человек переехал в другой город для учёбы в институте. Спустя 2 нед проживания в общежитии он начал жаловаться на дискомфорт и вздутие в животе, диарею и учащённое мочеиспускание. Единственное изменение рациона — он начал употреблять молоко, по 1–2 л в день. Врач решил провести тест толерантности к лактозе и попросил молодого человека выпить водный раствор 50 г лактозы. В течение 2 ч после теста уровень глюкозы плазмы крови увеличился менее чем на 1 ммоль/л. На основании полученных данных врач установил диагноз непереносимости лактозы.

- А. Обозначьте наиболее вероятную причину непереносимости лактозы.
- Б. Приём каких дисахаридов может повысить уровень глюкозы у пациента более значительно, чем на 1 ммоль/л?
- В. Из каких мономеров состоит лактоза?

# 3

## Трансмембранный транспорт моносахаридов

Необходимость использования углеводов в качестве источников энергии ставит перед организмом задачу их транспорта через клеточные мембраны: сначала из просвета кишечника в кровь, затем из крови — в потребляющие их клетки, а также во избежание потери с мочой — из просвета почечного канальца обратно в кровь. Все эти процессы требуют переноса моносахаридов (прежде всего глюкозы) через клеточные мембраны.

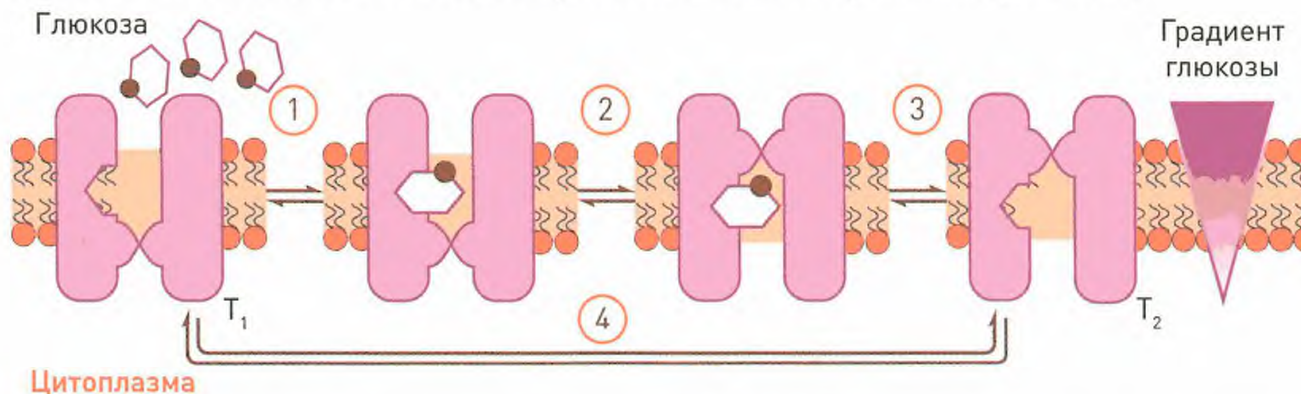
Глюкоза представляет собой полярную молекулу, способную к гидратации, притом довольно крупную, вследствие чего клеточные мембраны практически не пропускают её путём простой диффузии. Именно поэтому транспорт глюкозы, как и других моносахаридов, через плазматические мембраны происходит при участии специальных интегральных мембранных белков — транспортёров глюкозы. В организме человека эту функцию выполняют представители двух семейств транспортёров глюкозы:

- семейство GLUT (унипортеры), переносят глюкозу по механизму облегчённой диффузии по градиенту концентрации;
- семейство SGLT (ко-транспортёры или симпортеры), переносят глюкозу по механизму вторично-активного транспорта против градиента концентрации, расходуя энергию трансмембранного градиента  $\text{Na}^+$ .

## **Транспортёры глюкозы GLUT**

Транспортёры глюкозы GLUT — обширная группа белков, осуществляющих перенос моносахаридов через мембрану путём облегчённой диффузии. Транспортёры GLUT представляют собой белки, содержащие 12 трансмембранных доменов, причём оба конца белка (и N-, и C-конец) обращены в цитоплазму. Связывание моносахарида (например, глюкозы)

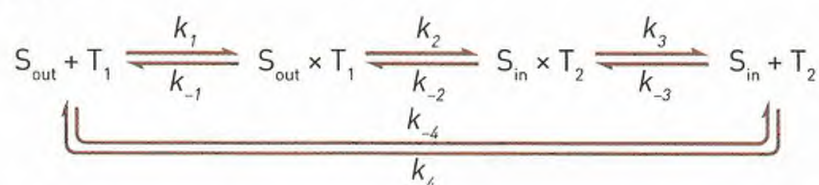
с одной стороны мембраны вызывает конформационные изменения транспортёра с последующим высвобождением моносахарида по другую сторону мембраны. Перенос глюкозы через мембрану при участии GLUT определяется градиентом концентрации глюкозы и может происходить в любом направлении (как в клетку, так и из клетки) и зависит от типа клеток и их метаболизма в конкретный момент времени (рис. 3.1).



**Рис. 3.1.** Схема работы транспортера глюкозы GLUT-1 при переносе молекулы глюкозы через клеточную мембрану.

- 1) Транспортер GLUT находится в конформации  $T_1$ , при этом сайт, связывающий глюкозу, открыт в сторону межклеточного пространства. Глюкоза связывается с GLUT с внешней стороны мембраны.
- 2) Транспортер приобретает конформацию  $T_2$ , сайт связывания глюкозы открывается с внутренней стороны мембраны.
- 3) Глюкоза диссоциирует от сайта связывания, попадая внутрь клетки.
- 4) Восстанавливается исходная конформация  $T_1$ , и транспортер вновь открывается для связывания глюкозы с внешней стороны мембраны.

Процесс транспорта глюкозы через мембрану при участии транспортеров GLUT может быть описан по аналогии с ферментативной реакцией, где глюкоза во внеклеточном пространстве ( $S_{out}$ ) является субстратом реакции, глюкоза внутри клетки ( $S_{in}$ ) — продуктом, а транспортер GLUT ( $T$ ) — «ферментом», катализирующим реакцию переноса молекулы глюкозы через мембрану. Формально процесс транспорта может описываться серией уравнений:



где  $T_1$  — конформация транспортера, в которой он способен связывать глюкозу вне клетки,  $T_2$  — конформация транспортера, в которой он высвобождает глюкозу внутрь клетки; константы  $k_1$  и  $k_{-3}$  определяют скорость связывания глюкозы вне клетки (out) и внутри клетки (in) соответственно,

константы  $k_{-1}$  и  $k_3$  — скорость диссоциации глюкозы и переносчика; константы  $k_2$ ,  $k_{-2}$ ,  $k_4$  и  $k_{-4}$  отражают скорость процесса изменения конформации транспортёра.

Скорость транспорта глюкозы при участии GLUT в клетку подчиняется кинетике Михаэлиса–Ментен:

$$V_0 = k_{cat} [E_0][S]_{out} / \left( [S]_{out} + \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1} \right),$$

где  $[E_0]$  — концентрация транспортёра,  $[S]_{out}$  — концентрация глюкозы во внеклеточной среде,  $k_{cat}$  — величина, показывающая эффективность переноса глюкозы транспортёром, «число оборотов» молекулы транспортёра в единицу времени.

Аналогом константы Михаэлиса для транспортёров GLUT может выступать транспортная константа,  $K_t$ :

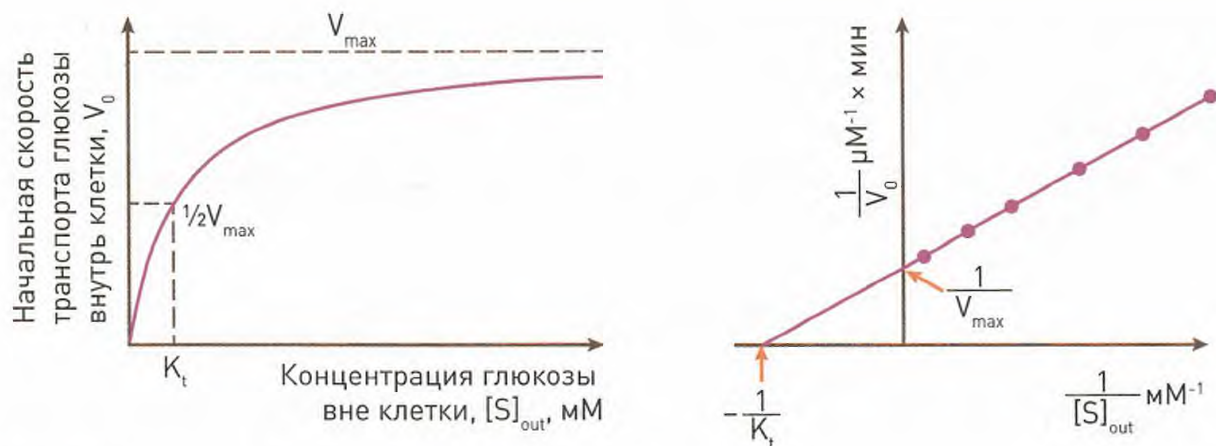
$$K_t = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}.$$

$K_t$  численно равна концентрации субстрата, при которой скорость переноса молекулы глюкозы составляет половину максимальной  $V = \frac{1}{2}V_{max}$ .

Начальная скорость захвата глюкозы изменяется в зависимости от концентрации глюкозы вне клетки. Соответственно зависимость начальной скорости переноса глюкозы в клетку  $V_0$  (скорость увеличения внутриклеточной концентрации глюкозы) от начальной концентрации субстрата (глюкозы) во внеклеточной среде  $[S]_{out}$  описывается функцией:

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]_{out}}{K_t + [S]_{out}}.$$

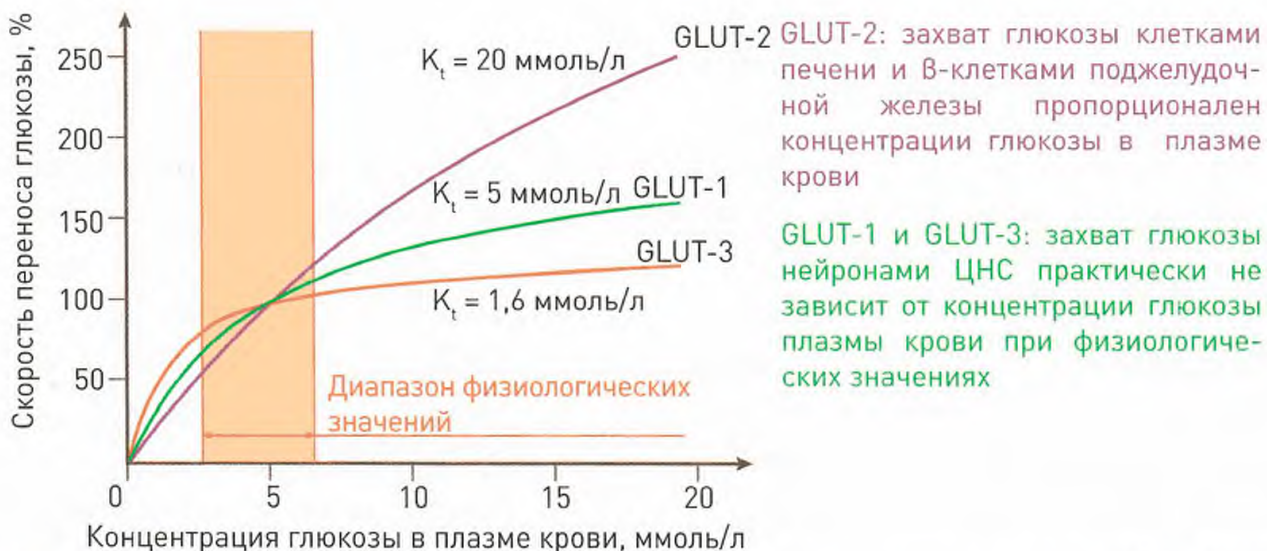
Это уравнение отражает начальную скорость при нулевой концентрации глюкозы внутри клетки,  $[S]_{in} = 0$ , при этом график изменения скорости имеет форму гиперболы: при высокой концентрации глюкозы в плазме крови скорость захвата приближается к  $V_{max}$ . Значения  $K_t$  и  $V_{max}$  можно наглядно определить на графике в координатах Лайнуивера–Берка (рис. 3.2). Если  $[S]_{out} = K_t$ , скорость транспорта составляет  $\frac{1}{2}V_{max}$ . Например, при концентрации глюкозы в плазме крови 4,5–5,0 ммоль/л, GLUT-1 работает практически на максимальной скорости  $V_{max}$ , поскольку такая концентрация близка к  $K_t$ .



**Рис. 3.2.** Кинетика транспорта глюкозы при участии GLUT-1 в эритроциты. Зависимость начальной скорости транспорта ( $V_0$ ) от начальной концентрации субстрата ( $[S]_{out}$ ) описывается гиперболической функцией.  $K_t$  (константа транспорта) является прямым аналогом  $K_m$ , константы Михаэлиса для ферментативных реакций.

Переносчики GLUT могут переносить глюкозу как в клетку, так и из клетки во внеклеточное пространство, в зависимости от градиента концентрации. Поскольку глюкоза внутри клетки быстро фосфорилируется, внутриклеточная концентрация свободной глюкозы почти всегда ниже, чем в кровотоке или внеклеточном пространстве ( $[S]_{in} < [S]_{out}$ ). По мере увеличения  $[S]_{in}$  транспорт глюкозы внутрь клетки замедляется.

В геноме человека закодировано 14 различных белков семейства GLUT. Варианты GLUT различаются по своим кинетическим характеристикам, специфичности по отношению к переносимым моносахаридам, локализацией в клетках и механизмам регуляции их экспрессии (табл. 3.1, рис. 3.3).



**Рис. 3.3.** Кинетика транспорта глюкозы при участии различных переносчиков GLUT (GLUT-1, GLUT-2, GLUT-3). За 100% скорости транспорта принята скорость переноса молекул глюкозы при концентрации в плазме крови 5 ммоль/л.

Таблица 3.1. Транспортёры глюкозы семейства GLUT\*

Тип (ген)	Орган/локализация	$K_m$ , мМ	Функции/свойства
GLUT-1** (SLC2A1)	Эритроциты, эндотелиальные клетки, головной мозг, почки, толстая кишка, сетчатка, плацента, эмбриональные клетки	3–6	Поддержание базального уровня глюкозы в большинстве клеток человека. Количество GLUT-1 на мембране клеток повышается при уменьшении уровня глюкозы плазмы крови и снижается при гипергликемии
GLUT-2 (SLC2A2)	Печень, базолатеральная мембрана энтероцитов тонкой кишки и клеток почечных канальцев, $\beta$ -клетки поджелудочной железы	17	Захват и высвобождение глюкозы клетками печени, «сенсор» глюкозы в $\beta$ -клетках поджелудочной железы, транспорт глюкозы через базолатеральную мембрану энтероцитов и клеток почечных канальцев. Низкоаффинный, способен к транспорту глюкозы в обоих направлениях. Транспортирует глюкозу, галактозу, фруктозу и глюкозамин
GLUT-3 (SLC2A3)	Нейроны головного мозга, плацента, сперматозоиды, эмбриональные клетки	1,4	Поддерживает базальную концентрацию глюкозы в головном мозге даже при низкой концентрации в плазме крови. Высокоаффинный, обладает большим сродством к глюкозе, чем GLUT-1
GLUT-4 (SLC2A4)	Скелетные мышцы, миокард, жировая ткань	5	Инсулин-зависимый переносчик глюкозы. Регулирует инсулин-опосредованное снижение концентрации глюкозы в плазме крови и её депонирование в клетках
GLUT-5 (SLC2A5)	Тонкая кишка (апикальная мембрана), клетки тестикул, сперматозоиды, почки, скелетные мышцы, клетки жировой ткани и головного мозга	—	Транспортёр фруктозы, при существенном трансмембранном градиенте концентрации глюкозы также способен переносить глюкозу

\* На сегодняшний день хорошо охарактеризованы первые пять переносчиков (GLUT-1–GLUT-5). Функции остальных переносчиков GLUT остаются до конца не изученными.

\*\* Помимо молекул глюкозы, GLUT-1 может переносить витамин С. У животных, клетки которых способны к синтезу витамина С, вместо транспортёра GLUT-1 на мембране часто находится GLUT-4.



Белок GLUT-1 является клеточным рецептором для вирусов Т-клеточного лейкоза (*human T-cell leukemia virus, HTLV*) I и II типа. Связываясь с GLUT-1, HTLV получает возможность инфицировать клетку.

## **Транспортёры глюкозы SGLT**

Натрий-зависимые ко-транспортёры глюкозы (sodium-glucose linked transporter, SGLT) — семейство транспортёров глюкозы, экспрессирующихся в энтероцитах тонкой кишки, а также проксимальных канальцах нефронов. Транспортёры SGLT переносят моносахариды по механизму вторично-активного транспорта, это означает, что энергия в процессе переноса затрачивается, но расходуется она не непосредственно на транспорт молекулы, а на создание градиента концентрации другого вещества (иона  $\text{Na}^+$ ). Описаны шесть транспортёров глюкозы из семейства SGLT, из которых наибольшее значение имеют два — SGLT-1 (кодируется геном *SLC5A1*) и SGLT-2 (кодируется геном *SLC5A2*). SGLT-1 играет основную роль во всасывании глюкозы из просвета тонкой кишки, в то время как SGLT-2 важен для реабсорбции глюкозы из просвета почечных канальцев. SGLT-1, помимо глюкозы, может также переносить через мембрану галактозу. Одновременно с одной молекулой глюкозы SGLT-1 переносит в клетку два иона  $\text{Na}^+$ , а SGLT-2 — один ион  $\text{Na}^+$ . Глюкоза переносится против градиента концентрации, а  $\text{Na}^+$  — по градиенту.

## **Всасывание моносахаридов в тонкой кишке**

Образовавшиеся в результате гидролиза крахмала, гликогена и олигосахаридов моносахариды (прежде всего глюкоза, галактоза и фруктоза) для усвоения клетками организма должны попасть из просвета тонкой кишки в кровь. Для этого им необходимо преодолеть, как минимум, две мембраны — апикальную мембрану энтероцита и его базальную мембрану. Транспорт глюкозы и галактозы через апикальную мембрану проходит при участии SGLT-1, фруктоза переносится при помощи GLUT-5. GLUT-5 также может переносить и глюкозу, но только при её высокой концентрации в просвете кишки. Через базолатеральную мембрану энтероцита в кровь глюкоза, фруктоза и галактоза переносятся по механизму облегчённой диффузии при помощи транспортёра GLUT-2.

SGLT-1 переносит глюкозу через апикальную мембрану энтероцита за счёт энергии, которая образуется при работе  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза, расположенная на базолатеральной мембране энтероцита, использует

молекулу АТФ для перемещения трёх ионов  $\text{Na}^+$  из клетки в кровоток, перенося при этом в клетку два иона  $\text{K}^+$ . Образующийся при этом градиент ионов  $\text{Na}^+$  (в клетке их существенно меньше, чем в крови) используется транспортером SGLT-1 для транспорта глюкозы из просвета тонкой кишки через апикальную мембрану в клетку. При этом молекула глюкозы переносится против градиента концентрации с использованием энергии, полученной при одновременном переносе двух ионов  $\text{Na}^+$  по градиенту концентрации (рис. 3.4). Следовательно, чем больше градиент  $\text{Na}^+$ , тем активнее глюкоза поступает в энтероциты. Если концентрация  $\text{Na}^+$  во внеклеточной жидкости уменьшается, транспорт глюкозы снижается.

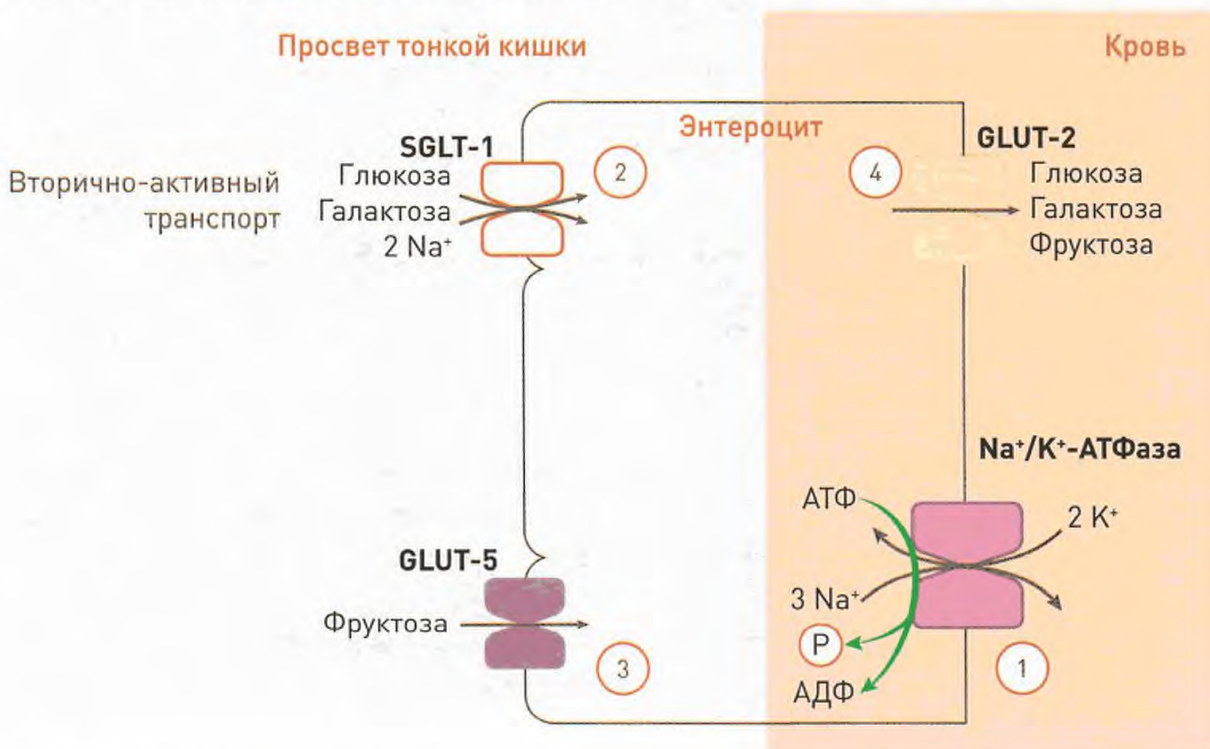


Рис. 3.4. Механизмы всасывания моносахаридов в тонкой кишке.

- ①  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза увеличивает градиент концентрации  $\text{Na}^+$  с затратой энергии АТФ, выкачивая  $\text{Na}^+$  из клетки в межклеточное пространство или кровь. Три иона  $\text{Na}^+$  переносятся из клетки в кровоток, обратно в клетку переходят два иона  $\text{K}^+$ .
- ②  $\text{Na}^+$  заходит обратно в клетку по градиенту концентрации одновременно с глюкозой, которая транспортируется против градиента концентрации. Для реабсорбции  $\text{Na}^+$  необходима глюкоза, в её отсутствие транспортёр не работает.
- ③ Фруктоза через апикальную мембрану переносится при помощи транспортёра GLUT-5. Этот же транспортёр может переносить и глюкозу в случае, если её концентрация в просвете кишки высока.
- ④ Через базолатеральную мембрану энтероцита в кровь как фруктоза, так и глюкоза с галактозой переносятся при помощи транспортёра GLUT-2 (облегчённая диффузия).



### **Мальабсорбция глюкозы и галактозы**

Врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным наследованием, обусловленное мутацией в гене *SLC5A1*. Это редкое заболевание, во всём мире диагностировано всего несколько сотен случаев. Однако снижение способности энтероцитов к транспорту глюкозы разной степени выраженности наблюдается примерно у 10% населения.

Вследствие мутации образуется неактивный белок *SGLT-1*, неспособный переносить глюкозу и галактозу через апикальную мембрану энтероцита. Моносахариды, не всосавшиеся в тонкой кишке, попадают в толстую кишку, где увеличивают осмотический градиент, что вызывает задержку в толстой кишке воды. Как следствие, развивается диарея, затем общая дегидратация и ацидоз. У некоторых детей отмечается глюкозурия.

Проявляется, как правило, в первые дни жизни. В отсутствие лечения заболевание летально. Из рациона исключают углеводы, при необходимости вместо глюкозо- и галактозосодержащих углеводов в рацион вводят фруктозу.

### **Мальабсорбция фруктозы**

Врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным наследованием, обусловленное мутацией в гене *SLC2A5*. У здорового взрослого человека в среднем после одного приёма пищи может всасываться 25–50 г фруктозы, при недостаточности *GLUT-5* усваивается менее 25 г. Недостаточность *GLUT-5* также может быть вторичной — вследствие энтерита или целиакии снижается содержание *GLUT-5* в апикальной мембране энтероцитов.

Накопление фруктозы в просвете кишки повышает осмотическое давление и задерживает воду. Фруктоза активно потребляется микрофлорой толстой кишки и метаболизируется с образованием водорода, метана и углекислого газа, что вызывает метеоризм, спазмы, диарею. Пациентам с мальабсорбцией фруктозы следует исключить фруктозу из рациона.

При разной концентрации глюкозы в просвете тонкой кишки работают различные механизмы транспорта. Благодаря активному транспорту при участии *SGLT-1* энтероциты могут поглощать глюкозу при её низкой концентрации в просвете тонкой кишки. Если же концентрация глюкозы в просвете тонкой кишки велика, то она может транспортироваться в клетку путём облегчённой диффузии при помощи переносчиков *GLUT*. Высокая концентрация глюкозы в просвете тонкой кишки стимулирует встраивание в апикальную мембрану энтероцитов переносчиков *GLUT-2*, которые помогают *SGLT-1* перенести в энтероцит больше глюкозы.

Следует отметить, что скорость всасывания глюкозы и галактозы в тонкой кишке гораздо выше, чем других моносахаридов. Так, если скорость всасывания глюкозы принять за 100%, то относительная скорость переноса галактозы составит 110%, фруктозы — около 40%, маннозы — около 20%.

## Транспорт глюкозы из крови в клетки

Захват глюкозы из кровотока потребляющими её клетками происходит также путём облегчённой диффузии при участии транспортёров семейства GLUT. Следовательно, скорость трансмембранного потока глюкозы зависит от градиента её концентрации и количества молекул транспортёров в мембране клетки. В большинстве клеток количество встроенных в мембрану транспортёров предопределено генетически и коррелирует с интенсивностью внутриклеточного метаболизма глюкозы. Максимальная экспрессия GLUT-1 у взрослых наблюдается в эритроцитах, а также в клетках эндотелия сосудов, формирующих гематоэнцефалический барьер. Транспортёров GLUT-1 в мембранах эритроцитов на несколько порядков больше, чем в мембранах гепатоцитов. В некоторых клетках — клетках мышц и жировой ткани количество молекул транспортёров GLUT (точнее, GLUT-4) может регулироваться инсулином.

### **Врождённый дефицит GLUT-1 (болезнь Де Виво)**

Генетическое заболевание с аутосомно-доминантным или, реже, аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловлено мутациями в гене *SLC2A1*.

Примерно 90% случаев обусловлено мутациями *de novo*. Распространённость — 1 на 90 тыс. новорождённых. Образование дефектного белка GLUT-1 уменьшает доступность глюкозы для клеток головного мозга, что вызывает дефицит энергии в нейронах и замедление развития головного мозга. Разные мутации в гене *SLC2A1* могут вызывать различные клинические проявления. Преобладают задержка развития, неврологические симптомы (спастичность, атаксия, дистония), вследствие снижения снабжения глюкозой эритроцитов возможна гемолитическая анемия.

Классический дефицит GLUT-1 типа I манифестирует преимущественно неврологическими симптомами. Наиболее тяжёлый вариант проявляется эпилептической энцефалопатией, задержкой развития, микроцефалией, нарушением координации движений и спастичностью. Возможны атаксия, летаргия, нарушения сна, головная боль. Первые признаки проявляются, как правило, в течение первых 4 мес жизни, часто начальными симптомами выступают произвольные движения глаз.

Дефицит GLUT-1 типа II наследуется по аутосомно-доминантному механизму, проявляется преимущественно дискинезией: произвольными движениями (дистония, хореоатетоз), которые могут провоцироваться физической нагрузкой. У некоторых пациентов развивается эпилепсия, возможны умеренная задержка развития, макроцитарная гемолитическая анемия.

Отдельные мутации (например, Гли286Асп) вызывают стоматин-дефицитный\*

\* Стоматин — мембранный белок эритроцитов, дефекты или дефицит которого могут нарушать трансмембранный перенос ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  и вызывать гемолитическую анемию.

криогидроцитоз с неврологическими дефектами, заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, характеризующееся гемолитической анемией; гемолизом, который индуцируется холодом; а также гиперкалиемией, гипербилирубинемией, гепатоспленомегалией, катарактой, задержкой развития и нарушениями движения.

Диагностику дефицита GLUT-1 проводят путём определения концентрации глюкозы в цереброспинальной жидкости (<2,2 ммоль/л) либо по сниженному соотношению концентрации глюкозы в цереброспинальной жидкости/плазме крови (<40%). Для подтверждения диагноза проводят генетическое обследование.

Пациентам с дефицитом GLUT-1 рекомендуют кетогенную диету, которая позволяет «переключить» головной мозг на использование кетоновых тел вместо глюкозы в качестве источников энергии. С помощью кетогенной диеты удаётся контролировать прогрессирование неврологических нарушений и улучшать координацию движений примерно у 2/3 пациентов, но она существенно не влияет на имеющиеся у ребёнка когнитивные нарушения.

Транспортёры GLUT-2 обнаруживаются в энтероцитах, гепатоцитах, клетках почечных канальцев и В-клетках поджелудочной железы. GLUT-2 имеет максимальную  $K_t = 17$  мМ (минимальное сродство) к глюкозе среди всех основных переносчиков глюкозы. Благодаря относительно низкому сродству GLUT-2 к глюкозе печень и В-клетки поджелудочной железы начинают захватывать глюкозу из крови последними, когда её уровень в плазме крови уже достаточно высок. GLUT-2 в гепатоцитах после приёма пищи захватывают глюкозу, а в постабсорбтивный период и при голодании поставляют её в кровь. Присутствуя на мембранах В-клеток островков Лангерганса, GLUT-2 переносит глюкозу внутрь при увеличении концентрации в плазме крови более 5,5 ммоль/л и выпускает из клетки наружу при её снижении. Повышение внутриклеточной концентрации глюкозы в В-клетках запускает механизм секреции инсулина, таким образом, GLUT-2 выступает «сенсором» глюкозы, реагируя на её относительный избыток в плазме крови.

#### **Врождённый дефицит GLUT-2 (синдром Фанкони–Бикеля)\***

Редкое наследственное заболевание, обусловлено мутациями в гене SLC2A2. Вследствие накопления избытка гликогена в печени проявляется гепатомегалией. У некоторых пациентов появляются симптомы непереносимости глюкозы и галактозы (вследствие нарушения их всасывания в тонкой кишке), гипогликемия натощак, а также нефропатия проксимальных канальцев.

\* Ранее классифицировался как гликогеноз XI типа, что сейчас считается некорректным.

## Транспорт глюкозы через гематоэнцефалический барьер

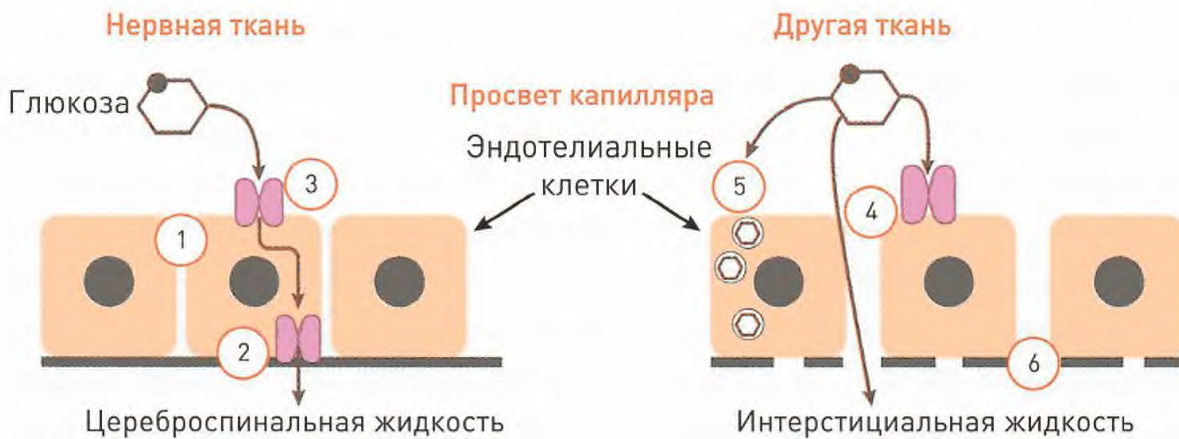


Рис. 3.5. Особенности транспорта глюкозы через гематоэнцефалический барьер.

- ① Плотные контакты между эндотелиальными клетками и узкое межклеточное пространство, отсутствие пиноцитоза.
- ② Непрерывная базальная мембрана.
- ③ Глюкоза переносится через мембрану только при участии транспортёров, главным образом GLUT-1, а также GLUT-3.
- ④ Неплотные контакты и широкие межклеточные промежутки, через которые глюкоза может попадать в межклеточную жидкость и диффундировать к клеткам, находящимся во втором-третьем ряду от кровеносного сосуда.
- ⑤ Глюкоза может попадать в клетку при помощи пиноцитоза.
- ⑥ Прерывистая базальная мембрана.

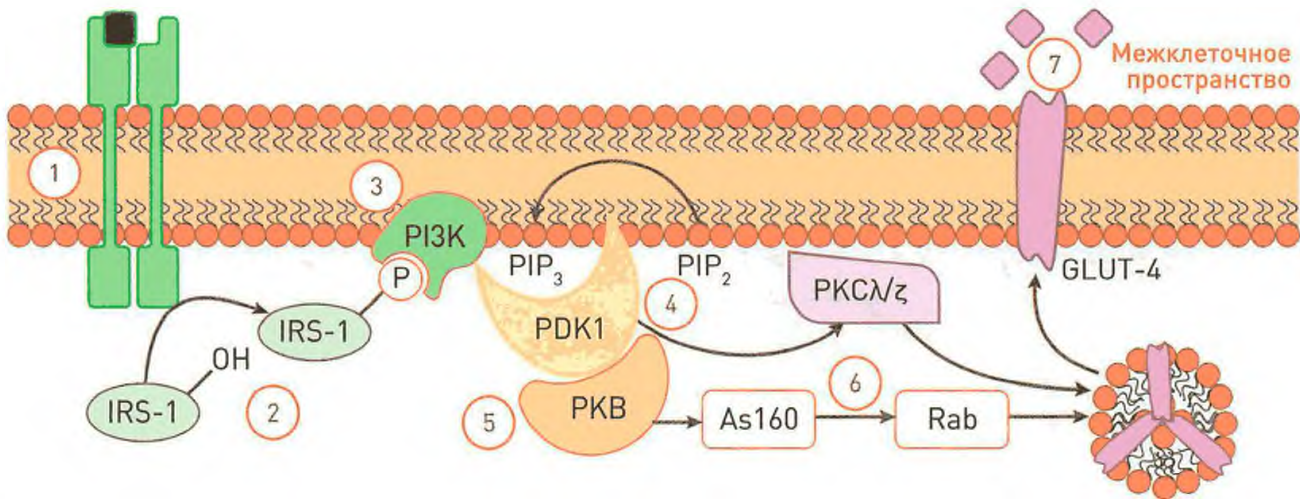
Клетки головного мозга особенно чувствительны к снижению содержания глюкозы, и их нормальное функционирование в значительной степени зависит от её доступности. Для того чтобы преодолеть гематоэнцефалический барьер, глюкоза транспортируется в астроциты через эндотелиальные клетки кровеносных сосудов, а уже из астроцитов попадает к нейронам (рис. 3.5). Транспорт происходит при участии GLUT-1, которые располагаются в мембране клеток эндотелия, находящихся на границе между кровью и межклеточным пространством, а также в плазматической мембране астроцитов. Помимо GLUT-1, нейроны активно экспрессируют GLUT-3, «пропускная способность» которого для глюкозы примерно в пять раз выше, чем у GLUT-1 и GLUT-4. GLUT-3 обладает минимальной  $K_t$  в отношении глюкозы среди переносчиков GLUT, что даёт нейронам определённое преимущество: при низкой концентрации глюкозы в плазме крови они могут использовать её в приоритетном порядке.

## Инсулин-зависимый транспорт глюкозы через мембрану

В клетках скелетных мышц, миокарда и жировой ткани транспорт глюкозы осуществляется, помимо GLUT-1, при участии GLUT-4. В состоянии покоя GLUT-4 почти полностью находятся в мембранных везикулах в цитоплазме клеток. В клетках скелетных мышц присутствуют два типа везикул, содержащих GLUT-4: имеющие в мембране трансферрин и не содержащие трансферин. Они отвечают на разные типы стимулов. Везикулы, содержащие трансферрин, встраиваются в мембрану при активной работе мышц (физической нагрузке), в то время как везикулы, которые не содержат трансферрин, могут встраиваться в мембрану как вследствие мышечного сокращения, так и в результате активации под действием инсулина.

Связывание инсулина с рецептором запускает каскад внутриклеточных процессов, приводящих к перемещению везикул, содержащих GLUT-4, к плазматической мембране, слиянию с ней и встраиванию транспортёров в мембрану (рис. 3.6). Это приводит к увеличению транспорта глюкозы в клетки после приёма пищи: выброс инсулина поджелудочной железой повышает способность адипоцитов захватывать глюкозу из плазмы крови примерно в 20–30 раз. После падения содержания глюкозы в плазме крови в результате снижения концентрации инсулина транспортёры глюкозы в составе везикул снова перемещаются в цитоплазму, и поступление глюкозы в клетку прекращается.

Связывание инсулина с рецептором вызывает фосфорилирование белка IRS-1, который активирует фосфатидилинозитол-3-киназу. Она, в свою очередь, превращает фосфатидилинозитолбисфосфат ( $PIP_2$ ) в фосфатидилинозитолтрифосфат ( $PIP_3$ ). Фосфатидилинозитолтрифосфат активирует PDK1 ( $PIP_3$ -dependent kinase 1), PDK1 активирует протеинкиназу PKB/Akt и протеинкиназу C ( $PKC\lambda/\zeta$ ). Протеинкиназа B фосфорилирует TBC1D4, который через белки группы Rab стимулирует встраивание везикул, содержащих GLUT-4, в клеточную мембрану. Активированная  $PKC\lambda/\zeta$  дополнительно фосфорилирует внутриклеточные везикулы, одновременно с этим инсулин активирует ГТФазу RAC1, которая способствует перестройке актинового цитоскелета клетки и облегчает перемещение везикул к цитоплазматической мембране.



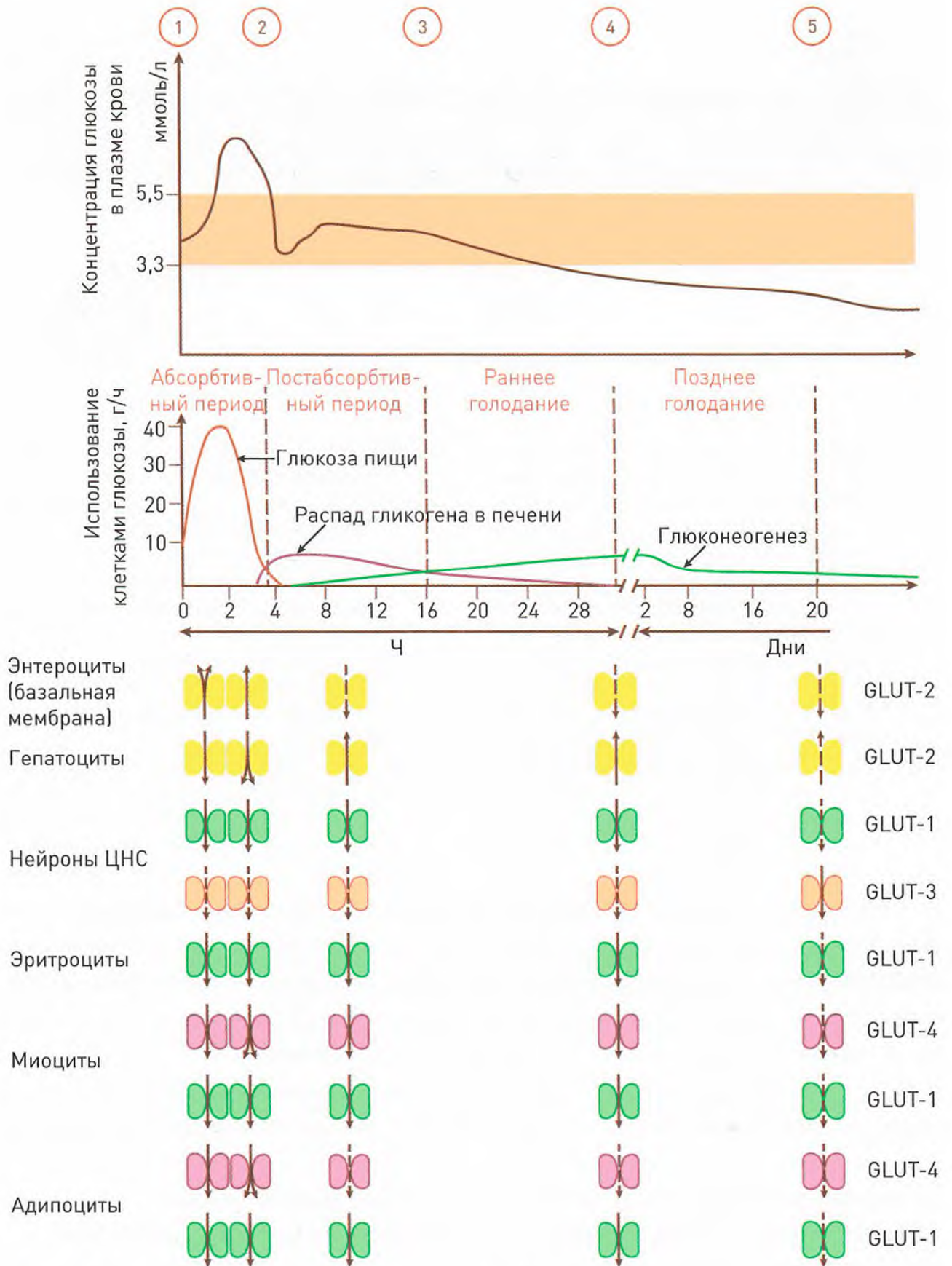
**Рис. 3.6.** Передача сигнала от рецепторов инсулина, встраивание рецепторов GLUT-4 в мембрану.

- ① Рецепторы инсулина при связывании с лигандом димеризуются и происходит аутофосфорилирование цитоплазматических доменов каждого мономера по остаткам тирозина. При этом один мономер фосфорилирует внутриклеточный домен другого (партнёрского) мономера.
- ② При фосфорилировании остатка тирозина внутриклеточный домен рецепторной тирозинкиназы приобретает способность фосфорилировать адаптерный белок IRS-1 (insulin receptor substrate 1).
- ③ Фосфорилированный IRS-1 активирует PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназу), которая превращает фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат ( $PIP_2$ ) в фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат.
- ④ Фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат активирует протеинкиназу PDK1.
- ⑤ PDK1 фосфорилирует протеинкиназу B (PKB/Akt2) по остатку серина Сер-473, что приводит к её активации.
- ⑥ PKB/Akt2 фосфорилирует ГТФ-связывающий белок AS160 (Akt substrate 160 кДа), что приводит к активации белков семейства Rab, которые стимулируют встраивание внутриклеточных везикул, содержащих GLUT-4, в плазматическую мембрану.
- ⑦ GLUT-4 обеспечивает поступление глюкозы в клетку, повышая её внутриклеточную концентрацию и увеличивая доступность субстрата для синтеза гликогена.

Благодаря наличию GLUT-4 скелетные мышцы, миокард и жировая ткань чувствительны к действию инсулина и называются *инсулин-зависимыми*. Нервная ткань, стекловидное тело, хрусталик, сетчатка, клубочковые клетки почек, семенники и эритроциты не экспрессируют GLUT-4, нечувствительны к действию инсулина и считаются *инсулин-независимыми*.

При сахарном диабете типа 2 нарушается позиционирование GLUT-4 на плазматической мембране и, следовательно, отмечается нарушение его функции:

- внутриклеточной передачи сигнала от рецепторов инсулина;
- перемещения везикул, содержащих транспортёр GLUT-4, в цитоплазме;
- включения в состав мембраны.



**Рис. 3.7.** Упрощённая схема работы транспортёров глюкозы GLUT при различном уровне глюкозы в плазме крови. Направление стрелки вниз означает транспорт через мембрану со стороны внеклеточного пространства в цитоплазму, направление стрелок вверх — из цитоплазмы во внеклеточное пространство (кровоток).

- 1 В период непосредственно после приёма углеводной пищи (абсорбтивный период, 2–3 ч после еды) основным источником глюкозы в плазме крови является пищевая глюкоза. Концентрация свободной глюкозы в просвете кишки выше, чем в энтероцитах, а в энтероцитах — выше, чем в плазме крови. Транспортёры GLUT-2 через базолатеральную мембрану энтероцита переносят глюкозу в кровотоки. Из кровотока при помощи GLUT-1 она поступает в эритроциты, клетки ЦНС, плаценту, лактирующую молочную железу, в значительно меньшей степени — в клетки жировой и мышечной ткани, в печень.
- 2 После того как уровень глюкозы плазмы крови за счёт её поступления из просвета кишки достиг верхней границы диапазона нормальных значений (>5–6 ммоль/л), она начинает при помощи транспортёра GLUT-2 поступать в  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, что приводит к выбросу из них инсулина. В гепатоцитах транспортёр GLUT-2 переносит глюкозу внутрь клетки, что повышает её внутриклеточную концентрацию, и она начинает использоваться для синтеза гликогена. Одновременно с этим инсулин стимулирует встраивание в мембраны GLUT-4, которые интенсивно захватывают глюкозу из крови и стимулируют её накопление в мышечной ткани — в виде гликогена либо в жировой ткани — в виде ТАГ. Эритроциты и нейроны ЦНС при этом продолжают получать глюкозу преимущественно при помощи GLUT-1.
- 3 Интенсивный захват глюкозы из кровотока при помощи GLUT-4 мышечной и жировой ткани «роняет» её концентрацию в плазме крови до нижней границы диапазона нормальных значений. Это вызывает выброс глюкагона, который стимулирует мобилизацию гликогена печени и ТАГ жировой ткани. Поскольку концентрация глюкозы в энтероцитах упала, GLUT-2 перестаёт выкачивать её наружу из энтероцита, и может даже переносить из кровотока внутрь клетки (однако на практике энтероцит поддерживает способность синтеза глюкозы из неуглеводных источников и компенсирует дефицит глюкозы для внутренних нужд самостоятельно). В клетках печени происходит мобилизация гликогена, вследствие чего внутриклеточная концентрация глюкозы оказывается выше, чем в кровотоке. Соответственно GLUT-2 гепатоцитов начинает выводить глюкозу из клеток в кровотоки, обеспечивая ею другие органы и ткани. Эритроциты и нейроны продолжают захватывать глюкозу из кровотока при помощи GLUT-1. Транспорт глюкозы в миоциты и адипоциты существенно замедляется. Запасы гликогена в печени поддерживают концентрацию глюкозы в пределах нормальных значений в течение 12–24 ч.
- 4 После того как запасы гликогена в печени закончились, у организма остаётся последний способ поддержать падающую концентрацию глюкозы в плазме крови — за счёт синтеза глюкозы из неуглеводных источников (аминокислот, глицерола и пирувата) — глюконеогенеза. Глюконеогенез протекает в клетках печени и почек, соответственно GLUT-2 продолжает выкачивать глюкозу из гепатоцита.
- 5 По мере дальнейшего снижения концентрация глюкозы плазмы крови в ходе голодания падает ниже минимальной границы диапазона нормальных значений. Печень продолжает («из последних сил») поставлять глюкозу в кровь при помощи GLUT-2, а остальные органы получают её в порядке следующего приоритета: нейроны ЦНС — преимущественно с помощью GLUT-3 (которые имеют максимальную способность к захвату глюкозы и переносу её в клетку, но экспрессируются в небольшом количестве, поэтому их роль становится более значимой при низкой концентрации) и GLUT-1; эритроциты — с помощью GLUT-1 (которые экспрессируются в эритроцитах в очень большом количестве). Остальные органы и ткани снабжаются глюкозой по «остаточному» принципу, постепенно переключаясь на альтернативные источники энергии — жирные кислоты и кетоновые тела.

## Реабсорбция глюкозы в почечных канальцах

Глюкоза, отфильтрованная в первичную мочу, может всасываться в проксимальных почечных канальцах по механизму вторично-активного транспорта при участии белков SGLT. Благодаря этому механизму глюкоза может реабсорбироваться даже в том случае, если её концентрация в первичной моче меньше, чем в клетках почечных канальцев. Около 90% глюкозы всасывается обратно в кровь в извитых проксимальных почечных канальцах нефрона (сегменты  $S_1$  и  $S_2$ ) при участии SGLT-2. Остальные 10% глюкозы всасывается с помощью SGLT-1 в дистальной части канальцев — сегменте  $S_3$ .

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза, расположенная на базолатеральной мембране клетки проксимального почечного канальца, использует молекулу АТФ для перемещения трёх ионов  $\text{Na}^+$  в кровь, перенося при этом в клетку два иона  $\text{K}^+$ . Полученный при этом градиент ионов  $\text{Na}^+$  используется транспортёром SGLT для переноса глюкозы из просвета почечного канальца через апикальную мембрану в клетку: глюкоза движется против градиента концентрации при одновременном переносе ионов  $\text{Na}^+$  по градиенту концентрации. Последующий транспорт глюкозы через базолатеральную мембрану из клетки почечного канальца в кровь происходит, как и в энтероцитах, при участии транспортёров GLUT (рис. 3.8).

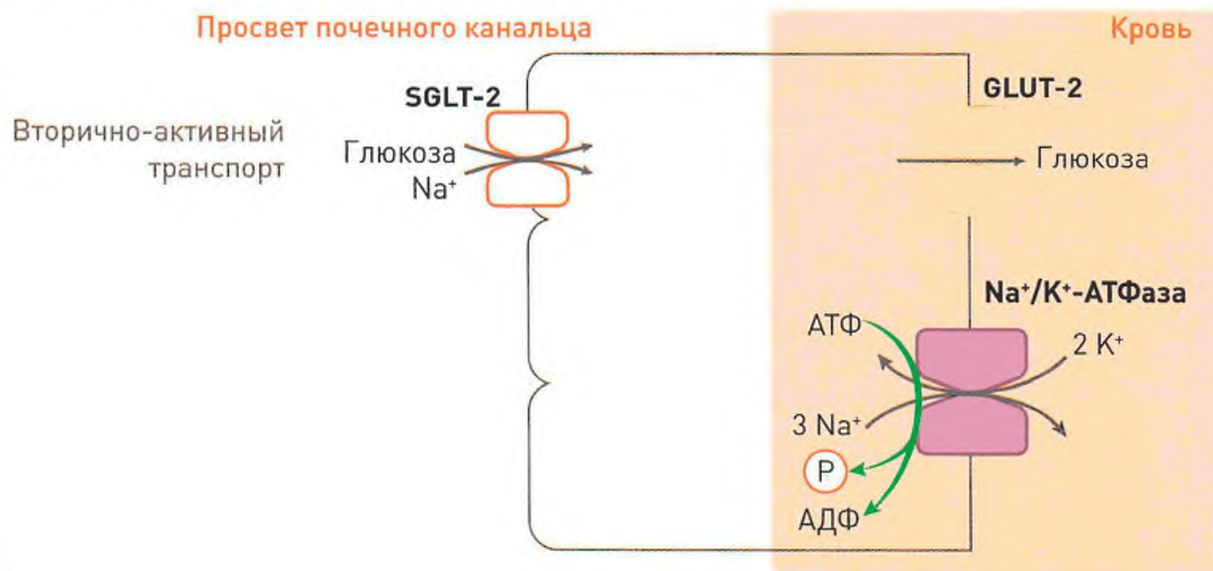


Рис. 3.8. Механизмы транспорта глюкозы в процессе реабсорбции в почечных канальцах.

Транспортёры в проксимальных канальцах способны переносить лишь ограниченное количество глюкозы, в среднем  $260\text{--}350 \text{ мг/мин} \times 1,73 \text{ м}^2$ . Поскольку при реабсорбции глюкозы каждая её молекула должна быть захвачена молекулой SGLT, число которых ограничено, её транспорт считается

насыщаемым. Сама глюкоза при этом относится к так называемым *пороговым веществам*: она начинает выделяться с мочой только при достижении определённого порога концентрации в плазме крови (рис. 3.9). При нормальной концентрации глюкозы плазмы крови глюкоза реабсорбируется из первичной мочи почти полностью (99%), в выделяемой моче глюкоза при этом отсутствует или обнаруживается в минимальных количествах: менее 2,78 ммоль/сут (до 0,8 ммоль/л).



Рис. 3.9. Зависимость объёма выведения глюкозы от её концентрации в плазме крови.

*Почечный порог* концентрации глюкозы имеет значительные индивидуальные колебания, но, как правило, укладывается в диапазон 8,9–10,0 ммоль/л (160–180 мг/дл), у детей и беременных может снижаться менее 7 ммоль/л. Когда уровень глюкозы в крови превышает пороговый уровень (при гипергликемии или при снижении почечного порога вследствие поражения почечных канальцев), транспортёры SGLT проксимальных канальцев оказываются перегруженными, не успевают переносить всю глюкозу из первичной мочи обратно в кровь — и весь излишек глюкозы попадает во вторичную (выделяемую в мочевоу пузырь) мочу. Появление диагностически значимых количеств глюкозы в выделяемой моче получило название *глюкозурия*.



Оценку выделения глюкозы с мочой за сутки (определение глюкозы в суточной моче) используют в качестве вспомогательного исследования для контроля течения сахарного диабета и некоторых видов патологии почек. Для теста требуется сбор мочи в течение 24 ч.

Существуют два основных фактора, обуславливающих появление глюкозы в моче: превышение почечного порога (гипергликемия) и нарушение реабсорбции глюкозы в почках в связи с их поражением. В подавляющем большинстве случаев глюкозурия является следствием декомпенсированного сахарного диабета. Увеличение содержания глюкозы в крови ведёт к повышению её концентрации в первичной моче, при превышении почечного порога даже здоровые почки не полностью реабсорбируют глюкозу, и она попадает в мочу.

Реже отмечается нарушение реабсорбции — так называемая ренальная (почечная) глюкозурия. При заболеваниях почек, сопровождающихся нарушениями функций нефрона, реабсорбция глюкозы может быть неполной, и глюкоза появляется в моче. Возможны как первичное поражение канальцев (тубулопатия, синдром Фанкони, первичная глюкозурия), так и вторичное поражение, когда функция почек нарушается вследствие других причин (гломерулонефриты, почечная недостаточность, отравления).



Ингибиторы SGLT-2 — глифлозины (дапаглифлозин, канаглифлозин, эмпаглифлозин) — используются для лечения сахарного диабета типа 2. Вследствие ингибирования SGLT-2 снижается интенсивность реабсорбции глюкозы, и больше глюкозы теряется с мочой (до 80–85 г в сутки), что позволяет уменьшить негативные последствия гипергликемии.

## Рекомендуемая литература

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt.* Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.

*Michael King.* Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.

*David L. Nelson, Michael M. Cox.* Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

## Задания для обсуждения



При обследовании 10-летнего мальчика с сахарным диабетом типа 1 выявлена гипергликемия натощак: концентрация глюкозы в плазме крови 10,5 ммоль/л. Через 2 ч после внутривенного введения инсулина концентрация глюкозы упала до 4,5 ммоль/л.

- А. Каков механизм снижения концентрации глюкозы в плазме крови под действием инсулина?
- Б. Какие изменения могут быть выявлены в суточном анализе мочи?
- В. Будет ли изменяться транспорт глюкозы в гепатоциты под действием инсулина? Ответ поясните.



У ребёнка в возрасте 10 мес отмечаются миоклонические судороги, обычно предшествующие приёму пищи. При осмотре врач отмечает существенную задержку развития, микроцефалию и спастичность конечностей. На фоне нормального уровня глюкозы в плазме крови — снижение её содержания в цереброспинальной жидкости (в 3 раза меньше, чем уровень глюкозы плазмы крови). Врач предположил болезнь Де Виво.

- А. С дефектом гена какого белка связана болезнь Де Виво? Опишите функцию этого белка в обмене глюкозы.
- Б. С чем связаны имеющиеся неврологические проявления у ребёнка?
- В. Почему кетогенная диета может облегчать эпилептические симптомы при этом заболевании?



Сахарный диабет (лат. *diabetes mellitus*) назван так из-за того, что моча человека с этим заболеванием имеет сладкий вкус (лат. *mellitus* — мёд). До появления более продвинутых методов диагностики, только попробовав мочу на вкус, врач мог поставить верный диагноз. В названии несахарного диабета (лат. *diabetes insipidus*) второе слово переводится как «пресный» или «безвкусный».

- А. Почему у пациентов с сахарным диабетом моча сладкая на вкус? Каковы условия появления в моче пациента глюкозы?
- Б. Опишите механизм реабсорбции глюкозы, обуславливающие её отсутствие в моче здорового человека.
- В. Как изменяется выведение с мочой ионов  $\text{Na}^+$  при увеличении экскреции глюкозы? Ответ поясните.



Глифлозины — селективные обратимые ингибиторы натрий-глюкозного котранспортёра 2-го типа (SGLT2). Глифлозины используются для лечения сахарного диабета типа 2 для улучшения гликемического контроля. Препараты из группы глифлозинов обладают различной специфичностью в отношении ингибирования SGLT1 и SGLT2. В частности, эмпаглифлозин в 2500 раз более селективно ингибирует SGLT1, чем SGLT2, а канаглифлозин (исторически первый представитель этого класса препаратов) более селективен только в 250 раз.

- А. Почему применение глифлозинов сопровождается снижением уровня гликированного гемоглобина?

- Б. Почему применение глифлозинов противопоказано при сахарном диабете типа 1?
- В. Почему применение глифлозинов повышает риск развития бактериальной инфекции мочевых путей?
- Г. Каких побочных эффектов можно было бы ожидать у неселективных ингибиторов SGLT1 и SGLT2 (препаратов, способных ингибировать их в одинаковой степени)?



Исследователи поместили эритроциты в буферный раствор, содержащий глюкозу, рН 7,4, и оценили зависимость изменения скорости транспорта глюкозы внутрь эритроцита от её исходной концентрации. Они показали, что по мере повышения исходной концентрации глюкозы в плазме крови от 1 до 25–30 ммоль/л скорость её поглощения эритроцитами росла пропорционально.

- А. По какому механизму транспорта и при преимущественном участии какого транспортёра осуществляется перенос глюкозы через мембрану эритроцита?
- Б. Нарисуйте кривую зависимости транспорта глюкозы в эритроцит от концентрации глюкозы в буферном растворе. Предположите, как будет изменяться скорость транспорта при концентрации, превышающей 30 ммоль/л.
- В. Как изменятся  $K_t$  и  $k_{cat}$  транспортёра глюкозы, если в буферный раствор, помимо глюкозы, добавить в такой же концентрации галактозу? Поясните на графике.
- Г. Почему важно поддерживать рН в буферном растворе в диапазоне физиологических значений при добавлении глюкозы?

# 4

## Гликолиз

**Гликолиз** (греч. *glykos* — сладкий и *lysis* — растворение) — последовательность ферментативных реакций, приводящих к превращению глюкозы в пируват (пировиноградную кислоту) с одновременным образованием АТФ (*аэробный гликолиз*). Дальнейшая судьба пирувата определяется уровнем кислорода в клетке. В аэробных условиях (при достаточном уровне кислорода в клетке) пируват проникает в митохондрии, где подвергается окислительному декарбоксилированию с образованием ацетил-SКоА, который полностью окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в реакциях ЦТК. При недостаточном содержании кислорода образовавшийся из глюкозы пируват восстанавливается до лактата (молочной кислоты); процесс образования лактата из глюкозы получил название *анаэробный гликолиз*.

---



Гликолиз — последовательность ферментативных реакций, в результате которых глюкоза распадается на две молекулы пирувата (*аэробный гликолиз*) или две молекулы лактата (*анаэробный гликолиз*)

---

Распад глюкозы с целью получения энергии в анаэробных условиях обозначается также термином *брожение* (англ. *fermentation*). Этот каскад реакций — один из наиболее эволюционно древних способов получения энергии путём окисления органических соединений, который, вероятно, использовали простейшие микроорганизмы ещё до появления кислорода в земной атмосфере. Секвенирование геномов различных бактерий, архей и паразитических микроорганизмов показало, что, несмотря на отсутствие

одного или нескольких ферментов, траектория окисления глюкозы у них такая же, как и у человека. В ходе эволюции живых организмов химизм и термодинамика реакций гликолиза оставались консервативными: основные ферменты процесса у млекопитающих, дрожжей и растений высокомологичны как по пространственной структуре, так и по аминокислотному составу. Межвидовые различия присутствуют, но они касаются в основном тонких настроек регуляции активности отдельных ферментов гликолиза, а также возможных путей использования образующегося из глюкозы пирувата.

Особое значение гликолиза определяется тем фактом, что он позволяет получать клетке энергию как при наличии кислорода, так и в условиях его дефицита. Зависимость энергообмена тканей от интенсивности гликолиза различна: эритроциты, лишённые митохондрий, могут получать АТФ только с помощью анаэробного гликолиза. Именно поэтому дефекты генов, кодирующих ферменты гликолиза, вызывают гибель эритроцитов и развитие врождённой гемолитической анемии. Дефицит АТФ приводит к остановке  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, ионы  $\text{K}^+$  выходят из клетки, внутриклеточная среда становится гипотоничной, что приводит к уменьшению объёма и гибели клетки.



Гликолиз — наиболее важный метаболический процесс, обеспечивающий возможность получения энергии при окислении глюкозы. Энергия, высвобождающаяся в реакциях гликолиза, используется клеткой для получения НАДН и АТФ

---

В значительной степени от активности гликолиза зависит и головной мозг, который расходует до 100 г глюкозы в сутки, преимущественно окисляя её по аэробному пути. Недостаточное снабжение мозга глюкозой или даже кратковременный дефицит кислорода могут сопровождаться неврологическими симптомами: головокружением, судорогами или даже потерей сознания.

В хорошо кровоснабжаемых органах — печени, почках, лёгких преобладает аэробный гликолиз, в мышцах в период интенсивной мышечной нагрузки — анаэробный, но при этом ни в том, ни в другом случае окисление глюкозы не является единственным способом получения энергии. В условиях гипоксии (при анемиях, нарушениях кровообращения в тканях) независимо от типа клеток значение анаэробного гликолиза как источника АТФ возрастает.

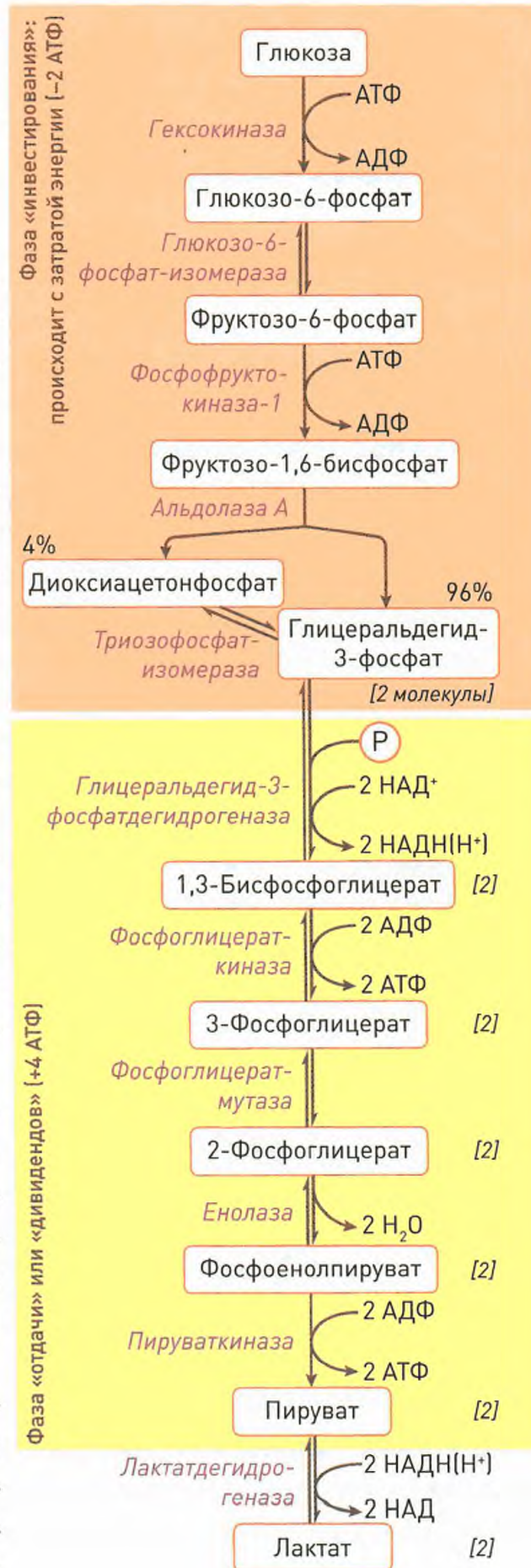
## Этапность гликолиза

Процесс аэробного гликолиза включает 10 последовательных реакций, приводящих к образованию из одной молекулы глюкозы двух молекул пирувата (пировиноградной кислоты). В случае анаэробного гликолиза добавляется ещё одна — одиннадцатая — реакция превращения пирувата в лактат. Процесс гликолиза можно условно разделить на два этапа:

- этап «инвестирования»: протекает с затратой энергии АТФ (-2 молекулы АТФ) и заканчивается образованием двух молекул глицеральдегид-3-фосфата;
- этап «дивидендов»: протекает с образованием АТФ (+4 молекулы АТФ) и заканчивается образованием пирувата.

Все реакции гликолиза протекают в цитоплазме клетки. Все промежуточные продукты гликолиза фосфорилированы, то есть содержат остаток фосфорной кислоты. Такая модификация не случайна:

- фосфорилированные молекулы не могут проникать через клеточную мембрану соответственно остаются «запертыми» в клетке, несмотря на существенные различия их концентраций по разные стороны мембраны;
- перенос остатка фосфорной кислоты с АТФ на глюкозу в первой реакции или на фруктозо-6-фосфат в третьей реакции позволяет сохранить энергию, которая



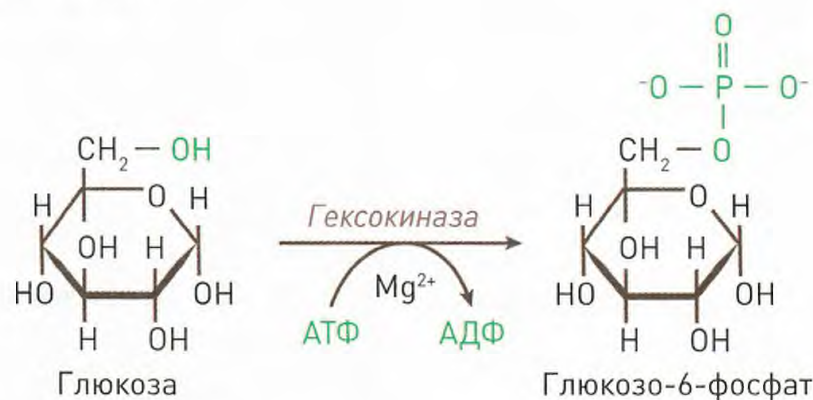
потом будет возвращена молекуле АТФ в виде остатка фосфорной кислоты в седьмой или десятой реакции;

- наличие фосфатной группы в промежуточных продуктах гликолиза облегчает их связывание с ферментом, снижая энергию активации и контролируя специфичность действия фермента.

## Первая реакция гликолиза

Гликолиз начинается с реакции фосфорилирования глюкозы и образования глюкозо-6-фосфата, который становится своеобразной ловушкой для глюкозы: отрицательно заряженный глюкозо-6-фосфат не способен проникать через клеточные мембраны и не может выйти из клетки. В первой реакции гликолиза под действием тканеспецифичных ферментов из группы гексокиназ (КФ 2.7.1.1) происходит перенос терминального (третьего) остатка фосфорной кислоты с молекулы АТФ на гидроксильную группу 6-го, не включённого в кольцо, атома С глюкозы. Как и другим киназам, гексокиназе для активности необходимо присутствие ионов  $Mg^{2+}$ , поскольку собственно субстратом для этого фермента является не  $ATP^{4-}$ , а комплекс  $MgATP^{2-}$ . Ион магния «закрывает» собой часть отрицательного заряда фосфатных групп АТФ, делая атом фосфора терминального остатка фосфорной кислоты более доступным для нуклеофильной атаки гидроксильной группой глюкозы.

Образование глюкозо-6-фосфата из глюкозы сопровождается высвобождением значительного количества свободной энергии и в физиологических условиях эта реакция практически необратима ( $\Delta G' \circ = -16,7$  кДж/моль).



В геноме человека закодированы четыре основных изофермента гексокиназы, отличающиеся внутриклеточным расположением, сродством по отношению к различным гексозам и физиологической ролью. Гексокиназы I, II и III типа обладают высоким сродством к глюкозе ( $low-K_m$ ), аллостерически

ингибируются продуктом реакции, глюкозо-6-фосфатом, а также способны использовать и другие субстраты — D-фруктозу, D-маннозу, глюкозамин. Гексокиназа I типа, присутствующая во всех тканях организма человека, отвечает за поддержание метаболизма глюкозы для обеспечения непрерывности основного обмена (англ. housekeeping enzyme) и подвержена влиянию гормональных или метаболических изменений в незначительной степени.



#### **Врождённый дефицит гексокиназы I типа**

*Врождённый дефицит гексокиназы I типа — ультраредкое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, одна из причин наследственных хронических гемолитических анемий.*

Гексокиназа IV типа (глюкокиназа) активна только при высокой концентрации глюкозы: её  $K_m$  в отношении глюкозы более чем в 100 раз выше, чем у гексокиназ других типов; она не ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Таким образом, скорость фосфорилирования глюкозы гексокиназой IV типа определяется не потребностью в конечном продукте реакции, а доступностью субстрата. Гексокиназа IV типа обнаружена в печени, поджелудочной железе, гипоталамусе, клетках эпителия тонкой кишки. Она играет ключевую роль в снижении концентрации глюкозы плазмы крови в постабсорбтивном периоде:

- в печени гексокиназа IV типа стимулирует депонирование избытка глюкозы в виде гликогена;
- в  $\beta$ -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы гексокиназа IV типа выполняет функцию сенсора, контролирующего выброс инсулина (активация гексокиназы IV типа стимулирует выброс инсулина).



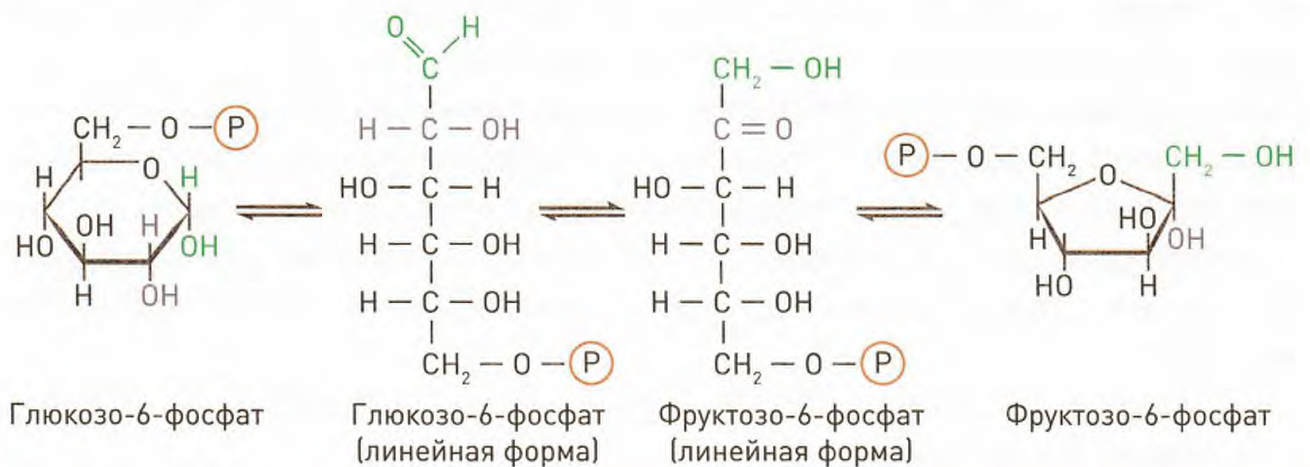
#### **Юношеский сахарный диабет взрослого типа [maturity onset diabetes of the young (MODY-2)]**

*MODY-2 — заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, обусловленное врождённым дефектом гена GSK. Мутации в гене GSK приводят к образованию фермента, менее чувствительного к повышению уровня глюкозы плазмы крови, чем в норме.  $\beta$ -Клетки поджелудочной железы сохраняют способность к синтезу и секреции инсулина, но при уровне глюкозы, существенно превышающем нормальный (7–8 ммоль/л). Для MODY-2 характерен стабильно повышенный уровень глюкозы плазмы крови в период между приёмами пищи (7–14 ммоль/л), в том числе натощак, а также отсутствие ожидаемого резкого скачка уровня глюкозы плазмы крови после глюкозотолерантного теста. В случае гетерозиготной формы заболевание, как правило, протекает бессимптомно и нередко диагностируется случайно.*

Как экспрессия гена гексокиназы IV типа (GCK), так и активность уже синтезированных молекул фермента повышается инсулином и ингибируется глюкагоном.

## Вторая реакция гликолиза

Вторая реакция — реакция изомеризации — необходима для выведения ещё одного атома углерода из кольца глюкозы для его последующего фосфорилирования. Глюкозо-6-фосфат превращается во фруктозо-6-фосфат под действием глюкозо-6-фосфатизомеразы (фосфогексоизомеразы, КФ 5.3.1.9). При физиологических условиях реакция легко обратима, и её направление определяется концентрациями субстрата и продукта в цитоплазме.



Продукт экспрессии гена глюкозо-6-фосфатизомеразы (GPI) может секретироваться во внеклеточное пространство и в этом случае выступает в качестве сигнальной молекулы, регулирующей созревание и дифференцировку клеток (*moonlighting enzyme*)\*. Для сенсорных нейронов белок, идентичный глюкозо-6-фосфатизомеразе, выполняет функции нейротрофического фактора (нейролейкин). Глюкозо-6-фосфатизомеразы, секретируемая Т-клетками, стимулирует секрецию антител В-клетками (лимфокин). Глюкозо-6-фосфатизомеразы, высвобождающаяся из опухолевых клеток, по аутокринному механизму может стимулировать метастазирование путём активации сигнальных путей MAPK/ERK или PI3K/Akt (аутокринный фактор подвижности опухолевых клеток, *autocrine motility factor*). Повышенный уровень продукта экспрессии гена GPI в плазме крови является одним из маркёров опухолевой прогрессии.

\* *Moonlighting functions* (англ. подработка, шашка) — функции ферментов, непосредственно не связанные с ферментативной активностью и обусловленные, например, белок-белковыми взаимодействиями. Как правило, такие функции рассматриваются как второстепенные по отношению к способности фермента катализировать определённую реакцию.

### **Врождённый дефицит глюкозо-6-фосфатизомеразы**



Врождённый дефицит глюкозо-6-фосфатизомеразы — заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное дефектами гена GPI. С мутациями GPI связано примерно 4% случаев наследственных гемолитических анемий (второй по частоте среди дефектов ферментов гликолиза, после дефекта пируваткиназы). В клиническом анализе крови обнаруживается несфероцитарная гемолитическая анемия разной степени тяжести, в некоторых случаях дефицит глюкозо-6-фосфатизомеразы сопровождается неврологическими нарушениями.

## **Третья реакция гликолиза**

Фосфофруктокиназа-1 (КФ 2.7.1.11) переносит остаток фосфорной кислоты с АТФ на фруктозо-6-фосфат с образованием фруктозо-1,6-бисфосфата\*. Реакция протекает с высвобождением большого количества энергии ( $\Delta G^\circ = -25,9$  кДж/моль) и поэтому в физиологических условиях необратима. Кроме того, она является первой необратимой реакцией гликолиза\*\*, и потому исключительно важна для регуляции скорости всего процесса.

Пространственная структура фосфофруктокиназы-1 представляет собой тетрамер, состоящий из различных комбинаций трёх типов субъединиц: мышечной (M), печёночной (L) и тромбоцитарной (P), кодируемых одноимёнными генами (PFKM, PFKL, PFKP). Фосфофруктокиназа-1 мышечной ткани — тетрамер, состоящий из четырёх субъединиц M (M<sub>4</sub>). В печени и почках преобладают субъединицы L (L<sub>4</sub>). В эритроцитах субъединицы M и L могут соединяться в тетрамеры в различных сочетаниях (MLLL, MMLL, MMML). Такое разнообразие четвертичных структур фосфофруктокиназы-1 определяет существенные отличия в скорости гликолиза в разных тканях.

Как было отмечено выше, фосфофруктокиназа-1 — наиболее важный регуляторный фермент гликолиза, активность которого регулируется сразу несколькими способами. С аллостерическими центрами фосфофруктокиназы-1 могут связываться аллостерические активаторы АМФ, АДФ и фруктозо-2,6-бисфосфат или аллостерические ингибиторы АТФ, цитрат и фосфоенолпируват. Следовательно, при снижении соотношения

\* Соединения, содержащие два остатка фосфорной кислоты (фосфорильные группы), могут называться бисфосфатами (в случае если остатки фосфорной кислоты присоединены к разным атомам) или дифосфатами (в случае если остатки фосфорной кислоты соединены между собой).

\*\* Глюкозо-6-фосфат, продукт первой необратимой реакции, помимо реакций гликолиза, может использоваться для синтеза гликогена или окисляться в пентозофосфатном пути прямого окисления глюкозы.

АТФ/АМФ (дефиците АТФ) в клетке скорость гликолиза будет увеличиваться. Так, в неработающей мышце активность фосфофруктокиназы-1 низкая, а концентрация АТФ относительно высокая. Во время мышечной работы АТФ интенсивно потребляется, что приводит к активации фосфофруктокиназы-1 и каскада последующих реакций гликолиза. При снижении pH (например, при избытке лактата) активность фосфофруктокиназы-1 снижается, что защищает клетку от образования избытка лактата и усугубления ацидоза. Глюкагон снижает, а серотонин увеличивает активность фосфофруктокиназы-1.



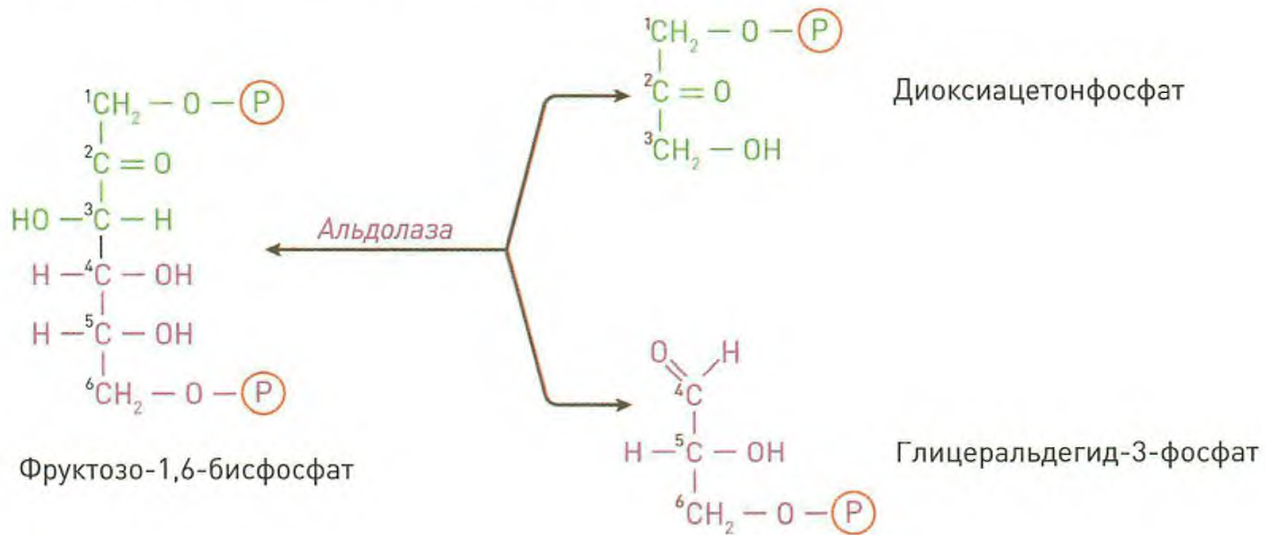
### Болезнь Таруи (гликогеноз VII типа)

Болезнь Таруи — заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутациями гена PFKM. Врождённый дефицит фосфофруктокиназы-1 затрудняет использование глюкозо-6-фосфата для получения энергии в процессе окисления глюкозы, и одновременно с этим перенаправляет избыток глюкозо-6-фосфата на синтез гликогена. Классический вариант заболевания сопровождается мышечными болями (кramпи) при физической нагрузке, повышением активности КФК, миоглобинурией, гемолитической анемией и, как следствие, накоплением билирубина и потемнением мочи. Вследствие нарушения способности почек выводить мочевую кислоту часто наблюдается гиперурикемия. При биопсии мышечной ткани обнаруживается избыток гликогена нормального строения. Существуют и более мягкие варианты течения болезни Таруи: с поздним началом или с преобладанием симптомов гемолиза. Неблагоприятным прогнозом отличаются инфантильные формы, сопровождающиеся, помимо описанных выше симптомов, также поражением центральной нервной системы (ЦНС) и кардиомиопатией.

Пациентам рекомендуют ограничивать интенсивность мышечных нагрузок, а также снижать количество углеводов в рационе; определённый положительный эффект может давать кетогенная диета, позволяющая переключать мышечную ткань на использование жирных кислот в качестве предпочтительного источника энергии.

## Четвёртая реакция гликолиза

Фруктозо-1,6-бисфосфат расщепляется фруктозо-1,6-бисфосфатальдололазой\* (альдолаза, КФ 4.1.2.13) с образованием двух фосфорилированных триоз-изомеров — альдозы (глицеральдегид) и кетозы (диоксиацетон). В геноме человека закодировано три изофермента альдолазы — альдолаза А (ген *ALDOA*, преобладает в эритроцитах, мышечной ткани, головном мозге), альдолаза В\*\* (ген *ALDOB*, преимущественно экспрессируется в печени, почках, клетках ЖКТ), альдолаза С (ген *ALDOC*, в лёгких и в головном мозге, часто гиперэкспрессируется опухолевыми клетками). Альдолаза А катализирует преимущественно прямую реакцию расщепления фруктозо-1,6-бисфосфата в гликолизе, а альдолаза В активно участвует в катализе как прямой, так и обратной реакции.



### Врождённый дефицит альдолазы А (гликогеноз XII типа)

Ультраредкое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутацией гена *ALDOA*, описаны единичные случаи. Поскольку альдолаза А является основным изоферментом альдолазы в мышечной ткани и эритроцитах, у пациентов отмечается мышечная слабость и непереносимость физической нагрузки, вплоть до рабдомиолиза, а также гемолитическая анемия.

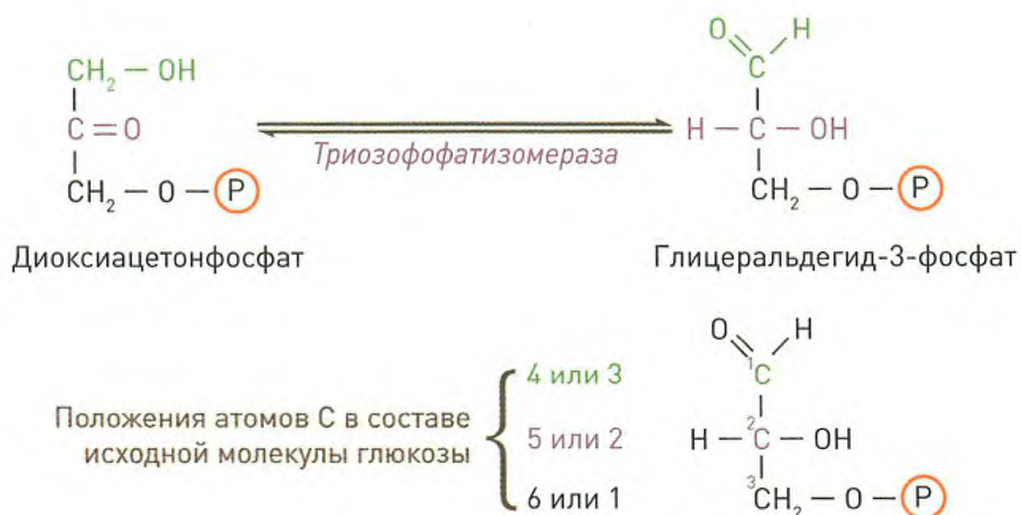
\* Фермент получил название по обратной реакции — реакции альдольной конденсации.

\*\* Помимо реакции превращения фруктозо-1,6-бисфосфата в глицеральдегид-3-фосфат и диоксиацетонфосфат альдолаза может катализировать также реакции превращения седогептулозо-1,7-бисфосфата в эритрозо-4-фосфат и диоксиацетонфосфат и фруктозо-1-фосфата в диоксиацетонфосфат и глицеральдегид. Способность альдолазы В использовать в качестве субстрата фруктозо-1-фосфат важна для метаболизма фруктозы в печени.

## Пятая реакция гликолиза

Глицеральдегид-3-фосфат и диоксиацетонфосфат могут превращаться друг в друга при участии триозофосфатизомеразы (КФ 5.3.1.1). Равновесие реакции в клетке смещено в сторону диоксиацетонфосфата (его доля составляет 95–97%), однако в последующие реакции гликолиза непосредственно включается только глицеральдегид-3-фосфат. Как следствие, именно на этом этапе определяется дальнейшая судьба продуктов окисления глюкозы:

- при нехватке энергии в клетке глицеральдегид-3-фосфат активно окисляется до пирувата, а избыток диоксиацетонфосфата постепенно превращается в глицеральдегид-3-фосфат;
- при достаточном количестве АТФ избыток диоксиацетонфосфата используется для синтеза ТАГ.

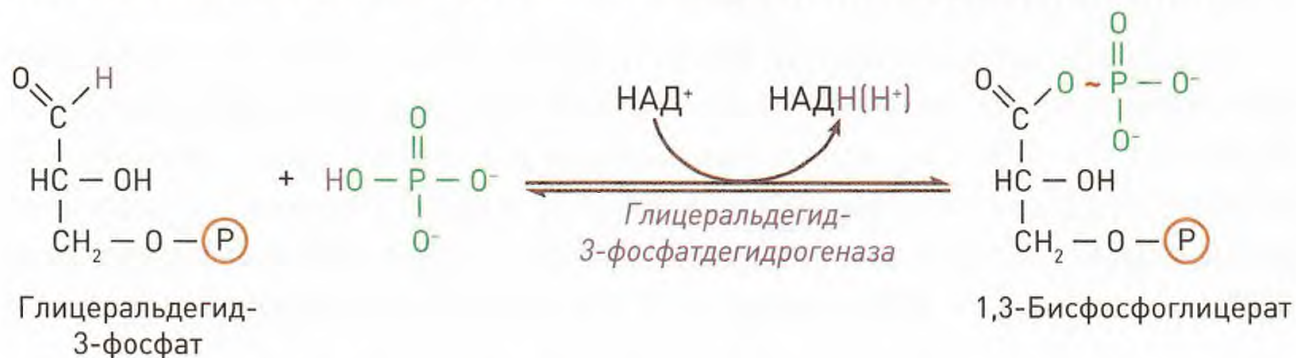


### Врождённый дефицит триозофосфатизомеразы

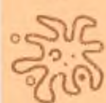
Ультраредкое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, дефект гена *TPI*, описано всего около 100 случаев. Характеризуется хронической гемолитической анемией, кардиомиопатией, повышенной восприимчивостью к инфекциям, неврологической дисфункцией и, как правило, приводит к летальному исходу в раннем детском возрасте.

## Шестая реакция гликолиза

Окисление глицеральдегид-3-фосфата и присоединение к нему остатка фосфорной кислоты в присутствии глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.2.1.12) приводит к образованию соединения с высоким потенциалом переноса фосфатной группы\* 1,3-бисфосфоглицерата и НАДН(Н<sup>+</sup>).



Это первая из двух энергозапасающих реакций гликолиза, продукты которых в дальнейшем участвуют в образовании АТФ. Реакция протекает в два этапа. Сначала формильная группа превращается в свободную карбоксильную группу, одновременно НАД<sup>+</sup> восстанавливается до НАДН(Н<sup>+</sup>). Этот этап сопровождается выделением большого количества энергии ( $\Delta G^\circ = -50$  кДж/моль), которая позволяет осуществить второй этап превращения — присоединить молекулу неорганического фосфата. Таким образом, в итоге реакции формильная группа глицеральдегид-3-фосфата окисляется, но не до свободной карбоксильной группы, а до ангидрида карбоновой кислоты с фосфорной кислотой. Ангидрид такого типа — *ацилфосфат* — имеет очень высокую стандартную энергию гидролиза фосфоэфирной связи ( $\Delta G^\circ = -49,3$  кДж/моль), которая понадобится в следующей реакции.



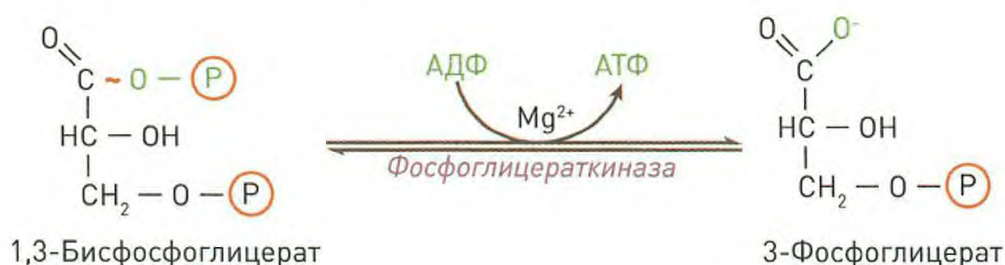
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа отличается широким спектром дополнительных или второстепенных функций, не связанных с ферментативной активностью, а также склонностью к разнообразным белок-белковым взаимодействиям. В частности, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа может выступать в качестве транскрипционного фактора и усиливать экспрессию проапоптотических генов, а также регулировать метаболизм железа и перенос везикул из эндоплазматического ретикулума (ЭПР) в аппарат Гольджи. Связываясь с тубулином, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа стимулирует агрегацию микротрубочек в пучки, с актином — ускоряет его полимеризацию, с анион-селективными потенциал-зависимыми каналами митохондриальной мембраны VDAC1 — повышает проницаемость мембраны и стимулирует апоптоз.

\* Ранее такие соединения назывались макроэргическими. Макроэргические связи обозначаются значком тильда (~).

Количество НАД<sup>+</sup> в клетке (<10<sup>-5</sup> М) гораздо меньше, чем количество глюкозы, расщепляемой за несколько минут. Если НАДН, образующийся на этой стадии гликолиза, не будет постоянно расходоваться (то есть окисляться и пополнять запасы НАД<sup>+</sup>), то шестая реакция гликолиза останавливается.

## Седьмая реакция гликолиза

В седьмой реакции энергия фосфоэфирной связи молекулы 1,3-бисфосфоглицерата тратится на образование АТФ при участии фосфоглицераткиназы\* (КФ 2.7.2.3). Это единственная реакция гликолиза с участием АТФ, которая обратима при физиологических условиях. Перенос остатка фосфорной кислоты с субстрата (в данном случае — 1,3-бисфосфоглицерата) на АДФ с образованием АТФ получил название *субстратного фосфорилирования*.



### Врождённый дефицит фосфоглицераткиназы

Врождённое заболевание с X-сцепленным рецессивным типом наследования (дефект гена *PGK1*, локализованного на X-хромосоме). Описаны две клинические формы заболевания — гемолитическая и миопатическая, с преобладанием симптомов патологии эритроцитов или мышечной ткани соответственно. Болеют практически исключительно мальчики, у носителей-девочек клиническая картина не развивается.

## Восьмая реакция гликолиза

3-Фосфоглицерат под влиянием фосфоглицератмутазы (КФ 5.4.2.11) превращается в 2-фосфоглицерат. Реакция легкообратима, протекает в присутствии ионов Mg<sup>2+</sup>. Следует отметить, что реакция идёт с образованием промежуточного продукта 2,3-бисфосфоглицерата, следовательно, в субстрате и продукте остатки фосфорной кислоты разные, и реакция не является изомеризацией в классическом понимании\*\*.

\* Реакция обратима, и фермент получил название по обратной реакции, при которой происходит перенос остатка фосфорной кислоты с АТФ на 3-фосфоглицерат.

\*\* В классических реакциях изомеризации происходит внутримолекулярная перестройка, то есть в продукте реакции сохраняются все атомы, входившие в состав субстрата.

Фосфоглицератмутаза активна в виде димера, который может образовываться двумя одинаковыми или двумя различными субъединицами. В геноме человека присутствуют два гена, *PGAM1* и *PGAM2*, кодирующие субъединицы *b* и *m* соответственно. В различных тканях могут присутствовать три изофермента фосфоглицератмутазы — *mm*, *bb* или *mb*. Вариант *mm* преобладает в клетках гладкой мускулатуры, *mb* — в скелетных мышцах, а в остальных тканях преимущественно обнаруживается *bb*.

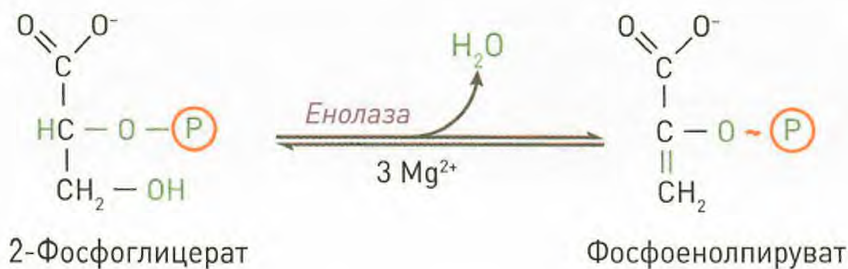


### Врождённый дефицит фосфоглицератмутазы (гликогеноз X типа)

Ультраредкое врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования (дефект гена *PGAM1* или *PGAM2*). При мутации в *PGAM1* преобладают признаки поражения печени, при мутации в *PGAM2* — мышечной ткани. Часто заболевание протекает бессимптомно и остаётся недиагностированным, вплоть до молодого возраста. При миопатической форме пациентов беспокоит непереносимость интенсивной физической нагрузки. Прогноз благоприятный.

## Девятая реакция гликолиза

Фосфопируватгидратаза, или енолаза (КФ 4.2.1.11), катализирует обратимый отрыв молекулы воды (дегидратацию) от 2-фосфоглицерата, в результате чего образуется второе в гликолизе соединение с высоким потенциалом переноса фосфатной группы — фосфоенолпируват ( $\Delta G'^\circ$  при гликолизе фосфоенолпирувата составляет  $-62$  кДж/моль). Стабилизация промежуточного продукта, образующегося в реакции, требует участия ионов  $\text{Mg}^{2+}$ .



Четвертичная структура енолазы — димер. Тримя различными генами человека *ENO1*, *ENO3* и *ENO2* кодируются 3 субъединицы енолазы,  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ . Они могут объединяться в 5 различных димерах:  $\alpha\alpha$ ,  $\alpha\beta$ ,  $\alpha\gamma$ ,  $\beta\beta$  и  $\gamma\gamma$ . Наиболее распространены гомодимеры:

- $\alpha\alpha$  — енолаза 1 или ненейрональная енолаза, обнаруживается повсеместно в клетках любых тканей;
- $\beta\beta$  — енолаза 3, специфична для поперечнополосатой мышечной ткани;
- $\gamma\gamma$  — енолаза 2 или нейрон-специфическая енолаза (NSE), активно экспрессируется в нервной ткани (может составлять до 3% массы всех растворимых белков нейрона).

### **Врождённый дефицит енолазы (гликогеноз XIII типа)**

Ультраредкое врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. При мутациях гена *ENO1* (дефект  $\alpha$ -субъединицы) преобладают признаки гемолитической анемии, при мутациях гена *ENO3* (дефект  $\beta$ -субъединицы) — накопление избытка гликогена (гликогеноз XIII типа). Гетерозиготные мутации гена *ENO3* дают более мягкую клиническую картину, гомозиготные мутации ярко проявляются миопатиями.

Продукты экспрессии генов енолазы, особенно *ENO1*, обладают широким спектром второстепенных эффектов, не связанных с ферментативной активностью:

- + локализуясь в ядре  $\alpha$ -субъединица енолазы может ингибировать промотор протоонкогена *c-myc*;
- + экспрессирующаяся на поверхности клеточной мембраны  $\alpha$ -субъединица енолазы служит рецептором плазминогена, способна связывать патогенные бактерии и активировать иммунные клетки.

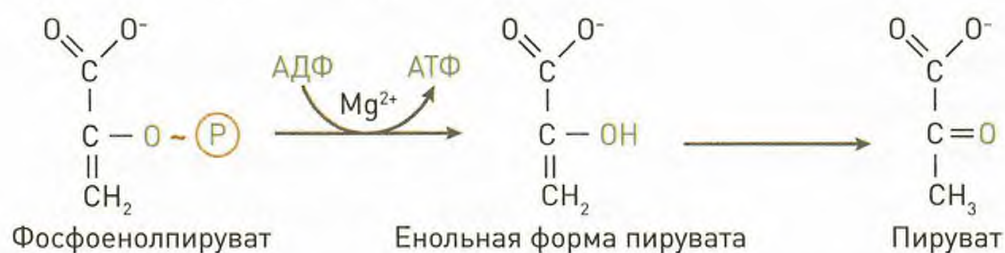
Ген *ENO1* гиперэкспрессируется во многих злокачественных опухолях и путём активации плазминогена стимулирует сигнальный путь PI3K/Akt, а также облегчает деградацию внеклеточного матрикса и инвазию опухолевых клеток. Повышенная экспрессия  $\alpha$ -субъединицы енолазы в опухолевых клетках делает её перспективной мишенью для противоопухолевой терапии: ингибирование енолазы снижает устойчивость к гипоксии и повышает чувствительность клеток к лучевой терапии. При ряде аутоиммунных заболеваний  $\alpha$ -субъединица енолазы выступает в качестве аутоантигена: при энцефалопатии Хашимото, бронхиальной астме, болезни Бехчета.



Нейрон-специфическая енолаза, *NSE* (ген *ENO2*,  $\gamma$ -субъединица), помимо нейронов широко распространена в нейроэндокринных клетках, например хромоафинных клетках мозгового вещества надпочечников, парафолликулярных клетках щитовидной железы и некоторых других. Усиленная экспрессия *ENO2* отмечается и в опухолевых клетках, что обеспечивает высокую скорость гликолиза. Повышение активности *NSE* в плазме крови часто наблюдается при мелкоклеточном раке лёгкого, медуллярном раке щитовидной железы, феохромоцитоме, нейроэндокринных опухолях кишечника и поджелудочной железы, а также нейробластоме. Высокий уровень *NSE* является неблагоприятным прогностическим маркёром и коррелирует с низким ответом на химиотерапию, быстрым прогрессированием заболевания и высокой вероятностью летального исхода.

## Десятая реакция гликолиза

Десятая реакция гликолиза — ещё одна реакция субстратного фосфорилирования — перенос пируваткиназой\* (КФ 2.7.1.40) остатка фосфорной кислоты с фосфоенолпирувата на АДФ с образованием пирувата (пировиноградной кислоты). Продукт реакции — пируват вначале образуется в енольной форме, которая затем спонтанно таутомеризуется в кето-форму. Суммарно эта реакция имеет большое отрицательное изменение свободной энергии, около половины энергии, выделившейся при гидролизе фосфоенолпирувата ( $\Delta G' \circ = -30,5$  кДж/моль), запасается при образовании фосфоангидридной связи в АТФ. Протекание реакции требует участия ионов  $K^+$  и  $Mg^{2+}$  или  $Mn^{2+}$ .



Классическая четвертичная структура пируваткиназы — тетрамер. У человека существуют четыре изофермента: L (обнаруживается преимущественно в печени), R (в эритроцитах), M1 (в мышечной ткани и головном мозге), M2 (в большинстве тканей). Изоферменты L и R являются продуктами экспрессии гена *PKLR*, а M1 и M2 — гена *PKM*.

\* Наименование пируваткиназы в определённой степени некорректно, поскольку она не способна в физиологических условиях катализировать обратную реакцию — переноса остатка фосфорной кислоты с АТФ на молекулу пирувата, но устоялось как общепринятое.

### **Врождённый дефицит пируваткиназы**



Врождённое заболевание, возможен как аутосомно-доминантный, так и аутосомно-рецессивный (чаще) тип наследования. Дефект гена *PLKR* — вторая по частоте встречаемости причина наследственных гемолитических анемий\*, заболеваемость — 1 случай на 10–20 тыс. новорождённых. Выраженность симптомов существенно варьирует в зависимости от мутации. Часто дефицит пируваткиназы протекает бессимптомно и проявляется гемолизом только в период простудных заболеваний или беременности. У пациентов повышен уровень 1,3-бисфосфолицерата и 2,3-бисфосфолицерата, что обусловлено высокой интенсивностью шунта Рапопорта–Люберинга. Это приводит к сдвигу кривой диссоциации кислорода вправо, то есть снижает сродство гемоглобина к кислороду и облегчает отдачу кислорода от гемоглобина к тканям. Как следствие, пациенты переносят анемию неожиданно легко. Лечения, как правило, не требуется. В особо тяжёлых случаях показано переливание донорских эритроцитов или удаление селезёнки, в отдельных случаях может быть эффективной трансплантация костного мозга.



Активное использование опухолевыми клетками малоактивной димерной формы пируваткиназы *M2* увеличивает концентрацию промежуточных метаболитов гликолиза, которые используются клеткой в анаболических процессах. Определение димерной формы пируваткиназы *M2* в кале применяется для ранней диагностики предраковых заболеваний и рака толстой кишки.

Пируваткиназа является третьим ферментом гликолиза, активность которого определяет скорость протекания всего процесса, и соответственно объектом разнообразных регуляторных влияний.

- Реакция ускоряется в присутствии высокой концентрации субстрата — фосфоенолпирувата.
- Варианты пируваткиназы L и R могут изменять активность под действием аллостерических эффекторов, наиболее важным из которых является фруктозо-1,6-бисфосфат. Фруктозо-1,6-бисфосфат аллостерически активирует пируваткиназу, а АТФ, пируват и аланин ингибируют её.
- Пируваткиназа *M2* может существовать как виде тетрамеров, так и в виде димеров, при этом тетрамерная пируваткиназа *M2* обладает существенно бóльшим сродством к фосфоенолпирувату. Диссоциация активного тетрамера *M2* на два малоактивных димера происходит при его фосфорилировании. Глюкагон и адреналин активируют протеинкиназу А,

\* Первая по частоте причина наследственных гемолитических анемий — дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

которая, в свою очередь, фосфорилирует и инактивирует пируваткиназу. Инсулин, наоборот, активирует фосфопротеинфосфатазу I, дефосфорилируя и тем самым активируя пируваткиназу, ускоряя гликолиз.

- Транскрипция гена *PKLR* усиливается при участии транскрипционного фактора ChREBP (carbohydrate response element binding protein), который, в свою очередь, активируется при высокой внутриклеточной концентрации глюкозы и ингибируется цАМФ. Экспрессия *PKM2* усиливается инсулином и снижается трийодтиронином и глюкагоном.

При достаточном количестве кислорода в клетке бóльшая часть образовавшегося пирувата проникает в митохондрию, метаболизируется до ацетил-SКоА, который, в свою очередь, окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в ЦТК.

### Одиннадцатая реакция гликолиза

Пируват является токсичным для клеток млекопитающих, поэтому клетка стремится либо сразу утилизировать его (в пируватдегидрогеназной реакции), либо превратить в менее токсичный метаболит, который можно накапливать или транспортировать в другие клетки. В анаэробных условиях, а также в клетках, не имеющих митохондрий (например, эритроцитах), пируват превращается в лактат при участии лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27). В условиях дефицита кислорода эта реакция необходима клетке, так как НАДН, образовавшийся в шестой реакции гликолиза, в отсутствие кислорода не может окисляться в митохондриях и соответственно использоваться повторно для работы глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы.

Активное окисление глюкозы по анаэробному пути в мышечной ткани во время интенсивной физической нагрузки обусловлено тем, что в ходе гликолиза АТФ образуется существенно быстрее, чем в ходе окислительного фосфорилирования. Кроме того, активность митохондриальных ферментов зависит от натренированности мышц и достигает предела уже при умеренной для конкретного спортсмена физической нагрузке. Именно поэтому в условиях пиковых затрат энергии, даже при наличии кислорода, клетка вынуждена восполнять запасы АТФ не самым энергетически выгодным, но самым быстрым путём, окисляя глюкозу с образованием большого количества лактата.



В геноме человека присутствуют два гена, *LDHA* и *LDHB*, кодирующие субъединицы М и Н лактатдегидрогеназы соответственно. Для реализации ферментативной активности четыре субъединицы должны образовать тетрамер, всего возможны пять вариантов (изоферментов): НННН, НННМ, ННММ, НМММ или ММММ\*. Изоферменты лактатдегидрогеназы присутствуют в различных типах тканей:


- НННН (LDH-1) — в миокардиоцитах, эритроцитах и нейронах головного мозга;
- НННМ (LDH-2) — в клетках ретикулоэндотелиальной системы;
- ННММ (LDH-3) — в альвеолоцитах в лёгких;
- НМММ (LDH-4) — в клетках почек, поджелудочной железы и плаценты;
- ММММ (LDH-5) — преимущественно в гепатоцитах, клетках скелетных мышц.

Изофермент LDH-1 (H4) обладает более высоким сродством к субстратам (и пирувату, и лактату), чем LDH-5 (M4), и, в отличие от LDH-5, может аллостерически ингибироваться высокой концентрацией пирувата. Таким образом, LDH-1 катализирует преимущественно обратную реакцию, превращая лактат в пируват с целью окисления последнего в ЦТК и получения энергии. Следовательно, клетки миокарда и головного мозга практически не образуют лактат, зато могут использовать его для получения энергии, захватывая из крови, но только в аэробных условиях. Изофермент LDH-5 катализирует преимущественно прямую реакцию, при отсутствии кислорода в клетке быстро превращая пируват в лактат. Избыток лактата проходит через клеточные мембраны и попадает в кровоток, откуда захватывается клетками, способными превратить его обратно в пируват. Длительные тренировки повышают уровень Н-содержащих изоферментов лактатдегидрогеназы в медленно сокращающихся мышечных волокнах, что позволяет им окислять лактат, образованный другими миоцитами, в пируват, и использовать его для получения энергии.

### **Врождённый дефицит лактатдегидрогеназы (гликогеноз XI типа)**


Заблевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. При мутациях в гене *LDHA* (гликогеноз XI типа, дефект субъединицы М) преобладают симптомы патологии скелетных мышц: непереносимость физической нагрузки, боли в мышцах, мышечная слабость. Разрушение миоцитов приводит к попаданию в кровь большого количества миоглобина, который выделяется с мочой и в ряде тяжёлых случаев приводит к почечной недостаточности. Мутации в гене *LDHB* часто остаются бессимптомными.

\* M, muscle — англ. мышца, H, heart — англ. сердце.



Лактат-ацидоз — вариант метаболического ацидоза, обусловленный избыточным накоплением лактата (молочной кислоты). В организме человека образуется примерно 20 ммоль/кг лактата в сутки, концентрация лактата в плазме крови зависит от интенсивности и длительности физической работы: в условиях покоя она равна 1 ммоль/л, а при интенсивной мышечной нагрузке может увеличиваться до 15 ммоль/л. Большая часть лактата образуется в мышечной ткани и эритроцитах, откуда попадает в кровь и транспортируется в печень, где превращается обратно в пируват и используется для синтеза глюкозы или получения энергии в ЦТК. Повышение уровня лактата в плазме крови развивается как результат его избыточного образования (например, при интенсивной мышечной нагрузке) или замедленного превращения обратно в пируват (например, при патологии печени). Таким образом, лактат-ацидоз может развиваться вследствие широкого круга физиологических и патологических состояний: ряда врождённых дефектов ферментов — биотинидазы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы, глюкозо-6-фосфатазы, пируватдегидрогеназного комплекса ферментов, пируваткарбоксилазы; наследственных митохондриальных болезней (синдром GRACILE, митохондриальная энцефаломиопатия); сахарного диабета; передозировки некоторых лекарственных препаратов (линезолид, изониазид, пропофол); острого отравления этанолом; интенсивной физической нагрузки; заболеваний печени; сепсиса и др. У плода и новорождённых анаэробный гликолиз протекает активнее, в связи с чем концентрация молочной кислоты у них выше, чем у взрослых.

Основной фактор, определяющий скорость превращения пирувата в лактат — соотношение НАДН/НАД<sup>+</sup>. Реакция, катализируемая лактатдегидрогеназой, ускоряется при интенсивном расходе НАД<sup>+</sup> и образовании большого количества НАДН, например при избытке этанола.



При нарушении целостности клеток лактатдегидрогеназа поступает в кровь. Активность лактатдегидрогеназы в разных клетках варьирует, но в среднем внутриклеточная активность выше, чем в сыворотке крови, примерно в 500 раз. Таким образом, даже повреждение небольшого количества клеток сопровождается существенным увеличением активности фермента в сыворотке крови, которая может быть измерена в диагностических целях. У здорового человека в сыворотке крови преобладает изофермент LDH-2 (32–48% активности). В случае если активность LDH-1 выше, чем LDH-2 («перекрёст» изоферментов лактатдегидрогеназы), следует заподозрить поражение миокардиоцитов, например инфаркт миокарда. Активность общей лактатдегидрогеназы и отдельно LDH-1 нарастает в течение первых 24–48 ч после инфаркта миокарда, достигает максимума на 2–3-й день, сохраняется высокой в течение 5–10 дней, и поэтому её измерение

может использоваться для поздней диагностики инфаркта. Следует помнить, что изменения активности общей лактатдегидрогеназы возможны не только при инфаркте миокарда, но также и при интенсивных физических нагрузках (например, марафонский бег), гемолитических анемиях, остром инфаркте почки, септических поражениях тканей, остром панкреатите, некоторых опухолевых заболеваниях (особенно при тестикулярных опухолях и лимфоме).

## Изменение свободной энергии гликолиза

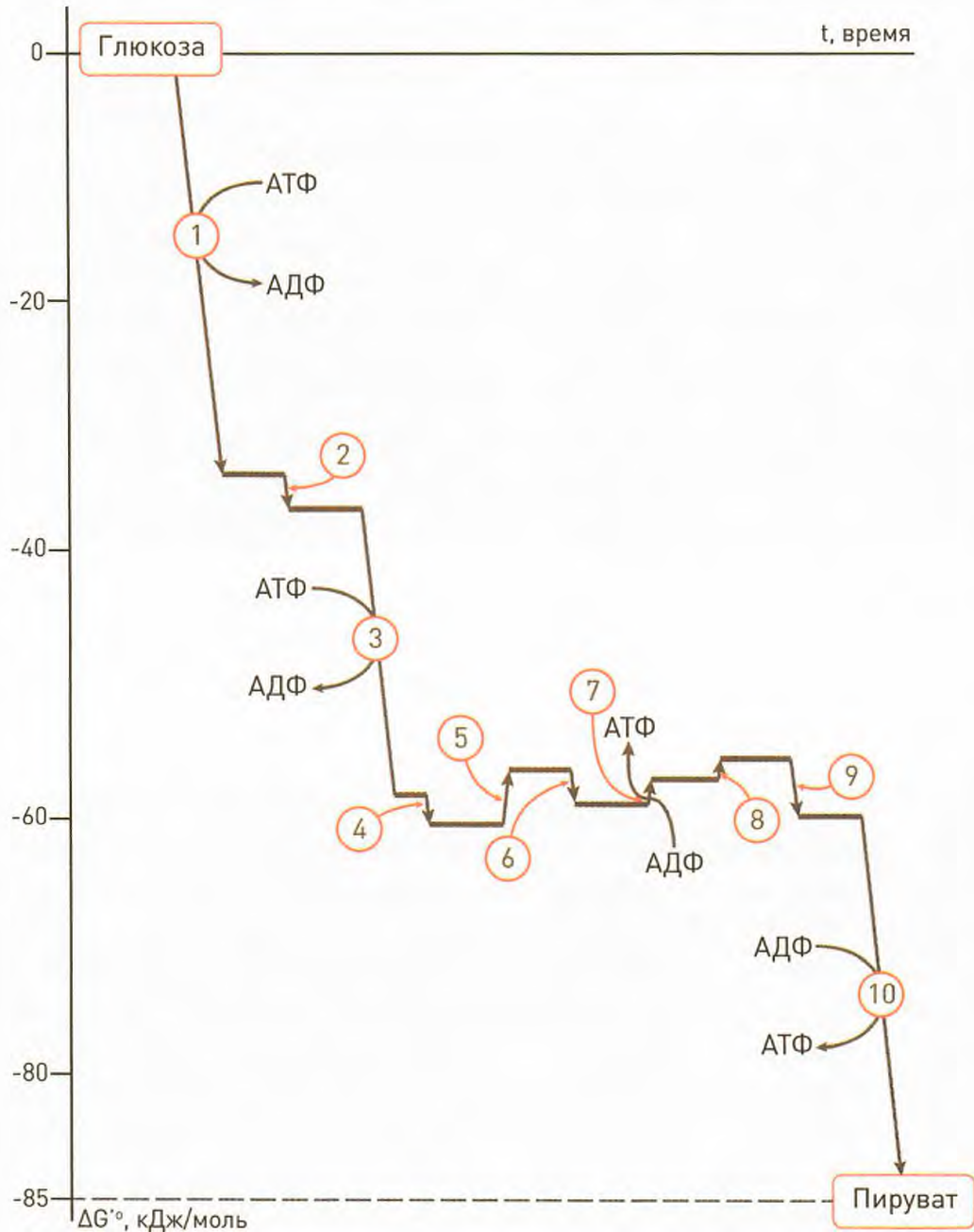


Рис. 4.1. Изменение свободной энергии гликолиза. Горизонтальными линиями отмечены промежуточные продукты гликолиза, вертикальными стрелками — реакции гликолиза с соответствующими порядковыми номерами.

Процесс превращения глюкозы в пируват протекает с отдачей энергии,  $\Delta G^{\circ} = -146$  кДж/моль, одновременное образование двух молекул АТФ из АДФ в реакциях субстратного фосфорилирования протекает с затратой энергии,  $\Delta G^{\circ} = +61$  кДж/моль. Суммарно превращение глюкозы в пируват высвобождает примерно 85 кДж/моль энергии.

На схеме (рис. 4.1) представлены фактические изменения свободной энергии ( $\Delta G$ ) каскада реакций гликолиза в эритроцитах. Видно, что только три реакции (первая, третья и десятая) протекают со значительным изменением свободной энергии, причём равновесие реакций сильно смещено в сторону продуктов. Остальные реакции легко обратимы и могут идти в противоположном направлении — в процессе глюконеогенеза при участии тех же ферментов.

### Энергетический эффект гликолиза

Основное биологическое значение катаболизма глюкозы заключается в использовании энергии, высвобождающейся в этом процессе, для синтеза АТФ. Суммарное уравнение превращения глюкозы в пируват выглядит следующим образом:



Образование АТФ в результате аэробного гликолиза может идти двумя путями — по механизму как субстратного, так и окислительного фосфорилирования. В седьмой и десятой реакциях гликолиза для присоединения к АДФ остатка фосфорной кислоты используется энергия соединений с высоким потенциалом переноса фосфатной группы — 1,3-бисфосфоглицерата и фосфоенолпирувата. НАДН, образующийся в шестой реакции, может передавать протоны в митохондриях при помощи челночных механизмов — глицерол-3-фосфатного или малат-аспартатного. В первом случае цитоплазматический НАДН может обеспечить синтез 1,5 молекулы АТФ в цепи переноса электронов (ЦПЭ), а во втором случае — 2,5 молекулы АТФ. Таким образом, окисление до пирувата одной молекулы глицеральдегид-3-фосфата сопряжено с синтезом 3,5 или 4,5 молекулы АТФ. Учитывая, что из глюкозы образуются две фосфотриозы, для расчёта энергетического эффекта окисления глюкозы полученное значение следует удвоить и затем вычесть две молекулы АТФ, затраченные на первом этапе (в первой и третьей реакциях) гликолиза. Таким образом, суммарный энергетический эффект аэробного гликолиза составляет  $(3,5 \times 2) - 2 = 5$  АТФ (при использовании глицерол-3-фосфатного челночного механизма) или  $(4,5 \times 2) - 2 = 7$  АТФ (при использовании малат-аспартатного челночного механизма).

**Таблица 4.1.** Максимально возможный выход АТФ при полном окислении молекулы глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$

Этап метаболизма	Фермент	Источник	Способ образования АТФ	Число образованных молекул АТФ
Аэробный гликолиз в цитоплазме (глюкоза $\rightarrow$ пируват [2])	Гексокиназа	-		-1
	Фосфофруктокиназа-1	-		-1
	Глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа	НАДН [2]	Окислительное фосфорилирование	$2,5 \times 2 = 5$
	Фосфоглицераткиназа	АТФ [2]	Субстратное фосфорилирование	$1 \times 2 = 2$
	Пируваткиназа	АТФ [2]	Субстратное фосфорилирование	$1 \times 2 = 2$
Окислительное декарбоксилирование пирувата в митохондриях (пируват [2] $\rightarrow$ ацетил-SКоА [2] + $\text{CO}_2$ [2])	Пируватдегидрогеназный комплекс	НАДН [2]	Окислительное фосфорилирование	$2,5 \times 2 = 5$
ЦТК в митохондриях (ацетил-SКоА [2] $\rightarrow$ $\rightarrow$ $\text{CO}_2$ [4] + $\text{H}_2\text{O}$ [6])	Изоцитратдегидрогеназа	НАДН [2]	Окислительное фосфорилирование	$2,5 \times 2 = 5$
	$\alpha$ -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс	НАДН [2]	Окислительное фосфорилирование	$2,5 \times 2 = 5$
	Сукцинил-SКоА-синтетаза	ГТФ [2]	Субстратное фосфорилирование	$1 \times 2 = 2$
	Сукцинатдегидрогеназа	ФАДН <sub>2</sub> [2]	Окислительное фосфорилирование	$1,5 \times 2 = 3$
	Малатдегидрогеназа	НАДН [2]	Окислительное фосфорилирование	$2,5 \times 2 = 5$
Суммарный выход АТФ (аэробный гликолиз)				$9 - 2 = 7$
Суммарный выход АТФ (окислительное декарбоксилирование пирувата)				5
Суммарный выход АТФ (ЦТК)				20
Итого образуется АТФ из одной молекулы глюкозы				$7 + 5 + 20 = 32$

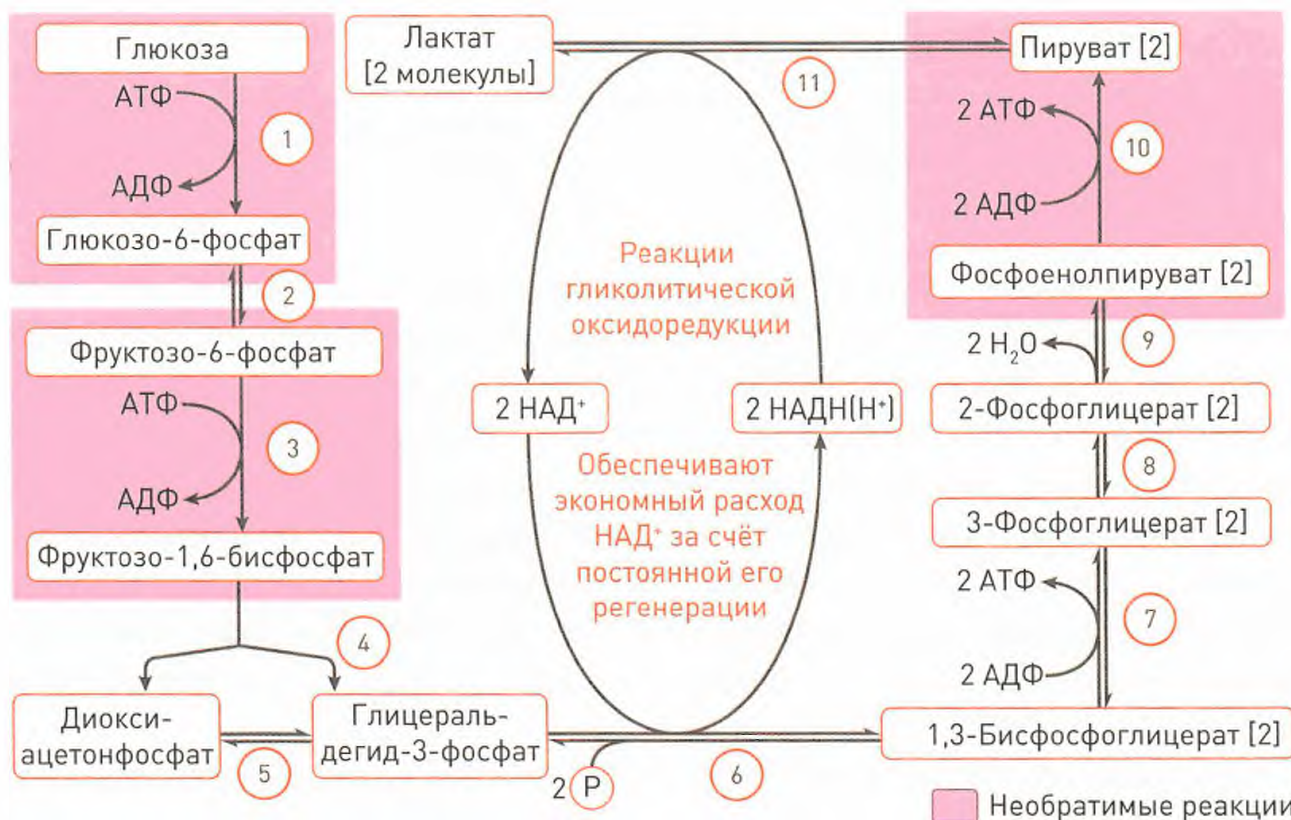


Энергетический эффект полного окисления глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  складывается из энергетических эффектов гликолиза (5 или 7 АТФ), окислительного декарбоксилирования пирувата (1,5 или 2,5 АТФ), а также ЦТК (7 или 10 АТФ). С учётом того, что одна молекула глюкозы превращается в две молекулы пирувата, число АТФ, образующихся при работе пируватдегидрогеназного комплекса ферментов и ЦТК, необходимо удвоить. Таким образом, суммарный энергетический эффект полного окисления глюкозы составляет от 22 до 32 АТФ при использовании глицерол-3-фосфатного или малат-аспартатного челночного механизмов соответственно (табл. 4.1).

При анаэробном гликолизе АТФ образуется только путём субстратного фосфорилирования. В этом процессе катаболизм одной молекулы глюкозы без участия ЦПЭ сопровождается синтезом четырёх молекул АТФ и двух молекул лактата. Суммарный энергетический выход составляет  $4 - 2 = 2$  АТФ.

## Гликолитическая оксидоредукция

Для стабильного протекания гликолиза необходимо наличие трёх основных участников процесса: собственно глюкозы; АТФ для первой и третьей реакции гликолиза; а также окисленного  $\text{НАД}^+$  для шестой реакции. При наличии кислорода  $\text{НАДН}$  окисляется в ЦПЭ. Для повторного использования  $\text{НАД}^+$  в условиях недостаточной работы ферментов митохондрий клетке приходится его окислять в одиннадцатой реакции восстановления пирувата до лактата. Образующийся при этом  $\text{НАД}^+$  возвращается в шестую реакцию, и процесс гликолиза в анаэробных условиях протекает автономно. Процесс циклического восстановления и окисления  $\text{НАД}^+$  в реакциях анаэробного гликолиза получил название *гликолитической оксидоредукции*.



В аэробных условиях гликолитической оксидоредукции не происходит, НАДН при участии челночных механизмов передаёт протоны в ЦПЭ.

## Анаболическое значение гликолиза

Метаболиты гликолиза могут использоваться не только для получения энергии, но и для синтеза ряда соединений. Так, фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат участвуют в образовании рибозо-5-фосфата, необходимого для синтеза нуклеотидов. 3-Фосфоглицерат используется для синтеза ряда аминокислот, например глицина, серина или цистеина, а диоксиацетонфосфат — для синтеза глицерол-3-фосфата и затем ТАГ. Ацетил-SКоА, образующийся из пирувата, является субстратом для синтеза ВЖК и холестерина. Например, в печени и в жировой ткани в постабсорбтивном периоде гликолиз используется преимущественно не с целью получения энергии, а как источник субстратов для синтеза жиров.

## Регуляция скорости гликолиза

Регуляция активности гликолиза направлена на поддержание постоянного уровня АТФ в клетке и определяется скоростью потребления АТФ. В краткосрочном периоде скорость гликолиза может регулироваться скоростью регенерации НАД<sup>+</sup>, необходимого для шестой реакции,

а также при помощи аллостерической регуляции активности ключевых ферментов процесса. В долгосрочном периоде возможно увеличение количества молекул ферментов в клетке, которая зависит от интенсивности транскрипции соответствующих генов, в частности инсулин усиливает транскрипцию генов всех трёх ключевых ферментов гликолиза.

Реакции гликолиза, за исключением трёх (первая, третья и десятая), являются обратимыми при физиологических условиях. Следовательно, регуляторные факторы, преследующие целью изменить скорость гликолиза и соответственно скорость образования АТФ, должны воздействовать именно на эти три реакции и ферменты, их катализирующие: гексокиназу, фосфофруктокиназу-1 и пируваткиназу.

Гексокиназы I и II типа аллостерически ингибируются глюкозо-6-фосфатом, поэтому при повышении внутриклеточной концентрации глюкозо-6-фосфата выше нормального уровня происходит обратимое подавление фосфорилирования глюкозы. Однако реакция, катализируемая гексокиназой, не является основной реакцией, определяющей скорость гликолиза. Это объясняется тем, что существенное количество глюкозо-6-фосфата клетка получает при распаде гликогена, а первая реакция гликолиза в этом случае не требуется. Кроме того, образующийся в ходе реакции глюкозо-6-фосфат может использоваться не только в последующих превращениях гликолиза, но также для синтеза гликогена или в пентозофосфатном пути окисления глюкозы.

Самое важное значение для регуляции скорости гликолиза имеет изменение активности фосфофруктокиназы-1, поскольку именно она предопределяет последующую судьбу глюкозо-6-фосфата. Фосфофруктокиназа-1 имеет несколько регуляторных сайтов, с которыми связываются аллостерические активаторы или ингибиторы. Она аллостерически ингибируется АТФ, а АДФ и АМФ снимают ингибирующее действие АТФ. Этот механизм способствует повышению активности фермента при накоплении АМФ или АДФ и снижению — при избытке АТФ. Синергично АТФ действует цитрат, усиливая ингибирующее действие АТФ на фосфофруктокиназу-1.

Ещё одним важным аллостерическим регулятором активности фосфофруктокиназы-1 служит фруктозо-2,6-бисфосфат. Фруктозо-2,6-бисфосфат реципрокно регулирует активность фосфофруктокиназы-1 и фруктозо-1,6-бисфосфатазы — фермента глюконеогенеза, катализирующего обратную реакцию превращения фруктозо-1,6-бисфосфата во фруктозо-6-фосфат. Эта способность фруктозо-2,6-бисфосфата исключает одновременное протекание противоположных процессов —

**Таблица 4.2.** Регуляторные ферменты гликолиза и основные механизмы регуляции их активности

Фермент	Механизм регуляции	Регулятор
Гексокиназа I и II типа	Аллостерическое ингибирование	<b>Глюкозо-6-фосфат</b>
Глюкокиназа (гексокиназа IV типа)	Ингибирование путём снижения доступности фермента	GKRP*
	Активация транскрипции гена фермента	<b>Инсулин</b> , фруктозо-2,6-бисфосфат
Фосфофруктокиназа-1	Аллостерические активаторы	<b>АМФ</b> , АДФ, <b>фруктозо-2,6-бисфосфат</b>
	Аллостерические ингибиторы	АТФ, цитрат, фосфоенолпируват
	Фосфорилирование (активация)**	Серотонин
	Фосфорилирование (ингибирование)**	Глюкагон
	Активация транскрипции гена фермента	<b>Инсулин</b>
Пируваткиназа	Аллостерические активаторы	<b>Фруктозо-1,6-бисфосфат</b>
	Аллостерические ингибиторы	<b>АТФ</b> , пируват, аланин, ацетил-SКоА, длинноцепочечные ВЖК
	Фосфорилирование (ингибирование)	Глюкагон, адреналин
	Активация транскрипции гена фермента, дефосфорилирование (активация)	<b>Инсулин</b>

\* GKRP — регуляторный белок глюкокиназы (*glucokinase regulatory protein*), связывает и перемещает глюкокиназу, контролируя её расположение в клетке. В период голодания GKRP связывает глюкокиназу и перемещает её для депонирования в ядро клетки, где она хранится в неактивном состоянии. При повышении уровня глюкозы и инсулина GKRP высвобождает глюкокиназу, она возвращается в цитоплазму. GKRP ингибируется фруктозо-6-фосфатом, что приводит к повышению активности глюкокиназы. Фосфорилирование GKRP при участии АМФ-зависимой протеинкиназы также снижает его способность инактивировать глюкокиназу.

\*\* Серотонин и глюкагон фосфорилируют фермент по разным сайтам фосфорилирования.

гликолиза и глюконеогенеза\*. Связываясь с аллостерическим центром фосфофруктокиназы-1, фруктозо-2,6-бисфосфат увеличивает сродство фермента к фруктозо-6-фосфату и уменьшает сродство к аллостерическим ингибиторам — АТФ и цитрату, тем самым ускоряя реакцию. На фруктозо-1,6-бисфосфатазу фруктозо-2,6-бисфосфат оказывает противополож-

\* См. подробно в главе 5.

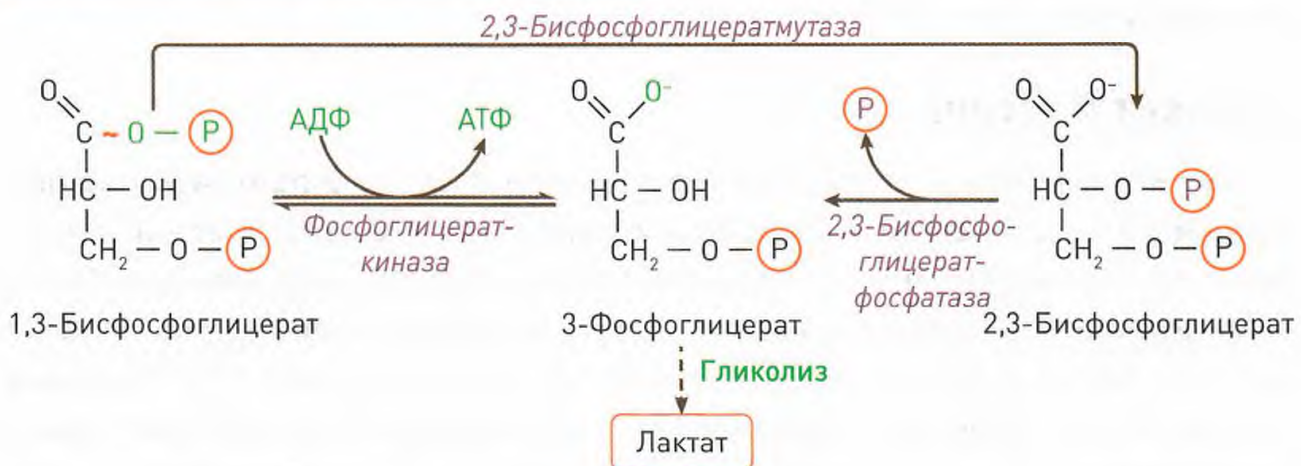
ное действие: он снижает сродство фермента к субстрату и тем самым замедляет глюконеогенез. Уровень фруктозо-2,6-бисфосфата, в свою очередь, регулируется глюкагоном и инсулином через аденилатциклазную систему: глюкагон его снижает, подавляя гликолиз и стимулируя глюконеогенез. Инсулин, напротив, повышает уровень фруктозо-2,6-бисфосфата, стимулируя гликолиз и замедляя глюконеогенез.

Пируваткиназа, третий регуляторный фермент гликолиза, аллостерически ингибируется АТФ, пируватом, аланином, ацетил-SКоА и длинноцепочечными ВЖК. Аллостерическим активатором пируваткиназы является фруктозо-1,6-бисфосфат. Для пируваткиназы L и M2 описана также возможность ингибирования глюкагоном посредством фосфорилирования [табл. 4.2].

Таким образом, основным аллостерическим ингибитором ключевых ферментов гликолиза является АТФ, которому «помогают» цитрат, ацетил-SКоА и другие метаболиты, избыток которых в клетке свидетельствует о достаточном уровне энергии и достаточной активности катаболических процессов. Активаторами гликолиза служат АМФ, фруктозо-1,6-бисфосфат и фруктозо-2,6-бисфосфат. Первый свидетельствует о дефиците в клетке АТФ, фосфорилированные формы фруктозы — о достаточном количестве субстратов.

Гормональная регуляция гликолиза при участии, прежде всего инсулина, глюкагона и адреналина, позволяет организму подстраиваться под условия внешней среды. Например, усиливать интенсивность гликолиза в постабсорбтивном периоде (после приёма пищи) под действием инсулина или, наоборот, замедлять гликолиз при одновременной стимуляции противоположного процесса — глюконеогенеза в период голодания.

## Шунт Рапопорта–Люберинга



Гликолиз в эритроцитах имеет специфический шунт Рапопорта–Люберинга, включающий изомеризацию 1,3-бисфосфоглицерата до 2,3-бисфосфоглицерата. 2,3-Бисфосфоглицерат регулирует связывание кислорода с гемоглобином, снижая аффинность гемоглобина к кислороду. Специфическая ориентация В-цепей гемоглобина создаёт полость, образованную катионными радикалами аминокислот. 2,3-Бисфосфоглицерат связывается с В-цепями, образуя поперечный мостик между атомами кислорода 2,3-бисфосфоглицерата и аминокислотными группами концевых валов обеих В-цепей, а также аминокислотными группами радикалов лизина и гистидина. С отрицательно заряженным 2,3-бисфосфоглицератом преимущественно взаимодействует дезоксигенированный гемоглобин. Множественные электростатические взаимодействия стабилизируют комплекс между 2,3-бисфосфоглицератом и дезоксигенированным гемоглобином. В полностью оксигенированном гемоглобине участок взаимодействия с 2,3-бисфосфоглицератом становится мал для размещения молекулы.

### **Внутриклеточная локализация ферментов гликолиза**

Общеизвестно, что гликолиз протекает в цитоплазме клетки, однако её объём достаточно велик, и, если ферменты были бы распределены по всему объёму цитоплазмы, эргономичность всего процесса в целом была бы низкой. В живой клетке ферменты гликолиза расположены рядом друг с другом и организуются в комплексы. Например, в клетках дрожжей ферменты гликолиза находятся в непосредственной близости к митохондриям, а в эритроцитах млекопитающих — вблизи клеточной мембраны. Такое кучное расположение ферментов в клетке позволяет, с одной стороны, упрощать перемещение промежуточных продуктов гликолиза между ферментами (substrate channeling), а с другой — облегчать перенос протонов с НАДН, образующегося в шестой реакции гликолиза, внутрь митохондрий и использовать их в ЦПЭ.

### **Эффект Пастера**

**Эффект Пастера** — снижение потребления глюкозы и прекращение продукции лактата клеткой в присутствии кислорода. Биологический смысл эффекта определяется тем, что аэробное окисление энергетически более выгодно, чем анаэробное, и клетка может расходовать меньшее количество молекул глюкозы для получения такого же числа молекул АТФ. Биохимическая основа эффекта заключается в конкуренции за субстрат между пируватдегидрогеназой, превращающей пируват в ацетил-SКоА, и лак-

татдегидрогеназой, превращающей пируват в лактат. В обычных условиях сродство пируватдегидрогеназы к пирувату гораздо выше, и большая часть пирувата окисляется до ацетил-SКоА. При гипоксии происходит следующее: в условиях дефицита кислорода замедляется работа ЦПЭ, и НАДН в ЦПЭ не окисляется → накапливающийся в митохондриях НАДН тормозит ЦТК → образуется избыток ацетил-SКоА, который ингибирует пируватдегидрогеназу. В этой ситуации у клетки не остаётся выбора, и лактатдегидрогеназа превращает пируват в лактат.

## Эффект Варбурга

Опухолевые клетки часто существуют в условиях недостаточного снабжения кислородом и поэтому вынужденно используют анаэробный путь окисления глюкозы, невзирая на то что энергопродукция такого подхода неоптимальна. Однако большинство опухолевых клеток, в отличие от нормальных, сохраняет повышенную активность гликолиза даже при наличии достаточного количества кислорода.

Эффект Варбурга\* — «переключение» основного механизма получения энергии опухолевой клеткой с окислительного фосфорилирования на анаэробный гликолиз, который не сопровождается полным окислением глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Биохимическими последствиями эффекта Варбурга служат повышенный захват опухолевыми клетками глюкозы (опухоль — «ловушка» глюкозы), активация большинства ферментов гликолиза, а также превращение избытка пирувата в лактат. Связанный аспект этого феномена — отрицательный эффект Пастера — отсутствие торможения гликолитического окисления глюкозы с образованием лактата в присутствии кислорода. Это обусловлено несколькими особенностями метаболизма злокачественной клетки.

Во-первых, опухолевые клетки часто несут мутации ряда генов, в частности *p53*, которые снижают экспрессию митохондриальных ферментов и, следовательно, интенсивность окислительного фосфорилирования в митохондрии. Одновременно с этим они, как правило, быстро делятся и запускают множество хаотичных анаболических процессов, требующих значительного расхода АТФ.

\* Назван по имени Отто Генриха Варбурга (1883–1970), впервые выдвинувшего гипотезу о замене опухолевыми клетками аэробного дыхания на анаэробный гликолиз, за что был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине (1931). Варбург ошибочно полагал, что этот эффект является первопричиной злокачественной трансформации клеток. Последующие исследования показали, что раковые клетки могут иметь любой тип энергообеспечения, в том числе и свойственный нормальным клеткам, а этот эффект является следствием, а не причиной образования опухолевой клетки.

Во-вторых, опухолевая клетка захватывает избыточные количества глюкозы из внеклеточного пространства, глюкоза превращается в глюкозо-6-фосфат и оказывается «запертой» в клетке; это достигается благодаря повышенной экспрессии инсулин-независимых транспортёров глюкозы GLUT-1 и GLUT-3, а также повышенному содержанию гексокиназы. В условиях дефицита АТФ, избытка глюкозы и недостаточности окислительного фосфорилирования в митохондриях клетке не остаётся другого выбора, кроме как активировать анаэробный гликолиз.

Наиболее логичный механизм, который используют практически все опухолевые клетки, — усиление транскрипции генов гликолитических ферментов, что увеличивает число молекул ферментов в клетке и определённо повышает «пропускную способность» процесса гликолиза в целом. Однако при этом многие опухолевые клетки содержат большое количество димерной пируваткиназы PKM2 с низкой активностью, что увеличивает содержание промежуточных метаболитов гликолиза и даёт дополнительные возможности для их включения в анаболические процессы.



Высокая скорость гликолиза в опухолевых клетках используется в диагностических целях при помощи позитронно-эмиссионной томографии. Пациентам вводят содержащую изотоп  $^{18}\text{F}$  фтордезоксиглюкозу, которая проникает в клетки при участии транспортёров GLUT и превращается гексокиназой в фтордезоксиглюкозо-6-фосфат. В опухолевых клетках накопление этого метаболита, как правило, в 10 раз выше, чем в нормальных.

## Рекомендуемая литература

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt.* Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.

*David L. Nelson, Michael M. Cox.* Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

*Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer.* Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.

*Michael King.* Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.

*Кольман Я., Рём К.-Г.* Наглядная биохимия. 7-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2021, 509 с.

Биохимия/Под ред. Е.С. Северина. 5-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020, 768 с.

## Задания для обсуждения



2-Дезокси-D-глюкоза (2-DG) вместо гидроксильной группы содержит атом Н в положении 2, а 2-фтордезоксид-глюкоза [2-FDG] содержит вместо гидроксильной группы атом F. 2-DG и 2-FDG транспортируются в клетку по типичному для глюкозы механизму, а затем подвергаются фосфорилированию при участии гексокиназы. Продукты этой реакции накапливаются в клетке и конкурентно ингибируют глюкозофосфатизомеразу, что приводит к нарушению образования фруктозо-6-фосфата. 2-DG изучается в качестве лекарственного средства для лечения злокачественных опухолей, а содержащая изотоп фтора  $^{18}\text{F}$  2-FDG используется для их диагностики.

- А. Назовите соединения, в которые 2-DG и 2-FDG превращаются в клетке под действием гексокиназы.
- Б. Предположите, почему 2-DG может ингибировать рост злокачественных опухолей.
- В. Предположите, какая особенность опухолевых клеток позволяет использовать 2-FDG для их диагностики.



К врачу обратилась мама 2-летнего ребёнка. На фоне нормального физического развития у ребёнка появилась желтуха и небольшая тахикардия. Общий анализ крови показал уменьшение содержания эритроцитов и увеличение содержания ретикулоцитов. В биохимическом анализе: увеличение концентрации моно- и бисфосфолипидов, снижение уровня АТФ, пирувата и лактата в эритроцитах. Врач установил диагноз гемолитической анемии.

- А. Предположите, с врождённым дефицитом какого фермента могут быть связаны симптомы и изменения лабораторных показателей у ребёнка.
- Б. Какой из метаболитов гликолиза является аллостерическим активатором этого фермента?
- В. Поясните, какая особенность строения эритроцитов делает их наиболее уязвимыми среди клеток организма человека к врождённому дефициту этого фермента.



Пируваткиназа в клетках существует в двух формах — тетрамерной и димерной. В нормальных клетках содержится тетрамерная форма пируваткиназы, обладающая высоким сродством к субстрату, в то время как в быстроделящихся клетках (эмбриональных или опухолевых) преобладает М2-пируваткиназа (PKM2) — димерная изоформа пируваткиназы, обладающая низким сродством к субстрату при его физиологической концентрации. Опухолевые клетки гиперэкспрессируют PKM2, которая способна к ассоциации в тетрамерную форму, например, при избытке фруктозо-1,6-бисфосфата в клетке. Определение PKM2 в кале используется для ранней диагностики предраковых заболеваний и рака толстой кишки.

- А. Назовите субстрат и продукт реакции, катализируемой пируваткиназой. Какое соединение — субстрат или продукт — относится к соединениям с высоким потенциалом переноса групп?
- Б. Поясните, почему при нахождении пируваткиназы в димерной форме (PKM2) активируется синтез пентоз и нуклеотидов.

В. Поясните, каков смысл перехода димерной формы в тетрамерную и какие метаболиты при этом будут в клетке накапливаться? Учитывайте, что опухолевые клетки находятся постоянно в условиях гипоксии.



К врачу обратилась мама 5-летнего ребёнка. Длительное время у ребёнка наблюдается мышечная слабость, в последнее время начали беспокоить боли в мышцах во время физической нагрузки. Биохимический анализ мочи показал миоглобинурию. При биопсии мышечной ткани обнаружено увеличение содержания гликогена нормального строения при сниженном уровне АТФ.

- А. Врождённый дефицит какого из ферментов гликолиза может сопровождаться такой клинической картиной и биохимическими изменениями?
- Б. Назовите аллостерические активаторы и ингибиторы этого фермента. Поясните, какие из них активируют, а какие — ингибируют фермент.
- В. Объясните, почему дефицит этого фермента приводит к накоплению гликогена.



В поджелудочной железе фермент глюкокиназа выполняет роль сенсора глюкозы в процессе секреции инсулина панкреатическими В-клетками. Окисление глюкозы приводит к увеличению соотношения АТФ/АДФ и способствует закрытию АТФ-чувствительных  $K^+$ -каналов, деполаризации мембраны и притоку  $Ca^{2+}$ . В результате резервный пул гранул инсулина превращается в легковысвобождающийся пул, что обеспечивает выход инсулина в кровотоки.

- А. Подумайте, как и почему изменится концентрация глюкозы крови в случае дефекта глюкокиназы поджелудочной железы.
- Б. Какую реакцию катализирует этот фермент? В каких тканях его активность наиболее высока?
- В. Охарактеризуйте специфичность этого фермента и механизмы регуляции его количества/активности в сравнении с гексокиназой.



Больной, 50 лет, почувствовал резкую слабость и боль в области сердца. В больницу обратился спустя сутки, при осмотре врач предположил инфаркт миокарда и назначил несколько биохимических исследований, в том числе определение активности лактатдегидрогеназы (LDH) в крови.

- А. Изменение активности какой (каких) из фракций LDH врач предполагает увидеть в результатах анализов? Объясните, почему.
- Б. К какому классу ферментов относится этот фермент?
- В. Запишите катализируемую реакцию.
- Г. При каких ещё заболеваниях активность LDH в крови может увеличиваться?



Пациент, 50 лет, поступил в больницу в состоянии острого алкогольного отравления. При осмотре: учащённое дыхание и сердцебиение, боль в животе, рвота, нарушения рефлексов. Врач предположил, что указанные симптомы отчасти связаны с лактат-ацидозом.

- А. Как изменяется соотношение НАДН/НАД<sup>+</sup> при остром алкогольном отравлении?
- Б. Как изменяется у таких пациентов в крови соотношение лактат/пируват?
- В. Напишите реакцию образования лактата в организме. Укажите фермент и кофермент.
- Г. При каких заболеваниях и патологических состояниях скорость образования лактата может увеличиваться?

# 5

Глюконеогенез

**Глюконеогенез** — метаболический путь синтеза глюкозы из неуглеводных источников. В качестве субстратов для глюконеогенеза используются в первую очередь молочная и пировиноградная кислоты (лактат и пируват), гликогенные аминокислоты (все протеиногенные аминокислоты, кроме лейцина и лизина), глицерол и ряд других соединений. Предшественником глюкозы может быть любое соединение, превращающееся в процессе катаболизма в пируват, глицерол или один из промежуточных продуктов ЦТК.

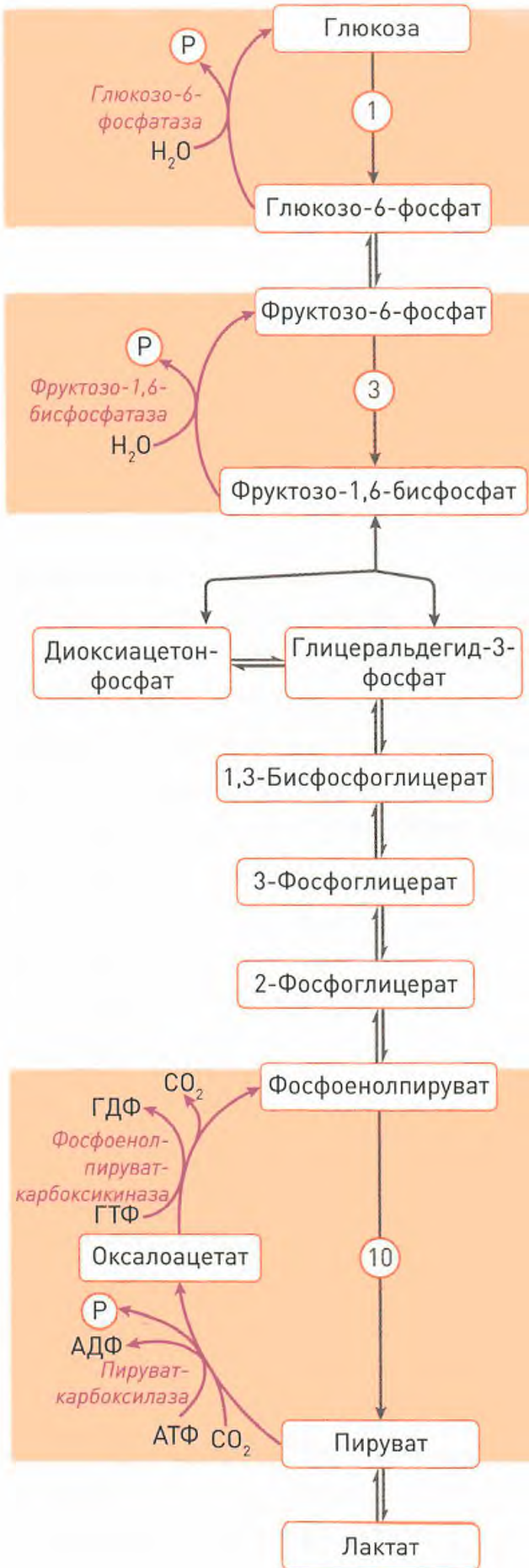
---



Глюконеогенез — процесс синтеза глюкозы из неуглеводных источников *de novo* — запускается после истощения запаса гликогена в печени с целью поддержания концентрации глюкозы плазмы крови. Субстратами глюконеогенеза служат лактат, пируват, глицерол и гликогенные аминокислоты

---

Глюкоза служит единственным источником энергии для эритроцитов и основным — для нервной ткани, мозгового вещества почек и клеток тестикул. Головной мозг потребляет около 120 г глюкозы в сутки, и эта величина практически не зависит от интенсивности его работы. Только в экстремальных ситуациях (длительное голодание) нейроны центральной нервной системы могут получать энергию из неуглеводных источников, таких как кетоновые тела. Примерно 200 г глюкозы может быть извлечено из запасов гликогена в организме человека, соответственно уровень глюкозы в плазме крови за счёт запасов гликогена может поддерживаться в течение не более 24 ч голодания.



При низком содержании углеводов в пище, длительном голодании (более суток), интенсивной физической работе, то есть когда глюкоза крови расходуется и наступает гипогликемия, организм должен иметь возможность синтезировать глюкозу, чтобы восстановить её концентрацию в крови. Процесс синтеза глюкозы из пирувата — глюконеогенез — поддерживает в крови уровень глюкозы, необходимый для работы в первую очередь нервной ткани и эритроцитов. Он служит важным источником глюкозы в условиях недостаточного количества гликогена, а также после тяжёлой физической работы. Кроме получения глюкозы, глюконеогенез обеспечивает также функцию утилизации лактата, постоянно образующегося в эритроцитах или в мышечной ткани при физической работе; глицерола, продукта липолиза в жировой ткани; а также избытка пирувата, который не нужен клетке для «сжигания» в ЦТК.

Реакции глюконеогенеза могут идти во всех тканях, кроме последней реакции превращения глюкозо-6-фосфата в глюкозу, которая протекает только в клетках печени, почек (в корковом веществе) и эпителиальных клетках тонкой кишки. Только из этих органов глюкоза может поступать в кровотоки и использоваться клетками других органов и тканей. Более 80% глюкозы в организме человека синтезируется печенью.

Глюконеогенез — процесс, обратный гликолизу. Все обратимые реакции гликолиза в глюконеогенезе протекают в противоположном направлении с участием тех же ферментов. Три необратимые реакции гликолиза (десятая, третья и первая) в клеточных условиях протекают с большим отрицательным изменением энергии Гиббса. Эти энергетические барьеры клетка может преодолеть «окольным путём» при помощи дополнительных реакций — «реакций обхода», катализируемых другими ферментами, уникальными для глюконеогенеза. Эти реакции также очень экзергоничны и потому необратимы.

### Обход десятой реакции гликолиза

Синтез фосфоенолпирувата из пирувата осуществляется в несколько этапов, при участии двух ключевых ферментов — митохондриальной пируваткарбоксилазы и цитоплазматической фосфоенолпируваткарбоксикиназы. Эти две реакции протекают с затратой энергии гидролиза АТФ и ГТФ соответственно, обе реакции в физиологических условиях необратимы.

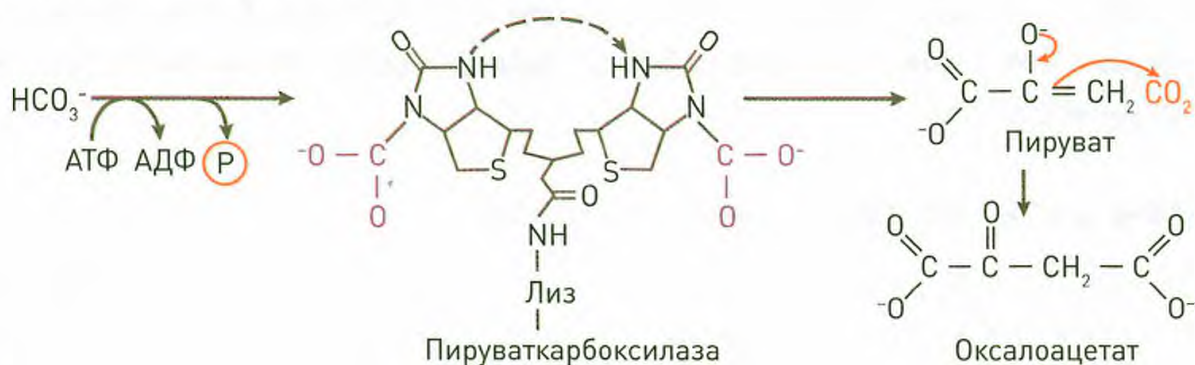
Под влиянием пируваткарбоксилазы (КФ 6.4.1.1) происходит карбоксилирование (присоединение карбоксильной группы) молекулы пирувата при участии  $\text{CO}_2$  и энергии АТФ с образованием оксалоацетата. Пируваткарбоксилаза использует в качестве кофермента биотин, а также ионы  $\text{Mg}^{2+}$  (или  $\text{Mn}^{2+}$ ). Помимо важной роли в синтезе глюкозы, реакция, катализируемая пируваткарбоксилазой, также является анаплеротической реакцией\* ЦТК, восполняя дефицит оксалоацетата, который заставляет ЦТК «крутиться» быстрее.



Биотин связывается с ферментом ковалентно, образуя амидную связь с  $\xi$ -аминогруппой остатка лизина в активном центре фермента (биотинилизин) и играет роль молекулы-переносчика карбоксильной группы.

\* Анаплеротические реакции (от греческого  $\text{ἀνά}$  — «вверх» и  $\text{πλήρωω}$  — «заполнять») — химические реакции, которые позволяют восполнять недостаток промежуточных соединений какого-либо метаболического пути.

Из бикарбонат-иона  $\text{HCO}_3^-$  за счёт энергии гидролиза АТФ образуется активированная карбоксильная группа в виде смешанного ангидрида (карбоксифосфата). Биотинил-лизин представляет собой длинную «руку», которая захватывает  $\text{CO}_2$  от карбоксифосфата, и, раскачиваясь, переносит его к молекуле пирувата, которая, присоединяя карбоксильную группу, превращается в оксалоацетат.



### Врождённый дефицит пируваткарбоксилазы

Редкое врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутацией в гене пируваткарбоксилазы (PC), заболеваемость 1:250 тыс. новорождённых. Вследствие невозможности превращения в оксалоацетат избыток пирувата превращается в лактат с развитием лактат-ацидоза. К другим возможным симптомам относятся гипогликемия (снижение уровня глюкозы плазмы крови), гипераммониемия, печёночная недостаточность, снижение интенсивности синтеза кетоновых тел и демиелинизация нейронов. Демиелинизация нейронов и нарушение образования нейромедиаторов приводят к психомоторной недостаточности. В зависимости от генетического дефекта проявления дефицита пируваткарбоксилазы могут быть различными.

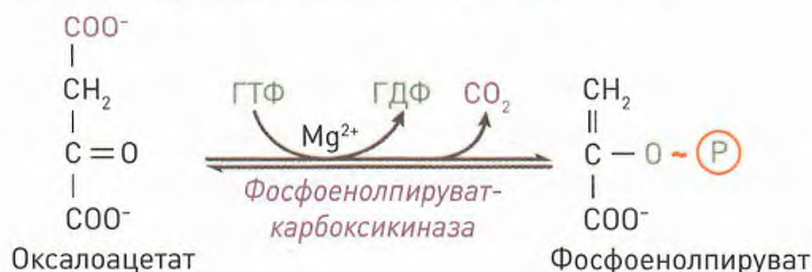
- ✦ Дефицит пируваткарбоксилазы типа А: манифестирует во младенчестве, преобладают тяжёлые симптомы лактат-ацидоза (тошнота, мышечная слабость, одышка), а также задержки развития. Летальный исход, как правило, наступает в первые годы жизни.
- ✦ Дефицит пируваткарбоксилазы типа В: манифестирует во младенчестве, преобладают признаки лактат-ацидоза, гипераммониемии и печёночной недостаточности. Клинически проявляется неврологическими нарушениями, в том числе мышечной гипотонией, припадками и комой. Летальный исход, как правило, наступает в первые 3 мес жизни.
- ✦ Дефицит пируваткарбоксилазы типа С: отличается относительно благоприятным прогнозом, манифестирует в детском возрасте и сопровождается умеренной задержкой умственного развития.

Лечение включает рацион с повышенным содержанием белков и углеводов и сниженным содержанием жиров.

Помимо глюконеогенеза, реакция превращения пирувата в оксалоацетат играет важную роль в процессах синтеза жиров, нейромедиаторов, а также в индукции секреции инсулина островковыми клетками поджелудочной железы при гипергликемии. Соответственно высокая экспрессия пируваткарбоксилазы отмечается в клетках печени и коркового вещества почек (где протекает активно глюконеогенез), адипоцитах (где активен синтез ТАГ) и клетках лактирующей молочной железы (где активен как синтез ТАГ, так и глюконеогенез, обеспечивающий процесс синтеза лактозы), а также в эндокринных клетках поджелудочной железы. В нейронах ЦНС, кардиомиоцитах и клетках надпочечников активность пируваткарбоксилазы умеренная, а в фибробластах кожи фермент практически отсутствует.

Пируваткарбоксилаза аллостерически активируется ацетил-SКоА. Избыток ацетил-SКоА образуется в процессе  $\beta$ -окисления ВЖК и свидетельствует о доступности субстратов ЦТК, из которых можно получить энергию. Глюкагон повышает активность пируваткарбоксилазы, глюкокортикоиды увеличивают, а инсулин снижает её экспрессию.

Оксалоацетат в результате декарбоксилирования и фосфорилирования под влиянием фосфоенолпируваткарбоксихиназы (КФ 4.1.1.32) превращается в фосфоенолпируват с отщеплением молекулы  $\text{CO}_2$ . От молекулы отщепляется та же  $-\text{COOH}$ -группа, что и присоединилась реакцией ранее. Донором остатка фосфорной кислоты в реакции служит гуанозинтрифосфат (ГТФ), реакция требует участия ионов  $\text{Mg}^{2+}$  или  $\text{Mn}^{2+}$ .



В геноме человека присутствуют два гена, *PCK1* и *PCK2*, кодирующие два изофермента фосфоенолпируваткарбоксихиназы — цитоплазматическую и митохондриальную соответственно. Традиционно считается, что цитоплазматический изофермент играет более важную роль в глюконеогенезе, чем митохондриальный. Экспрессия цитоплазматической фосфоенолпируваткарбоксихиназы повышается под действием глюкагона (через цАМФ-опосредованную регуляцию экспрессии генов при участии CREB), глюкокортикоидов, ретиноевой кислоты или цАМФ; ингибируется инсулином. При сахарном диабете типа 2 (инсулинрезистентном) отмечается гиперэкспрессия цитоплазматической фосфоенолпируваткарбоксихиназы, что сопровождается повышением активности глюконеогенеза и приводит к гипергликемии.

Процесс обхода десятой реакции гликолиза не так прост, как может показаться из простого сложения двух реакций превращения пирувата в фосфоенолпируват через оксалоацетат. Сложность заключается в том, что пируват превращается в оксалоацетат в митохондриях, а оксалоацетат в фосфоенолпируват — в основном в цитоплазме. Соответственно возникает необходимость переноса оксалоацетата через внутреннюю мембрану митохондрии. Однако непосредственно оксалоацетат через мембрану митохондрий проникать не способен и для его переноса требуются ещё как минимум две реакции: сначала оксалоацетат восстанавливается в малат, который переходит из митохондрии в цитоплазму и затем превращается обратно в оксалоацетат.



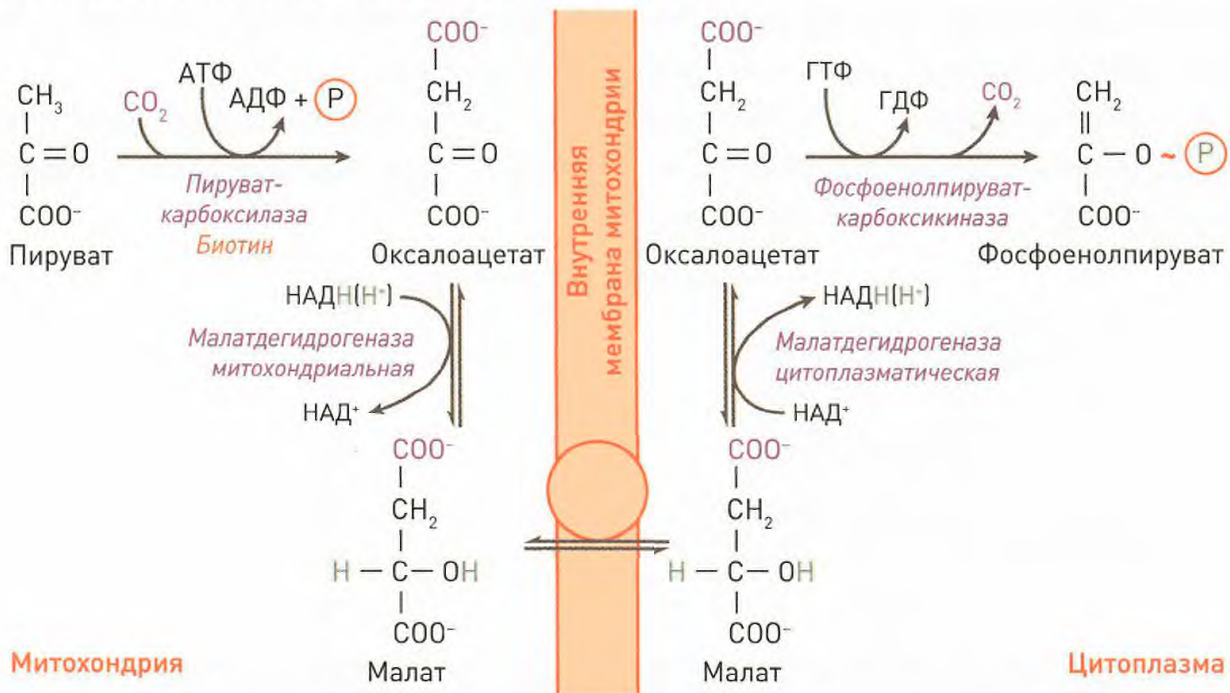
Эти реакции протекают при участии НАД-зависимой малатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.37), сначала митохондриальной (кодируется геном *MDH2*), а затем цитоплазматической (кодируется геном *MDH1*) изофермента\*. Митохондриальная малатдегидрогеназа участвует и в глюконеогенезе, и в ЦТК, катализируя как прямую, так и обратную реакции. В митохондриях отношение НАД<sup>+</sup>/НАДН относительно мало, в связи с чем находящийся внутри митохондрий оксалоацетат легко восстанавливается в малат. Избыток НАДН в митохондриях образуется за счёт β-окисления ВЖК, которое активируется в гепатоците при голодании. В цитоплазме, напротив, отношение НАД<sup>+</sup>/НАДН очень велико\*\* (примерно в 105 раз больше, чем в митохондриях), и малат окисляется при участии цитоплазматической НАД-зависимой малатдегидрогеназы обратно в оксалоацетат.



\* Помимо НАД-зависимой малатдегидрогеназы, в организме человека также присутствует НАД-зависимая малатдегидрогеназа/декарбоксилаза (КФ 1.1.1.39, малик-фермент), которая катализирует реакцию превращения малата в пируват с высвобождением  $\text{CO}_2$ .

\*\* Соотношение НАД<sup>+</sup>/НАДН в цитоплазме типичной эукариотической клетки составляет от 60/1 до 700/1, а в митохондрии поддерживается на уровне от 7/1 до 8/1.

Поскольку цитоплазматический НАДН используется в глюконеогенезе при образовании глицеральдегид-3-фосфата из 1,3-бисфосфоглицерата, синтез глюкозы не может происходить, если нет доступного НАДН. Транспорт малата из митохондрии в цитоплазму и последующее превращение его в оксалоацетат позволяет дополнительно переносить в цитоплазму НАДН, восполняя его дефицит. Такой сложный путь от пирувата к фосфоенолпирувату обеспечивает важный баланс между потребляемым и образуемым в цитоплазме в ходе глюконеогенеза НАДН.



Таким образом, реальная последовательность химических превращений, необходимая для обхода десятой реакции гликолиза, выглядит следующим образом:

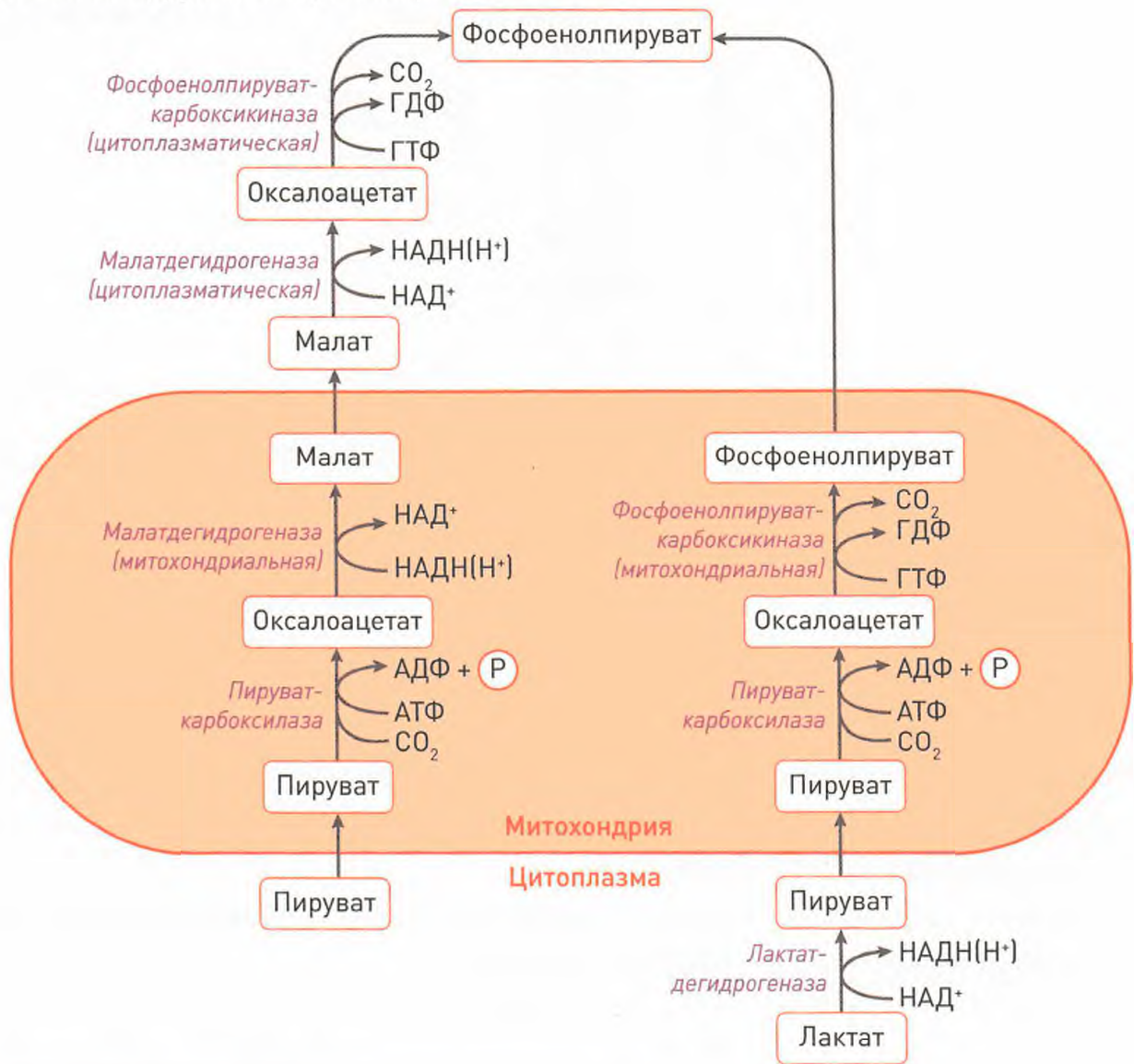
- ① пируват образуется при окислении лактата в цитоплазме или в реакции трансаминирования аланина;
- ② пируват переносится через внутреннюю мембрану митохондрии при участии белков-переносчиков MPC1 и MPC2;
- ③ в митохондриях пируваткарбоксилаза превращает пируват в оксалоацетат;
- ④ в митохондриях оксалоацетат восстанавливается в малат при участии митохондриальной малатдегидрогеназы;
- ⑤ малат накапливается, выходит в цитоплазму по механизму антипорта при участии различных транспортных белков\*;

\* Малат может переноситься через внутреннюю мембрану митохондрии при участии следующих переносчиков: CTP, citrate transport protein и DTC, dicarboxylate-tricarboxylate carrier (выкачивают из митохондрии малат в обмен на цитрат); OAT, oxaloacetate-malate transporter (выкачивает из митохондрии малат в обмен на оксалоацетат); OMT, oxoglutarate-malate translocator (выкачивает из митохондрии малат в обмен на  $\alpha$ -кетоглутарат).

- 6 в цитоплазме малат превращается обратно в оксалоацетат при участии цитоплазматической малатдегидрогеназы;
- 7 в цитоплазме фосфоенолпируваткарбоксикиназа превращает оксалоацетат в фосфоенолпируват.

Альтернативный вариант предусматривает использование митохондриальной фосфоенолпируваткарбоксикиназы. В этом случае фосфоенолпируват образуется из оксалоацетата в митохондриях, а затем переносится в цитоплазму при участии белков-переносчиков\*. Традиционно считается, что митохондриальная фосфоенолпируваткарбоксикиназа имеет меньшее значение для глюконеогенеза, чем цитоплазматическая.

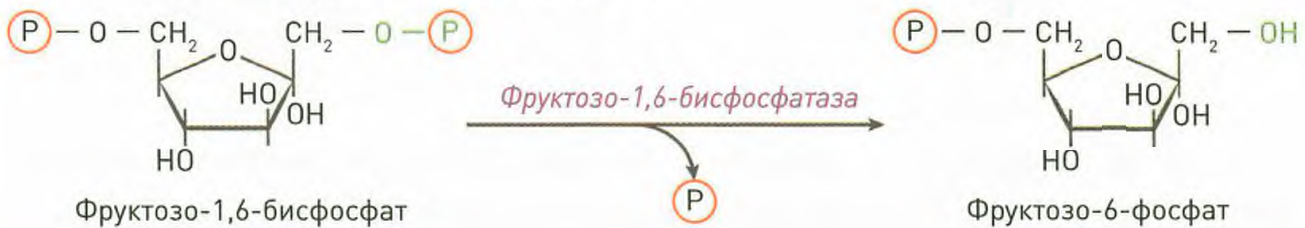
Фосфоенолпируват, образовавшийся из пирувата, проходит обратимые реакции гликолиза (с девятой по четвёртую в обратном порядке) и превращается во фруктозо-1,6-бисфосфат.



\* Фосфоенолпируват может переноситься через внутреннюю мембрану митохондрии при участии СТР, а также АДФ/АТФ транслоказы.

## Обход третьей реакции гликолиза

Превращение фруктозо-1,6-бисфосфата во фруктозо-6-фосфат катализируется  $Mg^{2+}$ -зависимой фруктозо-1,6-бисфосфатазой (КФ 3.1.3.11), при этом происходит необратимое отщепление (гидролиз) остатка фосфорной кислоты,  $\Delta G'^{\circ} = -16,3$  кДж/моль. Фруктозо-1,6-бисфосфатаза аллостерически ингибируется фруктозо-2,6-бисфосфатом. Ингибирование фруктозо-1,6-бисфосфатазы рассматривается как возможная стратегия лечения сахарного диабета типа 2, поскольку снижает образование глюкозы и соответственно её уровень в плазме крови.



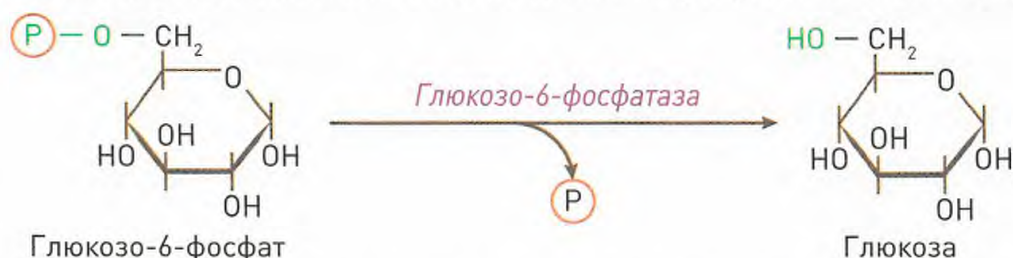
### Врождённый дефицит фруктозо-1,6-бисфосфатазы

Редкое врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутацией в гене *FBP1*. В отсутствие глюконеогенеза спустя 12 ч после приёма пищи у пациентов наблюдается гипогликемия. К этому времени израсходуются запасы гликогена, а глюконеогенез не может поддерживать падающий уровень глюкозы плазмы крови. У пациентов отмечают повышенный уровень глюкагона, который не может ускорить глюконеогенез из-за отсутствия или сниженной активности фермента, но ускоряет расщепление ТАГ в жировой ткани с высвобождением ВЖК и глицерола. Поскольку триозофосфаты не могут использоваться для синтеза глюкозы, они превращаются в пируват с образованием избытка лактата (лактат-ацидоз) и ацетил-SКоА (с избыточным синтезом кетоновых тел). Пациентам следует избегать длительных перерывов между приёмами пищи, а также снизить употребление фруктозы.

## Обход первой реакции гликолиза

Глюкозо-6-фосфат может дефосфорилироваться под влиянием  $Mg^{2+}$ -зависимой глюкозо-6-фосфатазы (КФ 3.1.3.9), с образованием глюкозы и необратимым отщеплением последнего остатка фосфорной кислоты,  $\Delta G'^{\circ} = -13,8$  кДж/моль. Эта реакция завершает процесс глюконеогенеза и тем самым играет определяющую роль в поддержании уровня глюкозы плазмы крови. Это единственная реакция глюконеогенеза, которая не может проходить во всех тканях и протекает только в печени, почках и энтероцитах тонкой кишки. Соответственно только из печени (в меньшей степени из

почек и энтероцитов) свободная глюкоза, образованная в процессе глюконеогенеза, поступает в кровоток. Отсутствие глюкозо-6-фосфатазы в клетках (в частности, мышечных) делает их «ловушкой» для глюкозы. Образовавшийся глюкозо-6-фосфат не может быть использован для получения глюкозы и не может покинуть клетку, следовательно, он используется только самой клеткой для обеспечения катаболических (пентозофосфатный путь окисления глюкозы или гликолиз) или анаболических процессов (синтез гликогена).



Глюкозо-6-фосфатаза\* является трансмембранным белком и локализуется в мембране ЭПР, при этом каталитический домен находится с внутренней стороны мембраны, то есть непосредственно реакция протекает в ЭПР (рис. 5.1). Фермент работает в тесной связке с трансмембранными белками-переносчиками:

- глюкозо-6-фосфат транслоказой (G6PT1, кодируется геном *SLC37A4*, переносит глюкозо-6-фосфат из цитоплазмы в просвет ЭПР);
- переносчиком глюкозы GLUT2 (кодируется геном *SLC2A2*, переносит остаток глюкозы обратно в цитоплазму);
- переносчиком анионов NPT4 (кодируется геном *SLC17A3*, переносит обратно в цитоплазму остаток фосфорной кислоты).

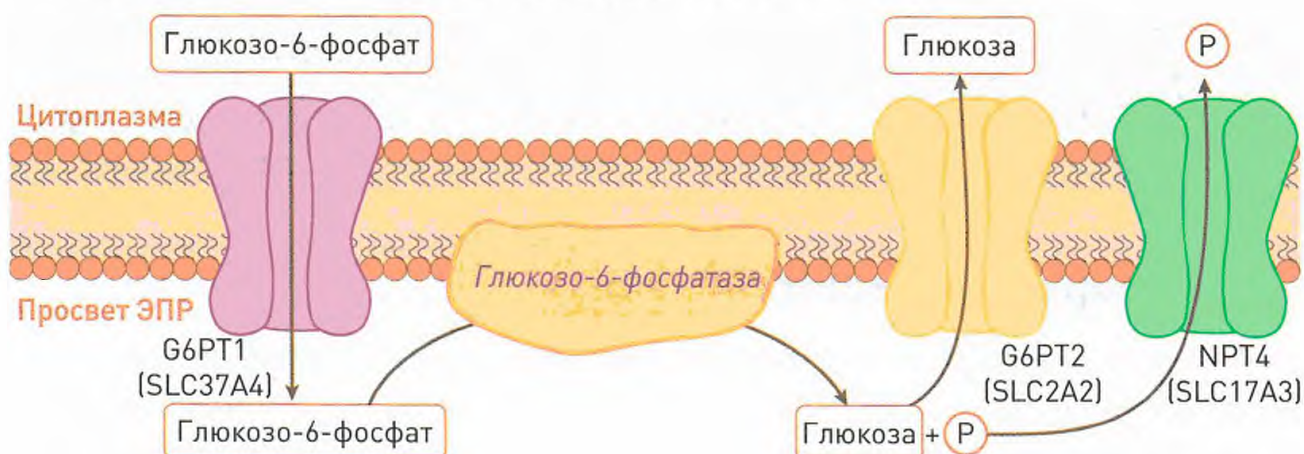


Рис. 5.1. Глюкозо-6-фосфатаза и трансмембранные переносчики, обеспечивающие её работу.

\* В геноме человека закодировано три изофермента глюкозо-6-фосфатазы: гены *G6PC* (кодирует глюкозо-6-фосфатазу а), *G6PC2* и *G6PC3* (кодирует глюкозо-6-фосфатазу б). Продукт экспрессии гена *G6PC2*, белок IGRP, играет важную роль в стимуляции секреции инсулина островковыми клетками поджелудочной железы.

### Болезнь фон Гирке (гликогеноз I типа)

Врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутациями в генах *G6PC* (ген глюкозо-6-фосфатазы), *SLC37A4* (ген глюкозо-6-фосфат транслоказы) или *SLC17A3* (ген транспортёра анионов). Наиболее часто встречающийся тип гликогеноза с заболеваемостью около 1:50–1:100 тыс. новорождённых. В отдельных популяциях заболеваемость существенно выше: у евреев-ашкенази примерно 1:20 тыс. новорождённых. Дефицит глюкозо-6-фосфатазы приводит к гликогенозу типа Ia (*GSD Ia\**, до 80% случаев), дефицит глюкозо-6-фосфат транслоказы — к гликогенозу типа Ib (*GSD Ib*, до 20% случаев), к *GSD Ic* относятся ультраредкие случаи дефицитов других белков, в том числе белков-переносчиков фосфатов\*\*.

Поскольку превращение глюкозо-6-фосфата в глюкозу является ключевой реакцией, позволяющей печени снабжать организм глюкозой в период голодания, *GSD I* проявляется выраженным снижением содержания глюкозы плазмы крови, накоплением избытка гликогена в печени и, в меньшей степени, в почках. Манифестирует в первые недели жизни, когда ребёнку начинают увеличивать перерывы между кормлениями. Проявляется повышенной раздражительностью, лабильностью, слабостью, нарушениями сна. В случае если диагноз не был установлен в раннем детском возрасте и ребёнку не скорректировали пищевое поведение, появляются выраженные неврологические нарушения.

Длительная гипогликемия у пациентов с *GSD I* сопровождается стабильным снижением уровня инсулина, а также повышением уровня глюкагона и кортизола. Вторичные биохимические изменения включают повышение концентрации лактата, мочевой кислоты, аланина и ТАГ. Лактат не может эффективно утилизироваться в процессе глюконеогенеза, вследствие этого между приёмами пищи возможны резкие подъёмы его концентрации, вплоть до тяжёлого лактат-ацидоза. Ранние проявления лактат-ацидоза неспецифичны (рвота, слабость и дегидратация), чтобы своевременно распознать это состояние, следует помнить о том, что у пациентов с *GSD I* лактат-ацидоз сочетается с эпизодами выраженной гипогликемии.

Гиперурикемия развивается как следствие избытка глюкозо-6-фосфата, который перенаправляется в пентозофосфатный путь окисления глюкозы и соответственно приводит к образованию избыточного количества рибоз. Одновременно с этим, как правило, усиливается катаболизм пуриновых оснований и образование мочевой кислоты. С другой стороны, мочевая кислота конкурирует с молочной и другими органическими кислотами в процессе выделения почками, следовательно, при лактат-ацидозе гиперурикемия усугубляется дополнительно за счёт нарушения её

\* *GSD* — *glycogen storage disease*, болезнь накопления гликогена (гликогеноз).

\*\* В настоящее время для упрощения принято деление всех вариантов гликогеноза I типа на *GSD Ia* (дефект *G6PC*) и *GSD non-Ia* (дефект генов других задействованных белков).

выведения. Последствия гиперурикемии включают накопление кристаллов солей мочевой кислоты в виде подагрических тофусов в суставах, а также в виде уратных камней в мочевыводящих путях.

Из-за невозможности завершить глюконеогенез, промежуточные метаболиты гликолиза окисляются до пирувата, который, в свою очередь, помимо лактата, может превращаться в ацетил-SКоА или трансминироваться с образованием аланина. Избыток ацетил-SКоА переносится в цитоплазму и расходуется для синтеза холестерина и ВЖК.

Вследствие накопления гликогена отмечается увеличение размеров печени. К другим возможным последствиям, скорость наступления которых и тяжесть коррелируют с длительностью гипогликемии, относятся остеопения, доброкачественные и злокачественные опухоли печени (развиваются, вероятно, вследствие избытка глюкагона), увеличение размера почек и нарушения канальцевой реабсорбции. GSD Ib также сопровождается нейтропенией и соответственно повышенной восприимчивостью к инфекциям. При этом типе гликогеноза в дополнение к обозначенным выше симптомам GSD Ia могут добавляться спленомегалия, тромбоцитопения и анемия.

Диагноз устанавливают на основании характерного сочетания анамнеза (симптомы появляются в первые месяцы жизни, при увеличении перерывов между кормлениями) и описанных выше клинических и биохимических признаков. Дифференциальный диагноз проводят с другими, более редкими типами гликогенозов (GSD III и GSD IV), врождённым дефицитом фруктозо-1,6-бисфосфатазы. Введение глюкагона или адреналина у таких пациентов не может значимо повысить уровень глюкозы плазмы крови. Для подтверждения диагноза используют генетические методы, которые позволяют выявить мутации в соответствующих генах.

Пациентам необходим частый дробный приём небольшого количества углеводов, с интервалами между приёмами пищи не более 3 ч. Суточный рацион должен содержать примерно 65–70% углеводов, 10–15% белков и 20–25% жиров. Приём продуктов, содержащих галактозу и фруктозу, следует по возможности исключить. При развитии лактат-ацидоза необходимо экстренно восстановить уровень глюкозы плазмы крови и поднять уровень оксигенации. Гиперурикемия требует назначения аллопуринола. Поскольку у пациентов с GSD I повышен риск развития аденомы печени и гепатоцеллюлярной карциномы, им необходимы регулярные обследования (магнитно-резонансная или компьютерная томография) для выявления опухолевого процесса на ранних стадиях и своевременного лечения.

Прогноз неблагоприятный. В отсутствие лечения пациенты погибают в раннем детском возрасте от нарастающей гипогликемии и ацидоза. При своевременно начатом и систематическом лечении пациенты живут дольше, но, как правило, в связи со стабильно низким уровнем инсулина у них отмечается задержка физического развития.

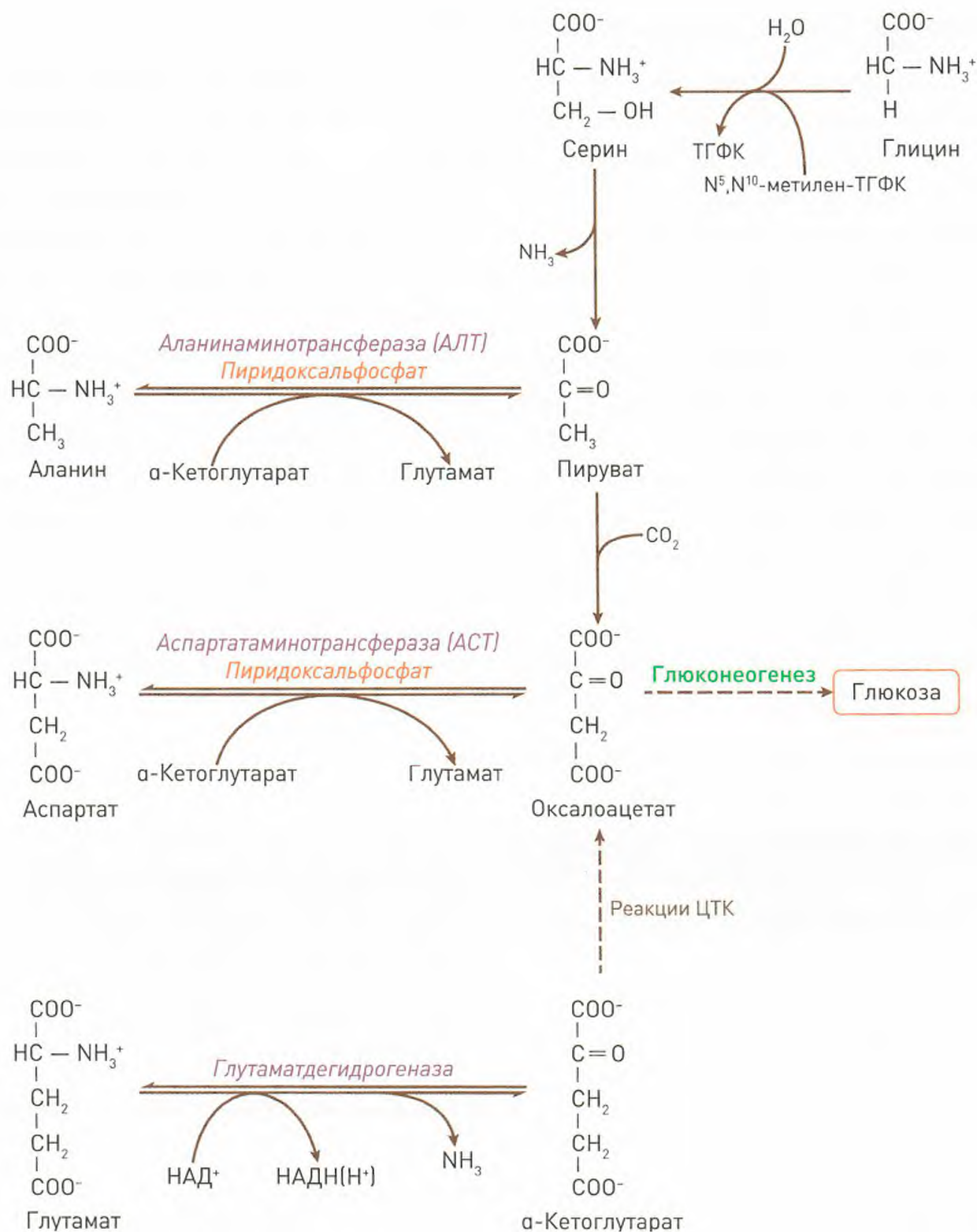
## Синтез глюкозы из аминокислот

Свободные аминокислоты образуются при распаде белков мышц и соединительной ткани, их использование в глюконеогенезе характерно для продолжительного голодания или длительной физической нагрузки. Для синтеза глюкозы могут быть использованы все протеиногенные аминокислоты, кроме лейцина и лизина. Аминокислоты превращаются в пируват или различные метаболиты ЦТК, что позволяет включать их углеродные остовы в процесс глюконеогенеза (табл. 5.1). Все углеродные остовы аминокислот, способных превращаться в  $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинил-SКоА и фумарат, в ходе реакций ЦТК в итоге метаболизируются до оксалоацетата и включаются в реакцию, катализируемую фосфоенолпируваткарбоксикиназой либо непосредственно в митохондриях, либо (чаще) после переноса в цитоплазму. Наибольшее биологическое значение у человека имеет использование в качестве субстратов глюконеогенеза аланина и глутамина, их масштабный транспорт из периферических тканей в печень позволяет обеспечивать не только синтез глюкозы, но также и элиминацию избытка аминного азота и регулировать азотистый баланс.

**Таблица 5.1.** Продукты метаболизма аминокислот, которые используются в процессе глюконеогенеза

Метаболит, в который аминокислота может превращаться в организме человека	Протеиногенные аминокислоты
Пируват	Аланин, цистеин, глицин, серин, треонин, триптофан
$\alpha$ -Кетоглутарат	Аргинин, глутаминовая кислота, глутамин, гистидин, пролин
Сукцинил-SКоА	Изолейцин, метионин, треонин, валин
Фумарат	Фенилаланин, тирозин
Оксалоацетат	Аспарагин, аспарагиновая кислота

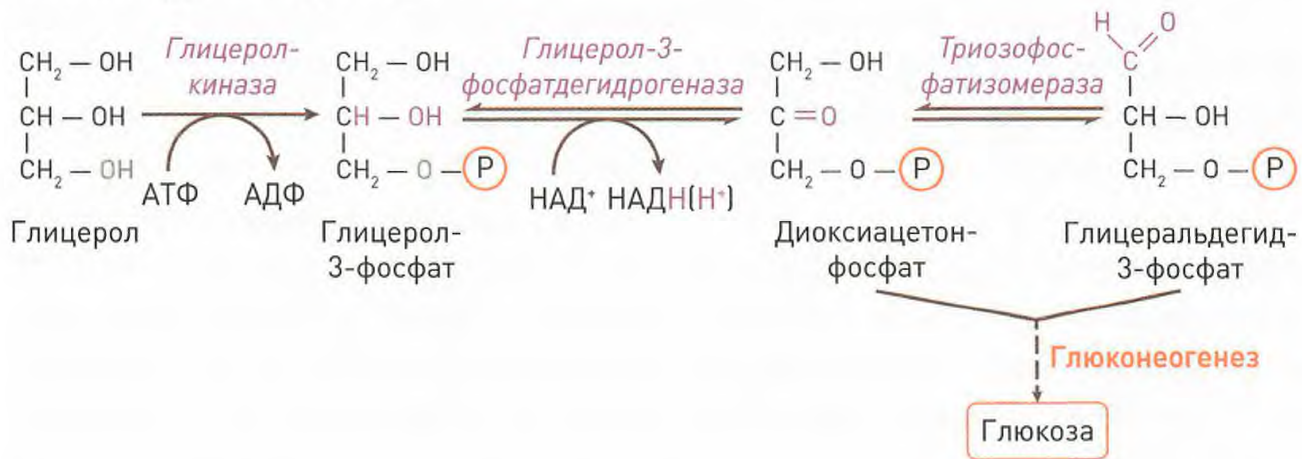
Аспарагиновая кислота и аспарагин, глутаминовая кислота и глутамин после трансаминирования и дезаминирования превращаются в метаболиты ЦТК, оксалоацетат и  $\alpha$ -кетоглутарат соответственно. Аланин при трансаминировании образует пируват. Серин под воздействием сериндегидратазы превращается в пируват.



## Синтез глюкозы из глицерола

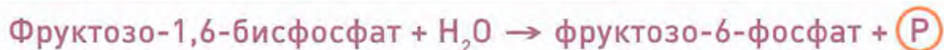
При физической нагрузке под влиянием адреналина или при голодании под влиянием глюкагона и кортизола в адипоцитах активно происходит распад ТАГ (липолиз), одним из продуктов этого процесса является глицерол. Глицерол может подвергаться катаболизму только в тех тканях,

в которых имеется глицеролкиназа, например в печени и почках. В адипоцитах (жировой ткани) глицеролкиназа отсутствует, поэтому она не может его метаболизировать. При избытке глицерила адипоцит выбрасывает его в кровоток, откуда он поступает в печень, где фосфорилируется, окисляется до диоксиацетонфосфата и включается в глюконеогенез в реакции, которую катализирует альдолаза.



## Регуляция глюконеогенеза

Процессы гликолиза и глюконеогенеза позволяют контролировать концентрацию глюкозы плазмы крови, но, будучи противоположными, должны активироваться в организме человека в разных физиологических условиях. Если бы гликолиз и глюконеогенез протекали одновременно, то результатом стали бы расход АТФ и образование тепла: на сумму двух процессов тратились бы 2 молекулы АТФ и 2 молекулы ГТФ. Например, фосфофруктокиназа-1 и фруктозо-1,6-бисфосфатаза катализируют противоположные реакции.



Сумма этих двух реакций:



Поскольку гликолиз является способом получения энергии как в аэробных, так и в анаэробных условиях, он непрерывно протекает во всех клетках и должен ускоряться при усилении работы клетки, например сокращении миоцита. Кроме того, гликолиз служит источником глицерила и ацетил-SКоА, используемых для синтеза жиров в гепатоцитах и адипоцитах, и активируется при избытке глюкозы в этих клетках.

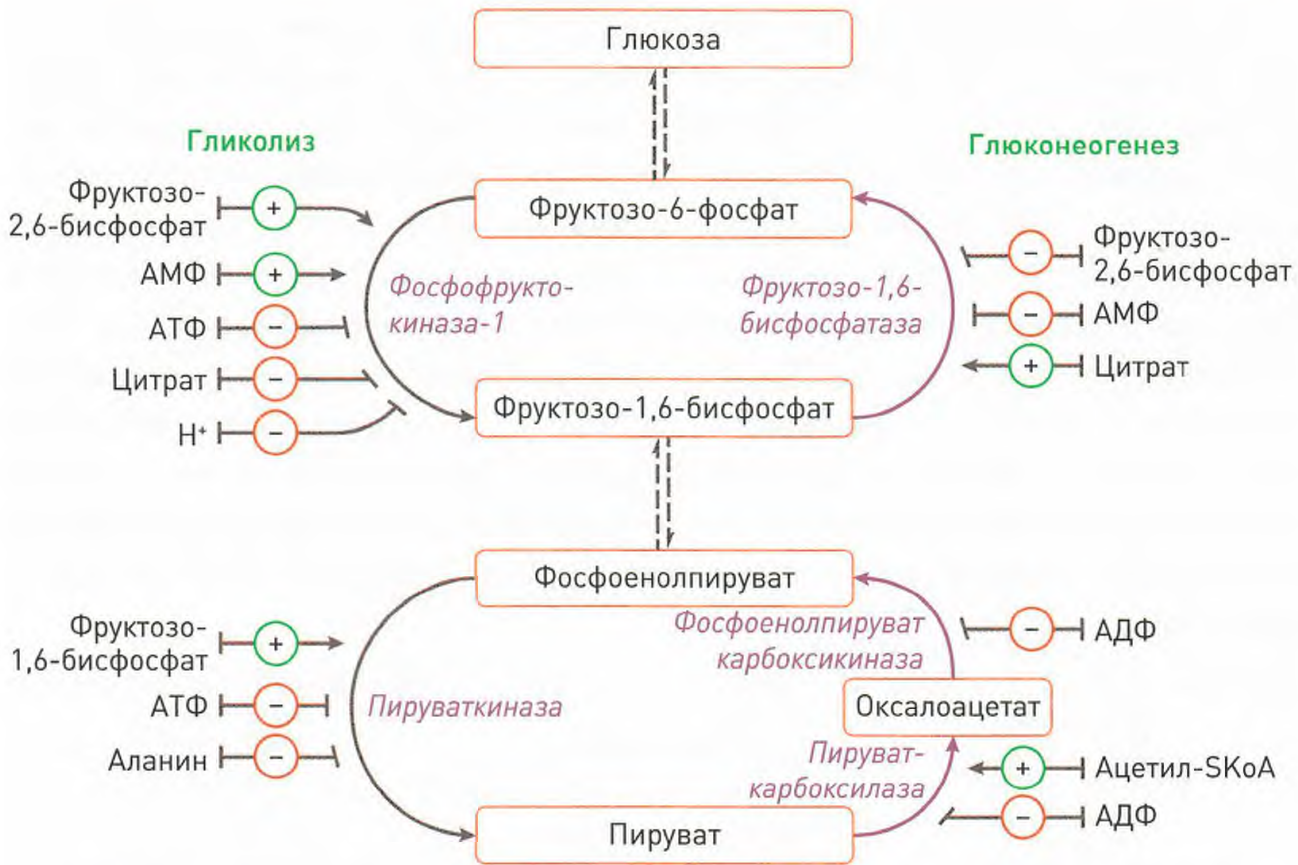
Глюконеогенез необходим при гипогликемии во время мышечной нагрузки (в этом случае происходит синтез глюкозы из лактата, поступающего из работающих мышц или эритроцитов, и из глицерола, образующегося при мобилизации жиров). При гипогликемии вследствие длительного голодания для синтеза глюкозы используются, помимо глицерола и лактата, также аминокислоты, которые образуются при катаболизме белков.

Таким образом, скорость протекания гликолиза и глюконеогенеза регулируется доступностью субстратов: при избытке глюкозы в клетке и дефиците энергии предпочтительно протекает гликолиз, при избытке лактата, пирувата и достаточном количестве АТФ и ГТФ — глюконеогенез. Глюконеогенез и гликолиз регулируются реципрокно\*: если клетка снабжена энергией в достаточной степени, то гликолиз приостанавливается и запускается глюконеогенез; напротив, при активизации гликолиза происходит остановка глюконеогенеза. Так, в работающей мышце образуется избыток АМФ, который стимулирует фосфофруктокиназу-1, но ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу, что «включает» гликолиз и «выключает» глюконеогенез. Высокий уровень АТФ и цитрата свидетельствует, напротив, об отсутствии дефицита энергии: цитрат ингибирует фосфофруктокиназу-1 и активирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу. В результате «выключается» гликолиз и «включается» глюконеогенез.

Аналогичным реципрокным способом скорость глюконеогенеза может регулироваться путём изменения активности пируваткиназы и реакций обхода десятой реакции гликолиза. При замедлении активности пируваткиназы под действием глюкагона или адреналина возникают условия, благоприятствующие глюконеогенезу. Когда энергетические потребности клетки удовлетворены, окислительное фосфорилирование замедляется, соотношение НАД<sup>+</sup>/НАДН уменьшается, скорость ЦТК уменьшается и происходит накопление ацетил-SКоА. Ацетил-SКоА аллостерически стимулирует активность первого фермента глюконеогенеза — пируваткарбоксилазы. Следовательно, когда в митохондриях накапливается ацетил-SКоА, активность пируваткарбоксилазы увеличивается. Одновременно с этим повышенная концентрация ацетил-SКоА подавляет пируватдегидрогеназный комплекс, тем самым замедляя образование из пирувата ацетил-SКоА и позволяя превратить излишек пирувата в оксалоацетат (впоследствии в глюкозу).

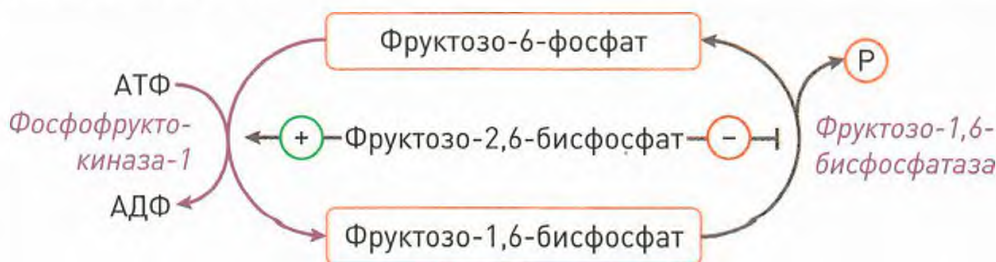
---

\* Реципрокность (от лат. *reciprocus* — возвращающийся, обратный, взаимный) — способ взаимодействия процессов, при котором координация их работы взаимно согласована и направлена противоположно, при этом, как правило, активация одного процесса уменьшает, подавляет активность другого процесса, и наоборот.

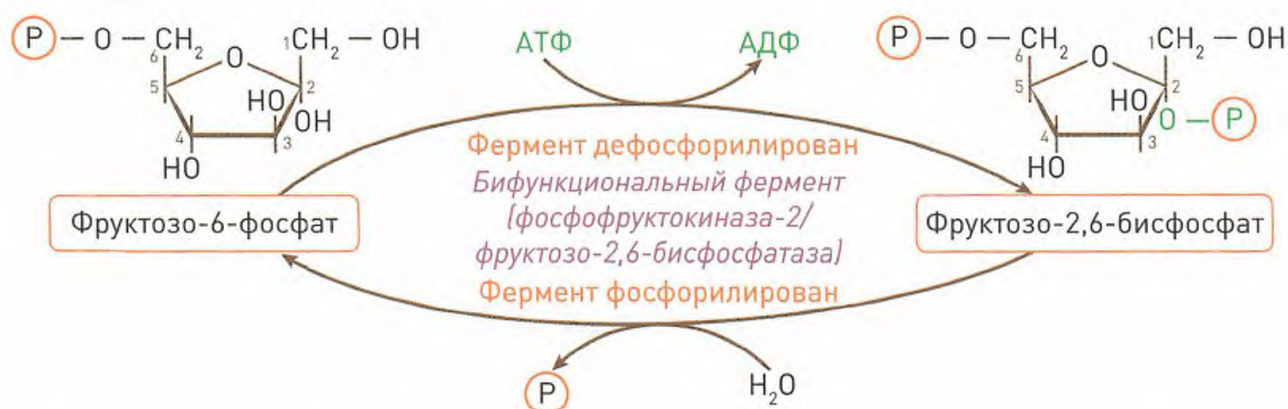


На глюконеогенез существенное влияние оказывает этанол. В результате его катаболизма увеличивается количество НАДН, что смещает равновесие реакции, катализируемой лактатдегидрогеназой, в сторону образования лактата, замедляет образование пирувата и ингибирует глюконеогенез.

Важным с точки зрения регуляции обмена углеводов этапом глюконеогенеза является обход третьей реакции гликолиза. Фосфофруктокиназа-1 и фруктозо-1,6-бисфосфатаза катализируют реакции, протекающие в противоположных направлениях, и именно реципрокная регуляция этих двух реакций позволяет исключить одновременное протекание обоих процессов. Фруктозо-1,6-бисфосфатаза стимулируется при участии АТФ и ингибируется АМФ, соответственно при низкой концентрации АМФ и высоком уровне АТФ происходит стимуляция глюконеогенеза. Напротив, когда отношение АТФ/АМФ мало, в клетке активируется фосфофруктокиназа-1 и ускоряется гликолиз.



Синтез и распад фруктозо-2,6-бисфосфата катализируется одним и тем же ферментом, обладающим как киназной, так и фосфатазной активностью (КФ 2.7.1.105/3.1.3.46). Фруктозо-2,6-бисфосфат образуется из фруктозо-6-фосфата при участии АТФ: остаток фосфорной кислоты присоединяется к -ОН-группе у второго атома углерода, соответственно катализирующий эту реакцию фермент можно назвать фосфофруктокиназой-2. Катализ обратной реакции — отщепления остатка фосфорной кислоты осуществляет фруктозо-2,6-бисфосфатаза. Способность катализировать реакцию в обоих направлениях обуславливает тривиальное название этого белка — бифункциональный фермент\*. Присутствие обоих — киназного и фосфатазного доменов в составе одной полипептидной цепи важно с позиции однозначности регуляции уровня фруктозо-2,6-бисфосфата в клетке.



Активность бифункционального фермента регулируется путём цАМФ-зависимого фосфорилирования. Этот механизм даёт возможность быстрой регуляции уровня фруктозо-2,6-бисфосфата в клетке под действием гормонов. В условиях гипогликемии, например в период голодания, повышение уровня глюкагона в крови стимулирует аденилатциклазный каскад, что приводит к фосфорилированию бифункционального фермента при участии протеинкиназы А. Фосфорилирование приводит к увеличению фосфатазной и снижению киназной активности, уменьшая уровень фруктозо-2,6-бисфосфата и тем самым стимулируя глюконеогенез. Высокий уровень глюкозы плазмы крови стимулирует выброс инсулина, что сопровождается активацией протеинфосфатазы, отщепляющей остаток фосфорной кислоты

\* В геноме человека присутствуют четыре гена, кодирующих бифункциональный фермент: PFKFB1 (локализован на X-хромосоме, экспрессируется преимущественно в печени, мышечной ткани и тканях эмбриона), PFKFB2 (экспрессируется преимущественно клетками миокарда), PFKFB3 (экспрессируется в головном мозге, плаценте, в других клетках, особенно в опухолевых, экспрессия может индуцироваться в условиях гипоксии), PFKFB4 (экспрессируется преимущественно в клетках тестикул).

от бифункционального фермента. Это приводит к повышению киназной и уменьшению фосфатазной активности, уровень фруктозо-2,6-бисфосфата в клетке возрастает, увеличивая скорость гликолиза.

Активность бифункционального фермента регулируется также некоторыми метаболитами, среди которых наибольшее значение имеет глицерол-3-фосфат. Действие глицерол-3-фосфата на фермент аналогично эффекту, который наблюдается при его фосфорилировании с помощью цАМФ-зависимых протеинкиназ. Высокие концентрации фосфоенолпирувата и цитрата могут ингибировать киназную активность бифункционального фермента.

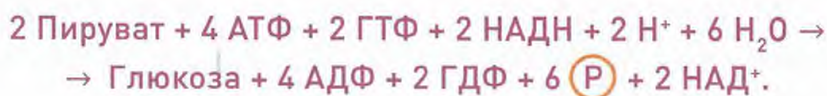
## Гормональная регуляция глюконеогенеза

Глюкокортикоиды (кортизол) увеличивают синтез пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы. Глюкагон стимулирует те же самые ферменты через аденилатциклазный механизм путём фосфорилирования. Инсулин замедляет экспрессию генов глюкозо-6-фосфатазы и фруктозо-1,6-бисфосфатазы. Активация рецепторов инсулина повышает уровень фосфодиэстеразы, которая гидролизует цАМФ до АМФ\*.

Инсулин регулирует экспрессию генов ферментов глюконеогенеза через посредник — транскрипционный фактор FOXO1 (forkhead box protein O1). FOXO1 находится в цитоплазме, в дефосфорилированном виде FOXO1 может проникать в ядро, связываться с соответствующим регуляторным элементом на ДНК и запускать транскрипцию генов фосфоенолпируваткарбоксикиназы и глюкозо-6-фосфатазы. Инсулин через PI3K/Akt сигнальный путь активирует протеинкиназу B, которая фосфорилирует FOXO1, находящийся в цитоплазме. С фосфорилированным FOXO1 связывается убиквитин, и FOXO1 разрушается в протеасоме, таким образом инсулин может на длительный срок подавлять экспрессию генов ключевых ферментов глюконеогенеза. Фосфорилирование FOXO1 протеинкиназой B препятствует глюкагону.

## Энергетический эффект глюконеогенеза

Суммарное уравнение глюконеогенеза выглядит следующим образом:



\* цАМФ регулирует активность транскрипции при участии транскрипционного фактора CREB (cAMP-response element binding protein).

Для образования одной молекулы глюкозы из двух молекул пирувата необходимо затратить энергию гидролиза 4 молекул АТФ и 2 молекул ГТФ. Кроме того, для восстановления двух молекул 1,3-бисфосфолицерата необходимы 2 молекулы НАДН.

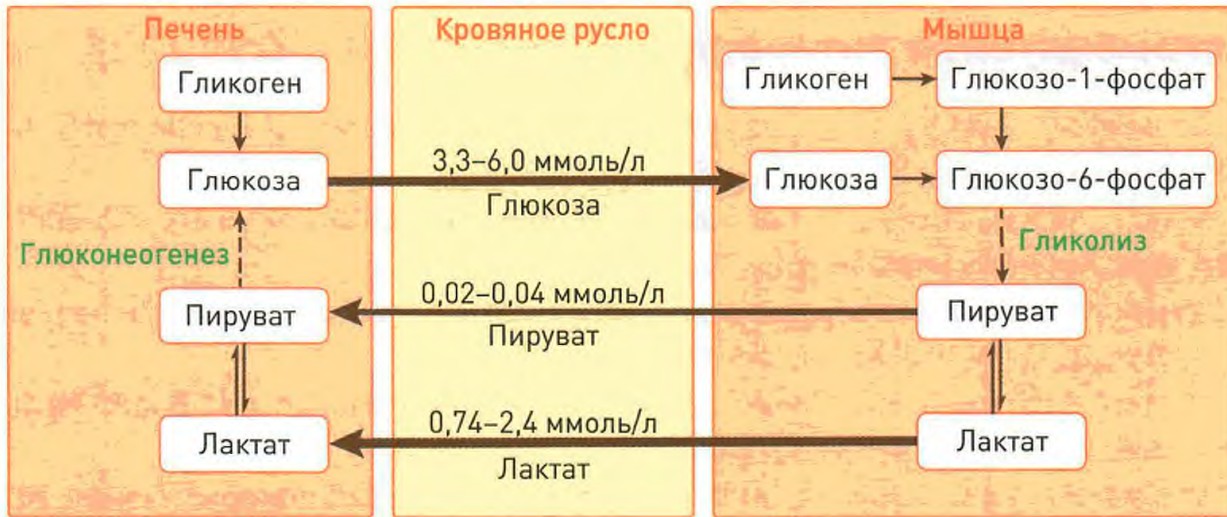
## Глюкозо-лактатный цикл (цикл Кори)

**Цикл Кори\*** — совокупность биохимических процессов образования лактата в мышцах, его последующего транспорта в печень, превращения лактата в печени в глюкозу и её повторной утилизации в мышцах с образованием лактата. Таким образом, глюкозо-лактатный цикл объединяет реакции глюконеогенеза и реакции анаэробного гликолиза. Глюконеогенез происходит в печени, субстратом для синтеза глюкозы является лактат, поступающий в основном из эритроцитов или мышечной ткани.

В эритроцитах лактат образуется непрерывно, так как для них анаэробный гликолиз является единственным способом получения энергии. В скелетных мышцах накопление лактата является следствием активации гликолиза при интенсивной работе. Реакция образования лактата из пирувата — в определённом смысле метаболический тупик: лактат не может далее окисляться или превратиться в клетке во что-то полезное, минуя обратную реакцию. При этом он накапливается, снижая при интенсивной мышечной работе внутриклеточный рН до 6,3–6,5. Единственный способ для клетки утилизировать лактат — превратить его обратно в пируват либо же вывести лактат за пределы клетки. Клеточная мембрана хорошо проницаема для лактата, и в условиях интенсивной мышечной работы он движется по градиенту концентрации наружу, выходя из миоцита. Таким способом активно работающий миоцит «перекладывает работу» по окислению лактата обратно в пируват на другие клетки организма.

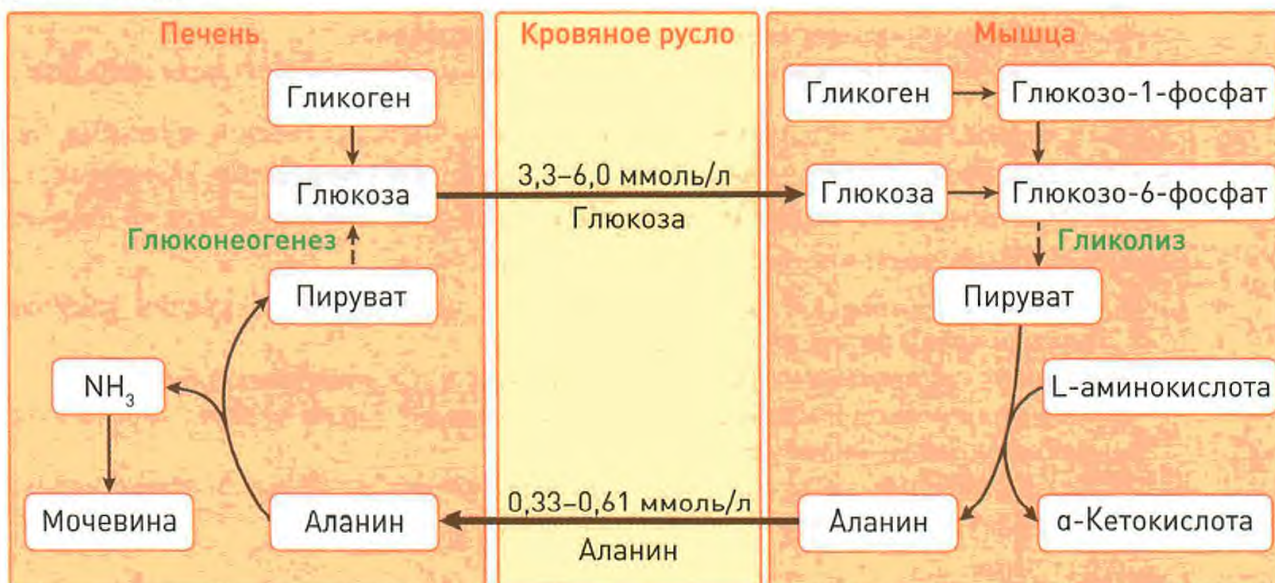
Из кровотока лактат далее может захватываться клетками миокарда или гепатоцитами, не испытывающими дефицит кислорода, которые окисляют лактат в пируват, последний включается в реакции глюконеогенеза или превращается в ацетил-SКоА. Глюкоза, образованная в печени, утилизируется самим гепатоцитом или возвращается обратно в кровоток. В последующем она может быть использована как энергетический субстрат для продолжения мышечной работы или для восстановления запасов гликогена в мышечной ткани во время отдыха, или же может поступать в другие органы для обеспечения их энергетических потребностей.

\* Назван по имени первооткрывателя Гертты Терезы Радниц-Кори (1896–1957), удостоенной Нобелевской премией по физиологии и медицине (1947).



## Глюкозо-аланиновый цикл

Целью глюкозо-аланинового цикла также является утилизация пирувата, но, кроме этого, решается ещё одна немаловажная задача — обезвреживание аминного азота и поддержание азотистого баланса. Аланин образуется в мышечных клетках, которые используют углеродные скелеты аминокислот в качестве источника энергии. Попадая в кровоток, аланин становится формой транспорта азота аминокислоты и пирувата из мышцы в печень. В гепатоците идёт обратная реакция трансаминирования, аминокислота через глутамат передаётся на синтез мочевины, а пируват используется для синтеза глюкозы. Кроме мышечной работы, глюкозо-аланиновый цикл активируется во время голодания, когда белки мышц и других тканей распадаются и многие аминокислоты используются в качестве источника энергии, а их азот необходимо доставить в печень для выведения.



## Рекомендуемая литература

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt.* Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.

*David L. Nelson, Michael M. Cox.* Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

*Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer.* Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.

*Michael King.* Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.

*Кольман Я., Рём К.-Г.* Наглядная биохимия. 7-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2021, 509 с.

Биохимия. Под ред. Е.С. Северина. 5-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020, 768 с.

## Задания для обсуждения



Родители привезли в клинику 2-месячного ребёнка с температурой 38,4 °С. Лихорадка отмечается в течение последних 4 дней, также ребёнок страдает от рвоты и диареи. При осмотре: увеличен живот, истончённые конечности, «кукольное» лицо. В биохимическом анализе крови выявлена гипогликемия, которая не купировалась введением глюкозы или адреналина. Кроме этого, выявлены лёгкий ацидоз и повышенный уровень лактата, повышенный уровень ТАГ и холестерина. Врач заподозрил гликогеноз и назначил биопсию печени.

- Дефицит какого фермента наиболее вероятно имеется у ребёнка? Какому типу гликогеноза это соответствует?
- К какому классу ферментов относится этот фермент?
- С чем связан повышенный уровень лактата у ребёнка?
- Почему инъекция адреналина не вызвала повышения уровня глюкозы в крови?



Спустя 3 дня после землетрясения в клинику был доставлен мужчина без видимых повреждений, извлечённый из-под завалов дома. Клинически выявлены обезвоживание и мышечная слабость. Биохимический анализ крови показал нормальный уровень глюкозы.

- Какой биохимический процесс позволяет поддерживать уровень глюкозы плазмы крови на 4-й день голодания?
- Укажите гормон, активирующий этот процесс в условиях голодания.
- Следует ли вводить данному пациенту инсулин? Какие следует ожидать эффекты от введения инсулина?
- Каким образом оксалоацетат, образующийся из пирувата в митохондриях, попадает в цитоплазму?



Бифункциональный фермент (фосфофруктокиназа-2/фруктозо-2,6-бисфосфатаза) играет ключевую роль в регуляции скорости гликолиза и глюконеогенеза. Активность бифункционального фермента в печени регулируется путём фосфорилирования/дефосфорилирования. Известно, что фосфорилирование аминокислотного остатка Сер-32 увеличивает фосфатазную и снижает киназную активность фермента, а активность протеинкиназы и протеинфосфатазы, фосфорилирующих/дефосфорилирующих остаток Сер-32, регулируется инсулином и глюкагоном.

- А. Предположите, к какому классу по классификации ферментов может относиться бифункциональный фермент.
- Б. Напишите цепочку событий, позволяющих инсулину регулировать скорость гликолиза при участии бифункционального фермента.
- В. Напишите цепочку событий, позволяющих глюкагону регулировать скорость глюконеогенеза при участии бифункционального фермента.



В больницу привезли женщину, 40 лет, в состоянии истощения. 23 дня назад она ушла в лес за грибами и заблудилась. Все эти дни она провела в лесу, питаясь травой и редкими лесными ягодами, потеряла более 15 кг. К моменту обнаружения она не ела уже 2 сут.

- А. За счёт какого биохимического процесса поддерживается уровень глюкозы плазмы крови у женщины в момент обнаружения? Какие гормоны стимулируют этот процесс?
- Б. Опишите механизм регуляции этого процесса при участии бифункционального фермента (фосфофруктокиназы-2/фруктозо-2,6-бисфосфатазы).
- В. Как АТФ регулирует этот процесс? Каков предположительно уровень АТФ в мышечных клетках у женщины?



Пациентка, 40 лет, в течение нескольких лет получает терапию преднизолоном (синтетический аналог кортизола) в высоких дозах по поводу аутоиммунного холангита. Обратилась к врачу с жалобами на увеличение массы тела, полидипсию (постоянную жажду) и полиурию (частые мочеиспускания), сухость во рту. В биохимическом анализе крови натощак — гипергликемия, нарушение глюкозотолерантного теста.

- А. Какой(-ие) процесс(-ы) обмена углеводов регулируется глюкокортикоидами?
- Б. Синтез каких ферментов, вероятно, активирован у пациентки?
- В. Каким, предположительно, может быть уровень АКТГ у пациентки и почему?



Пациентка, 40 лет, обратилась к врачу с жалобами на увеличение массы тела, мышечную слабость, плохое заживление ран, нарушения менструального цикла. При осмотре: лунообразное лицо, багровые стрии на животе, центральный тип ожирения с видными надключичным и надшейными скоплениями жировой ткани («бычий горб»), истончённые пальцы и снижение мышечной силы в конечностях. Биохимический анализ крови: гипергликемия, уровень АКТГ после введения кортикотропин-рилизинг гормона в плазме крови не определяется.

- А. С избытком какого гормона наиболее вероятно связаны симптомы и изменения лабораторных показателей у пациентки?

- Б. С чем связана гипергликемия у пациентки? Синтез каких ферментов углеводного обмена, участвующих в развитии гипергликемии, регулируется при участии этого гормона?
- В. Опишите поэтапно механизм регуляции синтеза перечисленных выше ферментов при участии гормона, синтез которого избыточен.

# 6

**Пентозофосфатный  
путь**

**Пентозофосфатный путь** (гексозомонофосфатный шунт, путь Варбурга–Дикенса–Хорекера\*) — альтернативный наряду с гликолизом путь окисления глюкозы, поставляющий рибозо-5-фосфат для синтеза нуклеотидов и коферментов, а также восстановленный НАДФН. Пентозофосфатный путь — преимущественно анаболический процесс, однако при определённых условиях он позволяет, как и гликолиз, полностью окислять глюкозу до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

---



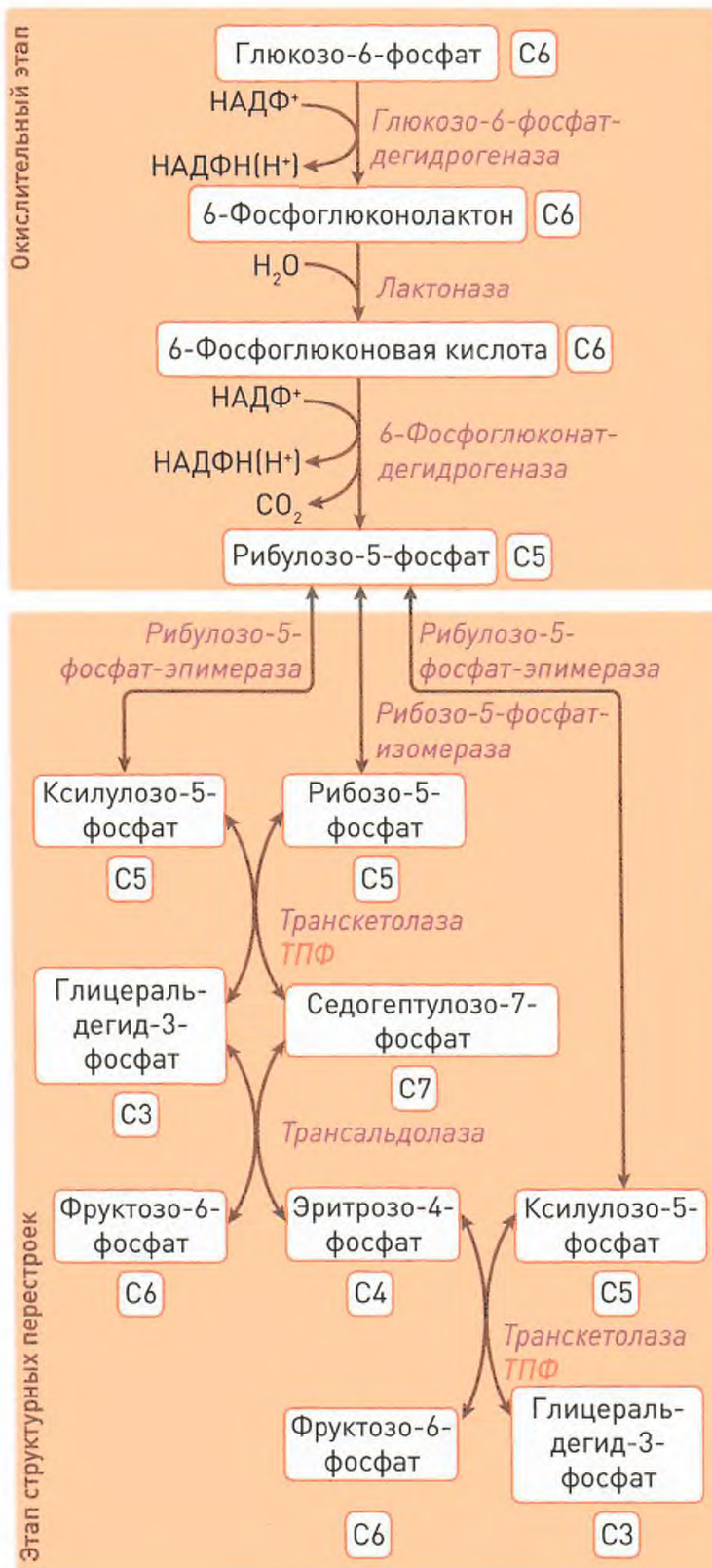
Пентозофосфатный путь — процесс окисления глюкозы, обеспечивающий одновременное образование рибозы и НАДФН

---

В норме доля пентозофосфатного пути в количественном превращении глюкозы обычно невелика и зависит от типа ткани и её функционального состояния. В отличие от гликолиза, основной задачей этого пути окисления глюкозы является не образование энергии, а обеспечение анаболических процессов в клетках. Как АТФ является внутриклеточной «валютой» для получения энергии, так молекулы НАДФН являются «валютой» для активации процессов восстановления окисленных метаболитов и гидроксирования. Хотя НАДФН образуется и при окислении малата до пирувата и  $\text{CO}_2$ , а также при дегидрировании изоцитрата, в большинстве случаев потребности клеток в НАДФН удовлетворяются именно за счёт пентозофосфатного пути.

---

\* Впервые открыт в 1930-х годах Отто Варбугом, обнаружившим, что при окислении глюкозы может образовываться НАДФН. Полная картина пентозофосфатного пути была описана Фрэнком Дикенсом, Бернардом Хорекером, Фритцем Липманном и Эфраимом Ракером в 1950-х годах.



Активность пентозофосфатного пути довольно высока у новорождённых и детей первых лет жизни. У взрослых наиболее активно реакции пентозофосфатного пути идут в молочной железе при лактации, в клетках печени, жировой ткани, семенниках, эритроцитах, коре надпочечников. В этих тканях и органах активно протекают реакции гидроксирования и восстановления, например при синтезе ВЖК, холестерина, обезвреживании ксенобиотиков в печени и АФК в эритроцитах и других тканях, поэтому в них велика потребность в НАДФН. Так, в гепатоцитах примерно 30% глюкозы окисляется при участии ферментов пентозофосфатного пути. В активно делящихся клетках НАДФН необходим для синтеза дезоксирибонуклеотидов.

В эритроцитах пентозофосфатный путь служит единственным источником НАДФН и, следовательно, источником восстановленного глутатиона\*. Активность пентозофосфатного пути через уровень НАДФН регулирует ёмкость антиокси-

\* Глутатион — трипептид,  $\gamma$ -глутамилцистеинилглицин, выполняет в клетке антиоксидантную функцию, защищая её от действия свободных радикалов. Он способен восстанавливать дисульфидные связи между остатками цистеина, при этом восстановленная форма глутатиона GSH превращается в окисленную GSSG. Характер снижения соотношения GSH/GSSG показывает уровень окислительного стресса в клетке. Восстанавливается окисленный глутатион под действием НАДФН-зависимой глутатионредуктазы.

дантной системы клетки. Нарушения в пентозофосфатном пути существенно повышают риск повреждения эритроцитов свободными радикалами, которые в норме обезвреживаются восстановленным глутатионом.

Высокая активность ферментов пентозофосфатного пути характерна для нейтрофилов и макрофагов. Эти клетки участвуют в процессе фагоцитоза и используют НАДФН для получения супероксид-радикалов из молекулярного  $O_2$  при участии НАДФН-оксидазы. Супероксид-анион, в свою очередь, необходим для генерации других активных форм кислорода внутри макрофагов, которые используются для уничтожения фагоцитированных микроорганизмов. Этот процесс носит название *окислительного (респираторного) взрыва*.

Рибозо-5-фосфат, образующийся в пентозофосфатном пути, служит предшественником 5-фосфорибозил-1-пирофосфата, который участвует в биосинтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот, а также гистидина. Другой промежуточный продукт пентозофосфатного пути, эритрозо-4-фосфат, конденсируясь с фосфоенолпируватом, даёт начало общей части пути биосинтеза триптофана.



Пентозы используются для синтеза нуклеотидов и соответственно нуклеиновых кислот

Помимо образования пентоз и НАДФН, пентозофосфатный путь позволяет использовать в гликолизе рибозу, полученную с пищей. Рибозо-5-фосфат, образующийся при катаболизме нуклеотидов, с помощью реакций второго этапа способен превратиться в фруктозо-6-фосфат и затем окислиться с получением энергии.

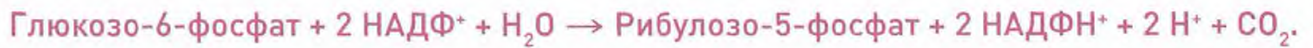


Все реакции пентозофосфатного пути протекают в цитоплазме. Реакции окислительного этапа необратимы, реакции этапа структурных перестроек обратимы

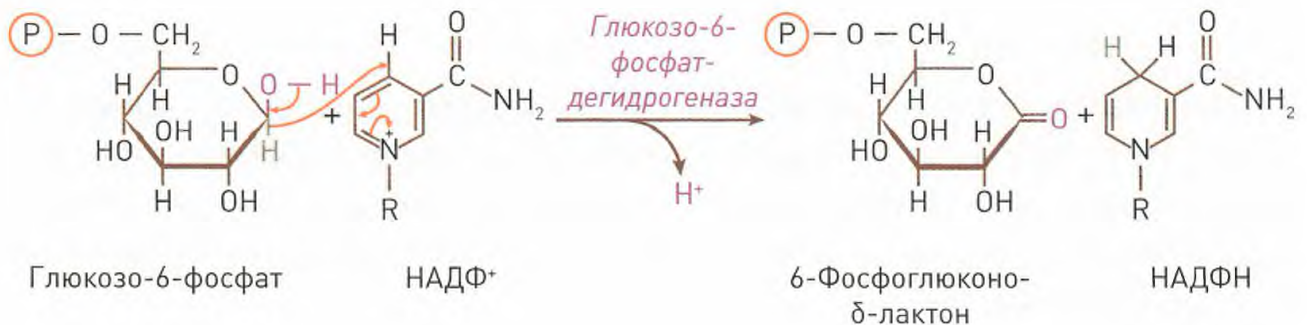
Пентозофосфатный путь включает два этапа — окислительный и этап структурных перестроек (неокислительный). В ходе окислительного этапа глюкозо-6-фосфат окисляется до рибулозо-5-фосфата, и при этом образуется два восстановленных НАДФН. Неокислительный этап необходим для синтеза пентоз и включает обратимые реакции переноса двух- или трёхуглеродных фрагментов. Все реакции пентозофосфатного пути протекают в цитоплазме.

## Окислительный этап

На первом, окислительном этапе глюкозо-6-фосфат превращается в рибулозо-5-фосфат, реакции сопровождаются восстановлением двух молекул НАДФ<sup>+</sup> до НАДФН. На первом этапе пентозофосфатного пути участвуют три фермента: две дегидрогеназы (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и 6-фосфоглюконатгидрогеназа), а также гидролаза 6-фосфоглюконолактоназа. Суммарное уравнение окислительного этапа выглядит следующим образом.



Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.49) — фермент, кодируемый геном *G6PD*, катализирует скорость-лимитирующую реакцию пентозофосфатного пути — реакцию превращения D-глюкозо-6-фосфата в циклический эфир 6-фосфо-D-глюконо-δ-лактон при участии НАДФ<sup>+</sup>. Гидроксильная группа при С<sub>1</sub> глюкозо-6-фосфата превращается в карбонильную, образуя лактон, высвобождающийся при этом Н<sup>+</sup> позволяет восстанавливать НАДФ<sup>+</sup> до НАДФН.



Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа активна в виде гомодимера. В зависимости от условий среды димеры могут объединяться в тетрамеры, которые также обладают ферментативной активностью. Большинство мутаций в гене *G6PD*, приводящих к клинической картине гемолитической анемии, связаны с нарушением образования четвертичной структуры и увеличением числа мономеров, не объединённых в димеры или тетрамеры и не способных катализировать реакцию.

### **Врождённый дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы**

Врождённый дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы — широко распространённое X-сцепленное наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена *G6PD*, повышающее предрасположенность эритроцитов к гемолизу. Мутации встречаются с частотой примерно 1:100 новорождённых, наибольшее распространение отмечается в странах тропической Африки, Юго-Восточной Азии, Средиземноморья и Ближнего Востока (распространённость 1:60 новорождённых, в некоторых популяциях, например, среди курдских евреев — у каждого второго мужчины)\*. С дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в мире живут примерно 400 млн человек. Как правило, болеют мужчины\*\*.

Заболевание обычно протекает бессимптомно, но под действием определённых триггеров проявляется гемолитической анемией (желтуха, потемнение мочи, слабость). Гемолитические кризы провоцируются инфекционными заболеваниями, приёмом ряда лекарственных препаратов, употреблением в пищу бобов (*Vicia faba*)\*\*\*, диабетическим кетоацидозом, контактом с нафталином или хной. Из лекарственных препаратов наиболее опасен приём:

- ✦ противомаларийных препаратов — производных 4-аминохинолина (хлорохин, гидроксихлорохин и др.);
- ✦ антибактериальных препаратов из группы сульфаниламидов;
- ✦ некоторых несульфаниламидных антибактериальных препаратов (изониазид, фуразолидон).

Все перечисленные выше триггеры увеличивают содержание в эритроцитах активных форм кислорода, усугубляя окислительный стресс. Даже в нормальном эритроците к концу жизни активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы снижается примерно наполовину. В эритроцитах, содер-

\* По распространённости врождённых нарушений метаболизма дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы стоит на втором месте после дефекта ацетальдегиддегидрогеназы (мутации в гене *ALDH2*).

\*\* У женщин встречается мягкая форма заболевания, связанная с инактивацией нормальной X-хромосомы в части клеток (англ. *lionization*). В случае дефекта гена обеих X-хромосом развивается хроническая гранулёматозная болезнь, которая проявляется нарушениями фагоцитоза вследствие дефицита НАДФН.

\*\*\* Фавизм — непереносимость бобовых, употребление в пищу которых провоцирует гемолитический криз. Бобы (плоды *Vicia faba*) содержат пиримидиновый гликозид вицин, который выступает прооксидантом, способствуя генерации активных форм кислорода. Все пациенты с фавизмом имеют мутации в гене глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, но не все пациенты с дефицитом фермента имеют непереносимость бобов. Бобы входят в состав многочисленных блюд (фалафеля, содержащих мясо полуфабрикатов — фрикаделек и котлет). Поскольку дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы не является аллергической реакцией, а бобы не являются типичными аллергенами, законодательства большинства стран не требуют специальной маркировки для продуктов с их содержанием.

жащих дефектный фермент, активность снижается значительно быстрее, чем в здоровых, и оказывается недостаточной в случае интенсивного образования активных форм кислорода под действием триггеров. При этом вследствие дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и, следовательно, НАДФН антиоксидантная система эритроцитов испытывает дефицит восстановленного глутатиона (GSH). При исчерпании резервов последнего белки эритроцита, в том числе гемоглобин, а также мембраны подвергаются атаке свободными радикалами, что приводит к снижению растворимости белков, нарушению целостности мембран и гибели клетки\*. Восстановленный глутатион в эритроците поддерживает сульфгидрильные группы гемоглобина в восстановленной форме. При дефиците восстановленного глутатиона молекулы гемоглобина связываются друг с другом дисульфидными связями и формируют агрегаты. Эритроциты с повреждённым гемоглобином фагоцитируются и разрушаются в селезёнке, а высвобождающийся в этом процессе гем метаболизируется до билирубина.

Непосредственно после рождения дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы может проявляться длительной неонатальной желтухой, которая в ряде случаев бывает выраженной (ядерная желтуха) и сопровождается нейротоксичностью. Тяжесть клинических проявлений у взрослых существенно варьирует. Гемолитический криз обычно развивается в течение нескольких часов с момента начала действия окислителя, обычно происходит разрушение только старых эритроцитов с наименьшей активностью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, более молодые остаются жизнеспособными. В тяжёлых случаях гемолиза может развиваться острая почечная недостаточность. В зависимости от степени снижения активности ВОЗ выделяет пять классов врождённого дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы:

- ✦ тяжёлая недостаточность, сопровождающаяся хронической несфероцитарной гемолитической анемией;
- ✦ тяжёлая недостаточность (<10% исходной активности) с эпизодами гемолиза (гемолитическими кризами);
- ✦ недостаточность средней степени (сохраняется 10–60% активности), эпизоды гемолиза развиваются только в ответ на провоцирующие факторы;
- ✦ мутации в гене, не приводящие к снижению активности фермента, без клинических проявлений;
- ✦ мутации в гене, повышающие активность фермента, без клинических проявлений.

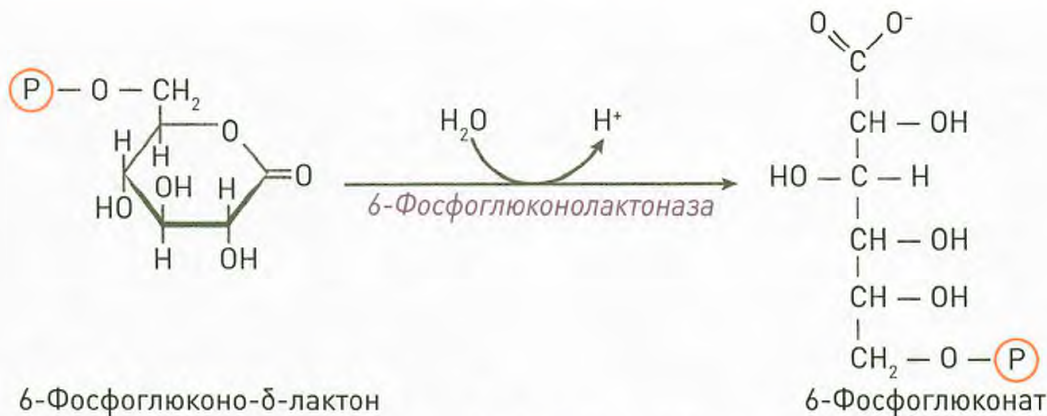
\* Поскольку эритроциты не имеют ядра и белок-синтетического аппарата, они не могут синтезировать новые молекулы фермента и также не могут синтезировать новые компоненты клеточных мембран.

Для общего анализа крови характерен ретикулоцитоз, который отражает активацию процесса образования новых эритроцитов; вследствие гемолиза в плазме крови повышается активность лактатдегидрогеназы. В эритроцитах вследствие недостаточности НАДФН-зависимой метгемоглобинредуктазы и глутатионовой антиоксидантной системы может увеличиваться содержание метгемоглобина. В мазке крови при прижизненном окрашивании видны эритроциты с включениями денатурированного гемоглобина в виде преципитатов — тельца Хайнца. Преципитаты удаляются из эритроцита вместе с небольшим участком клеточной мембраны, вследствие чего полуразрушенные эритроциты имеют «надкусанный» вид. Для подтверждения диагноза используют тест Бейтлера, который позволяет при помощи ультрафиолета определить продукцию НАДФН при участии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Для исключения ложноотрицательных результатов тест проводят спустя 2–3 нед после гемолитического криза. Дифференциальную диагностику проводят с дефицитом 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, который имеет похожие симптомы.

Пациенты с дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы менее восприимчивы к инфекции, вызванной возбудителем малярии *Plasmodium falciparum*. Во-первых, поражённые плазмодием эритроциты погибают и изымаются из кровотока селезёнкой быстрее, чем плазмодий успевают размножиться, а во-вторых, *Plasmodium falciparum* очень чувствителен к повреждению активными формами кислорода. Как следствие, в регионах, где малярия традиционно часто встречается, широко распространены генотипы с мутацией в гене *G6PD*, которую в данном случае можно считать эволюционным преимуществом.

Лечение гемолитических кризов симптоматическое: терапия инфекции, прекращение приёма лекарственных препаратов, спровоцировавших криз, в тяжёлых случаях анемии — переливание крови, при острой почечной недостаточности — гемодиализ. В периоды между кризами пациент должен избегать воздействия триггеров: не употреблять в пищу продукты, а также не использовать лекарственные препараты, способные спровоцировать криз.

6-Фосфоглюконолактоназа (КФ 3.1.1.31) катализирует гидролиз  $\delta$ -изомера 6-фосфоглюконолактона до 6-фосфоглюконата. Эта реакция протекает в клетке и в отсутствие фермента, однако гораздо медленнее. 6-Фосфоглюконолактоназа ускоряет реакцию, препятствуя спонтанной изомеризации 6-фосфо-D-глюконо- $\delta$ -лактона в 6-фосфо-D-глюконо- $\gamma$ -лактон, который, в свою очередь, не может использоваться в дальнейших метаболических превращениях.



6-Фосфоглюконатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.44) катализирует реакцию, которая включает два последовательных превращения:

- 6-фосфоглюконат окисляется в нестабильный 3-кето-6-фосфоглюконат, с одновременным восстановлением НАДФ<sup>+</sup> в НАДФН(H<sup>+</sup>);
- 3-кето-6-фосфоглюконат быстро и необратимо декарбоксилируется с образованием рибулозо-5-фосфата и высвобождением CO<sub>2</sub>.

По механизму катализа 6-фосфоглюконатдегидрогеназа похожа на фермент ЦТК изоцитратдегидрогеназу.

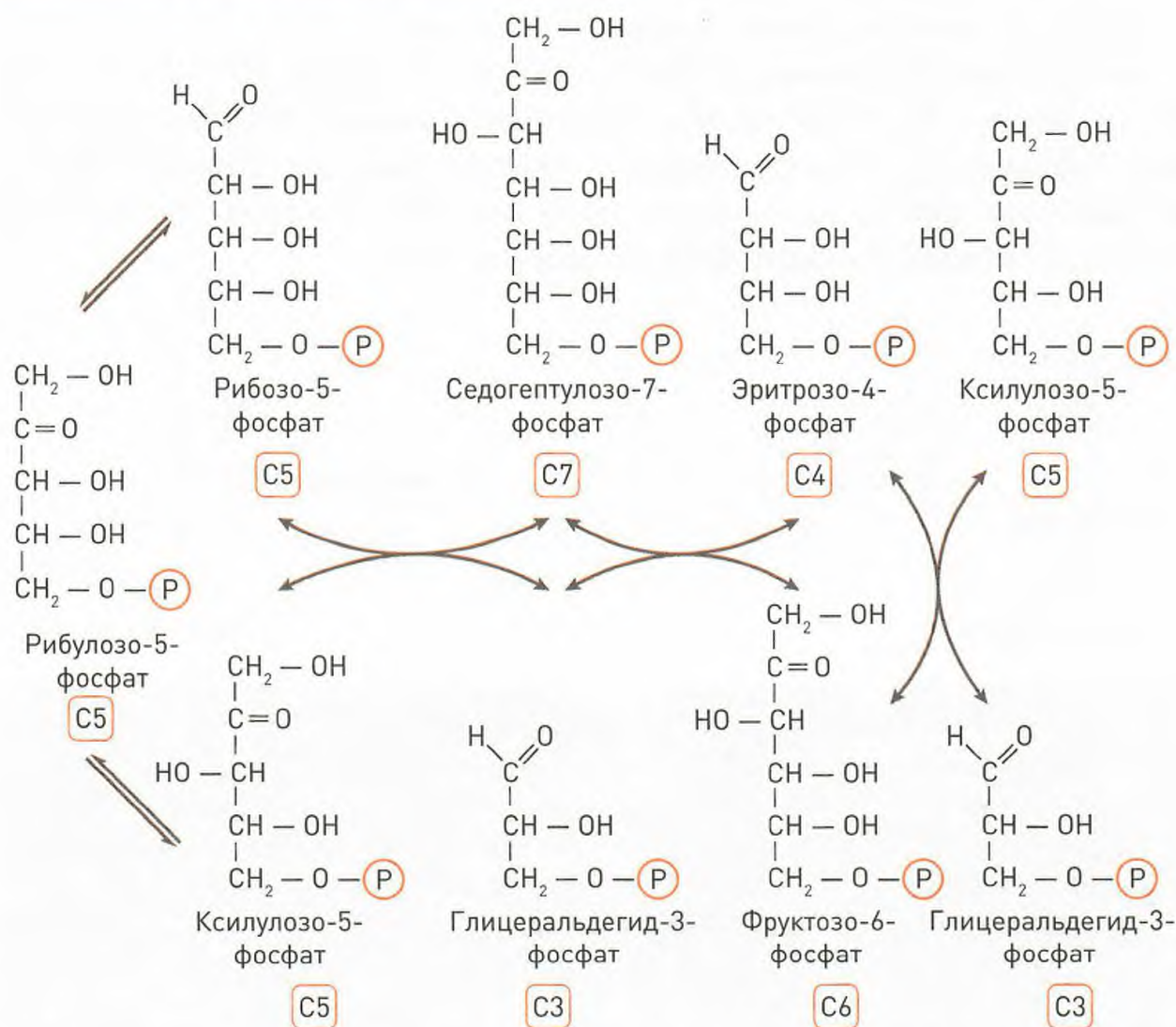


### Врождённый дефицит 6-фосфоглюконатдегидрогеназы

Врождённый дефицит 6-фосфоглюконатдегидрогеназы — наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Как и дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, может длительное время протекать бессимптомно, и иногда сопровождается гемолитическими кризами. Возможна выраженная желтуха новорождённых или обострение гемолитической анемии разной степени выраженности на фоне инфекционных заболеваний, приёма определённых лекарственных средств. В редких случаях тяжёлого гемолиза — острая почечная недостаточность. Лечение симптоматическое, как при дефиците глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Таким образом, в результате окислительного этапа пентозофосфатного пути из одной молекулы глюкозо-6-фосфата образуется одна молекула рибулозо-5-фосфата и восстанавливаются две молекулы НАДФ<sup>+</sup>.

## Этап структурных перестроек



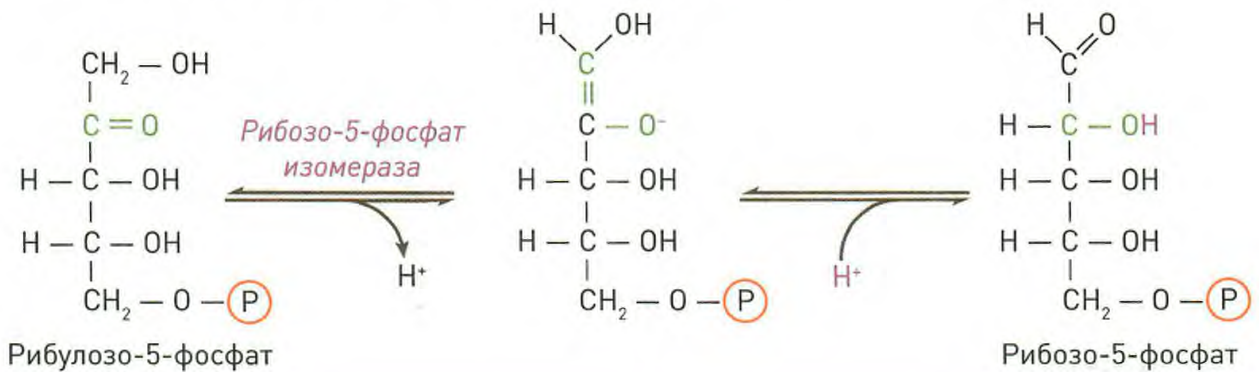
В реакциях второго этапа пентозофосфатного пути рибулозо-5-фосфат изомеризуется до рибозо-5-фосфата и ксилулозо-5-фосфата. Затем под влиянием транскетолазы и трансальдолазы происходят структурные перестройки, в результате пентозы превращаются во фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат, которые, в свою очередь, возвращаются в реакции гликолиза. Именно поэтому пентозофосфатный путь иногда называют шунтом, то есть рассматривают как обходной путь окисления глюкозы. На этом этапе в пентозофосфатном пути участвуют четыре фермента:

- рибозо-5-фосфатизомераза и рибулозо-5-фосфатэпимераза (катализируют реакции изомеризации, обе реакции протекают с образованием ендиольного промежуточного продукта\*);

\* Ендиол — спирт, содержащий две или более -ОН-группы, атомы углерода у которых связаны двойной связью C=C.

- транскетолаза и трансальдолаза (катализируют реакции межмолекулярных перестроек, транскетолаза переносит двухуглеродные фрагменты, а трансальдолаза — трёхуглеродные).

*Рибозо-5-фосфатизомераза* (фосфопентозоизомераза, КФ 5.3.1.6), кодируется геном *RpiA*, катализирует обратимую реакцию превращения рибулозо-5-фосфата в рибозо-5-фосфат. Продукт реакции, рибозо-5-фосфат используется для синтеза нуклеотидов (и, следовательно, нуклеиновых кислот), а также АТФ, НАДН, ФАД и кофермента А.

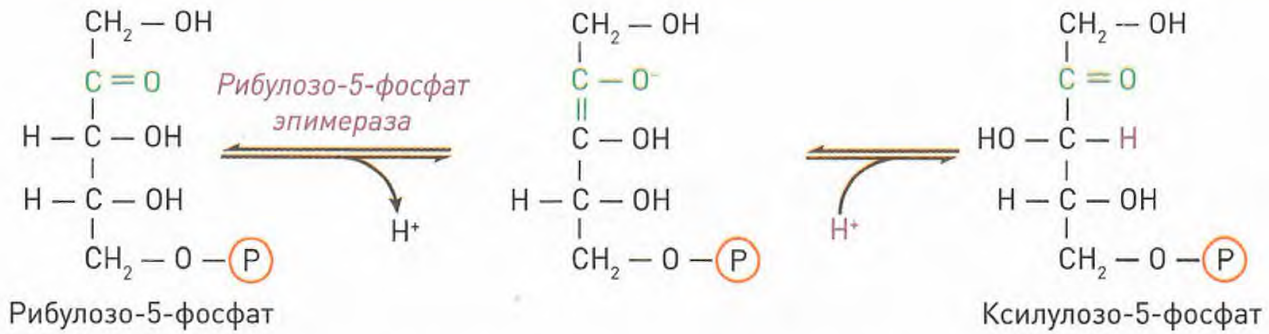


### Врождённый дефицит рибозо-5-фосфатизомеразы

Врождённый дефицит рибозо-5-фосфатизомеразы — наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Описано всего несколько случаев, клинические проявления включали в основном неврологические нарушения: атрофию зрительного нерва, нистагм, мозжечковую атаксию, припадки, задержку психомоторного развития и лейкоэнцефалопатию. Заболевание сопровождается накоплением D-рибитола и D-арабитола.

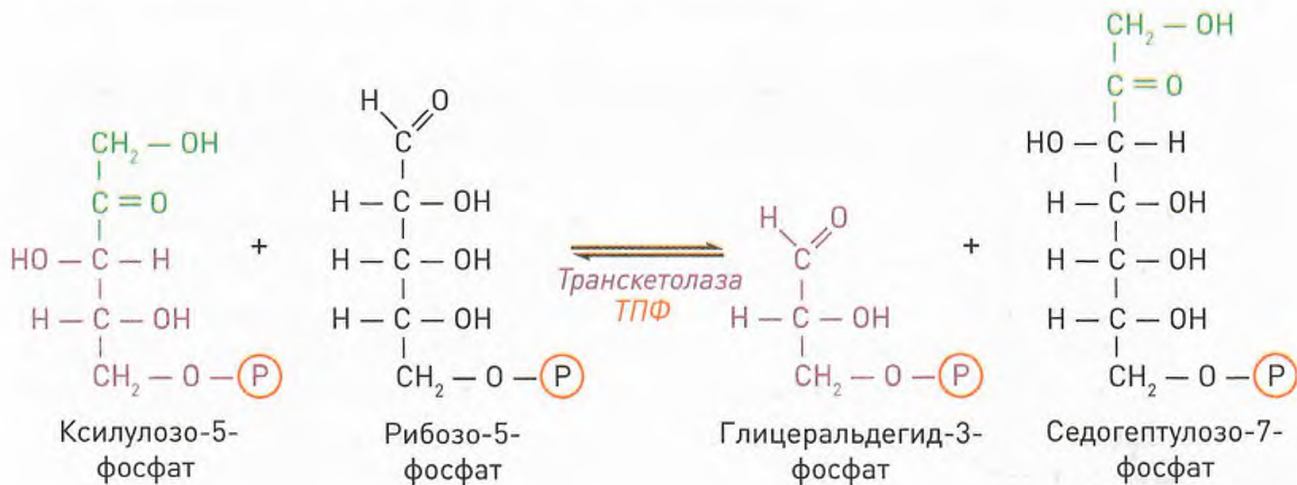
Гиперэкспрессия гена рибозо-5-фосфатизомеразы (*RpiA*) отмечается в клетках гепатоцеллюлярной карциномы, а уровень экспрессии коррелирует со стадией заболевания, размером опухоли и уровнем других маркёров опухолевой прогрессии, в частности  $\alpha$ -фетопротеина.

*Рибулозо-5-фосфат-3-эпимераза* (КФ 5.1.3.1) кодируется геном *RPE*, превращает D-рибулозо-5-фосфат в D-ксилулозо-5-фосфат. Реакция обратимая, требует участия кофакторов — ионов  $\text{Fe}^{2+}$ , реже  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  или  $\text{Mn}^{2+}$ . Эта реакция необходима, чтобы из рибулозы получить пентозу, которая может быть субстратом транскетолазы (ксилулозо-5-фосфат).



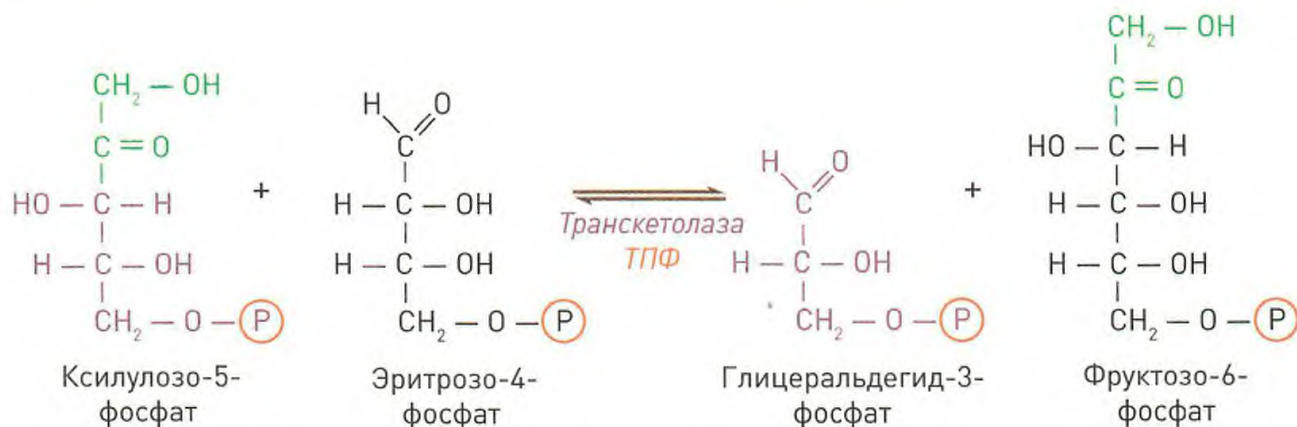
Транскетолаза (КФ 2.2.1.1) кодируется геном *ТКТ*, переносит двухуглеродные фрагменты с кетозы на альдозу. Транскетолаза высокоомологична ферменту E1 пируватдегидрогеназного комплекса ферментов (пируватдегидрогеназе) и имеет схожий механизм катализа: для переноса двухуглеродных фрагментов используется тиазольное кольцо кофермента ТПФ с образованием карбаниона. Реакция требует участия ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . В пентозофосфатном пути транскетолаза катализирует две реакции.

Первая реакция, катализируемая транскетолазой, переносит двухуглеродный фрагмент с кетозы ксилулозо-5-фосфата (5C)\* на альдозу рибозо-5-фосфат (5C) с образованием кетозы седогептулозо-7-фосфата (7C) и альдозы глицеральдегид-3-фосфата (3C).



Вторая реакция, катализируемая транскетолазой, включает перенос двухуглеродного фрагмента с кетозы ксилулозо-5-фосфата (5C) на альдозу эритрозо-4-фосфат (4C) с образованием фруктозо-6-фосфата (6C) и глицеральдегид-3-фосфата (3C).

\* Здесь и далее в скобках указано количество атомов углерода в молекуле.



Транскетолаза, таким образом, объединяет пентозофосфатный путь и гликолиз, «возвращая» в гликолиз пентозы, неизрасходованные для анаболических процессов. Поскольку реакции, катализируемые транскетолазой, обратимы, метаболиты гликолиза также могут в них вступать с образованием пентоз. Глицеральдегид-3-фосфат в зависимости от условий может:

- «уходить» в гликолиз и затем окисляться до  $\text{CO}_2$  с целью получения энергии;
- через диоксиацетонфосфат восстанавливаться до глицерол-3-фосфата и расходоваться для синтеза глицерола и ТАГ;
- служить субстратом для синтеза глюкозы в процессе глюконеогенеза.

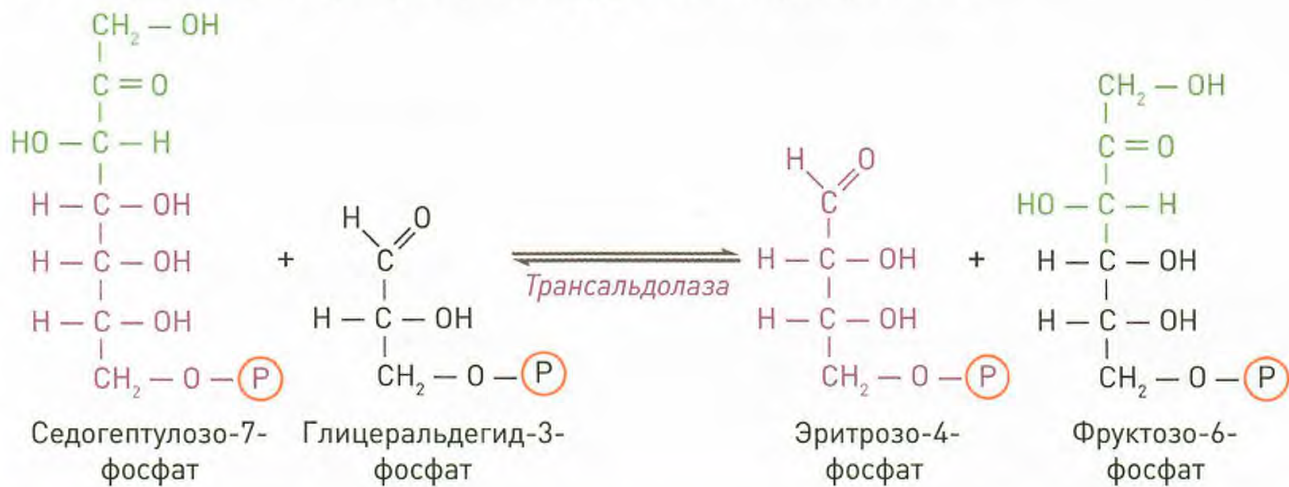


Транскетолаза активно экспрессируется клетками роговицы и является одним из белков, обеспечивающих её прозрачность. Активность транскетолазы снижается при дефиците тиамин (витамин  $\text{B}_1$ ), что может быть использовано для диагностики энцефалопатии Вернике-Корсакова и других заболеваний, обусловленных дефицитом тиамин. Мутации в гене транскетолазы, приводящие к образованию фермента со сниженным сродством к ТПФ (<10% нормальной активности), делают организм человека более чувствительным к нехватке тиамин в пище. Даже при умеренном недостатке ТПФ у таких пациентов пентозофосфатный путь значительно замедляется.

Трансальдолаза (КФ 2.2.1.2) кодируется геном *TALDO1*, катализирует реакцию переноса трёхуглеродного фрагмента с кетозы на альдозу. В отличие от транскетолазы, не требует наличия кофермента. Трёхуглеродный фрагмент переносится при помощи  $\xi$ -аминогруппы лизина активного центра фермента, которая образует связь по типу шиффова основания\* с карбо-

\* Шиффовы основания — соединения с общей формулой  $\text{R}_2\text{C}=\text{NR}$ , имеют двойную связь между атомами  $\text{C}$  и  $\text{N}$ . Они могут рассматриваться как подкласс иминов, сформированных путём конденсации альдегида или кетона с амином.

нильной группой кетозы (седогептулозо-7-фосфата). Механизм катализа схож с ферментом гликолиза альдолазой (фруктозо-1,6-бисфосфат альдолазой). В пентозофосфатном пути трансальдолаза катализирует реакцию превращения седогептулозо-7-фосфата (7С) и глицеральдегид-3-фосфата (3С) в эритрозо-4-фосфат (4С) и фруктозо-6-фосфат (6С).



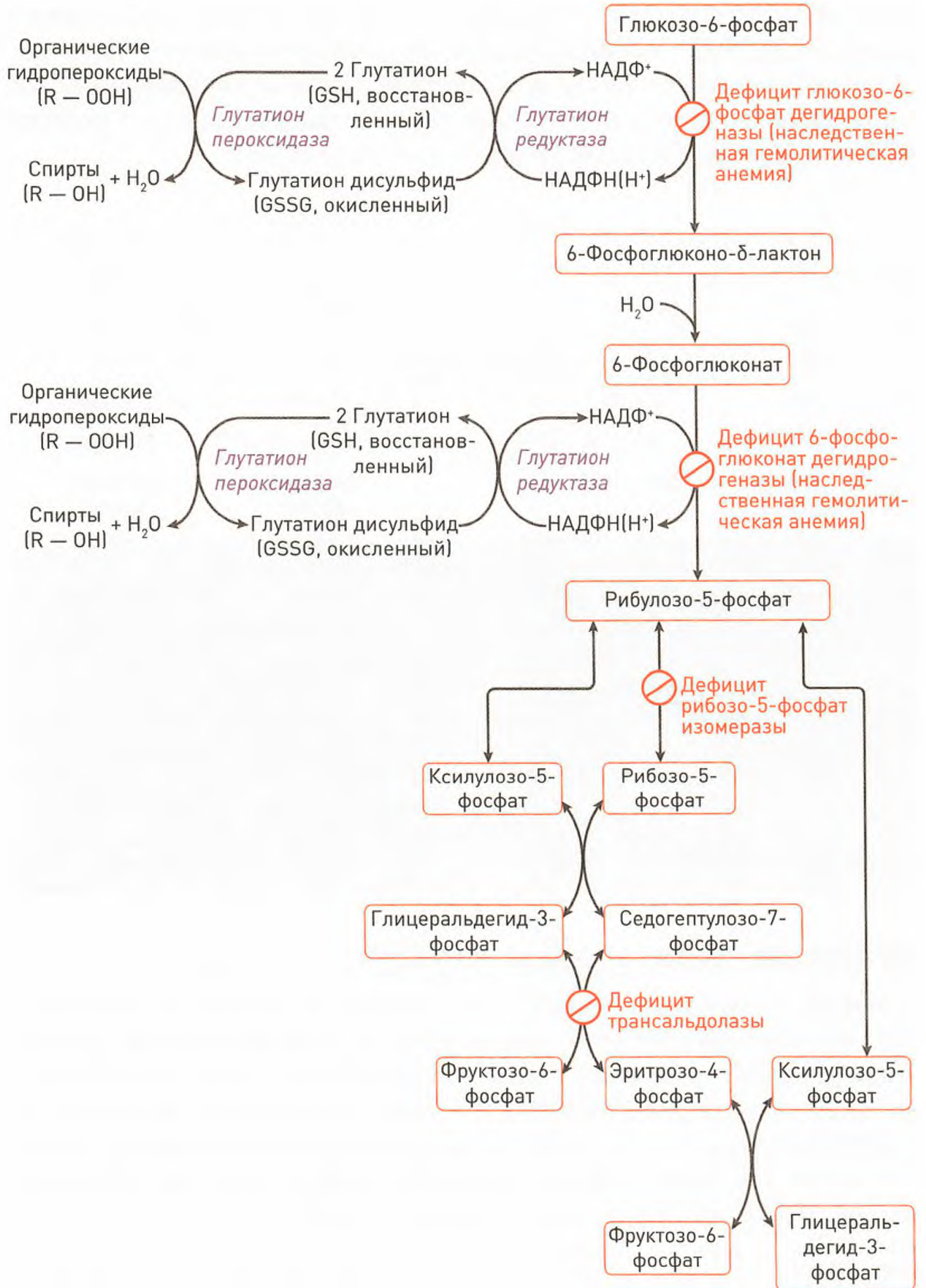
### Врождённый дефицит трансальдолазы

Врождённый дефицит трансальдолазы — наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Описаны всего несколько случаев. У пациентов с дефицитом трансальдолазы накапливаются спирты эритритол, арабитол и рибитол, избыток которых выделяется с мочой. В плазме крови увеличена концентрация седогептулозо-7-фосфата. Среди клинических проявлений преобладают коагулопатии, тромбоцитопения, гепатоспленомегалия, фиброз печени. Варианты дисморфизма включают антимонголоидный разрез глаз\*, низко посаженные уши, синдром вялой кожи (*cutis laxa*). У мужчин снижена подвижность сперматозоидов и соответственно фертильность.

## Регуляция пентозофосфатного пути

Выбор клеткой пути метаболизма глюкозо-6-фосфата — гликолиза или пентозофосфатного пути определяется её нуждами и концентрацией НАДФ<sup>+</sup> в конкретный момент времени. В цитоплазме клеток в норме молекул НАДФ<sup>+</sup> примерно в 100–1000 раз больше, чем НАДФН. Преобладание НАДФ<sup>+</sup> обеспечивает преимущественное протекание процессов окисления, в то время как увеличение концентрации НАДФН важно для активации восстановительных процессов в делящихся клетках.

\* Глазные щели скошены латерально вниз (в отличие от скошенности латерально вверх у представителей монголоидной расы).



Интенсивность пентозофосфатного пути регулируется на окислительном этапе: реакция, катализируемая глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой, является фактически необратимой ( $\Delta G'^{\circ} = -17,6$  кДж/моль). НАДФН конкурирует с НАДФ<sup>+</sup> за связывание с ферментом и тем самым ингибирует его. Это позволяет запускать реакции пентозофосфатного пути, и, следовательно, синтез НАДФН, только когда потребность в нём у клетки высока. Активное использование НАДФН для синтеза, например, ВЖК существенно увеличивает уровень НАДФ<sup>+</sup>, что приводит к активации глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, которая стремится восстановить равновесие. Когда потребление НАДФН снижается, избыток НАДФН ингибирует глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, пентозофосфатный путь приостанавливается и глюкозо-6-фосфат вовлекается в гликолиз.

Инсулин повышает активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа также стимулируется субстратом — глюкозо-6-фосфатом. Ацетилирование остатка Лиз-403 приводит к невозможности димеризации мономеров фермента и потере активности. Транскрипция глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы может активироваться под действием транскрипционного фактора HIF-1.

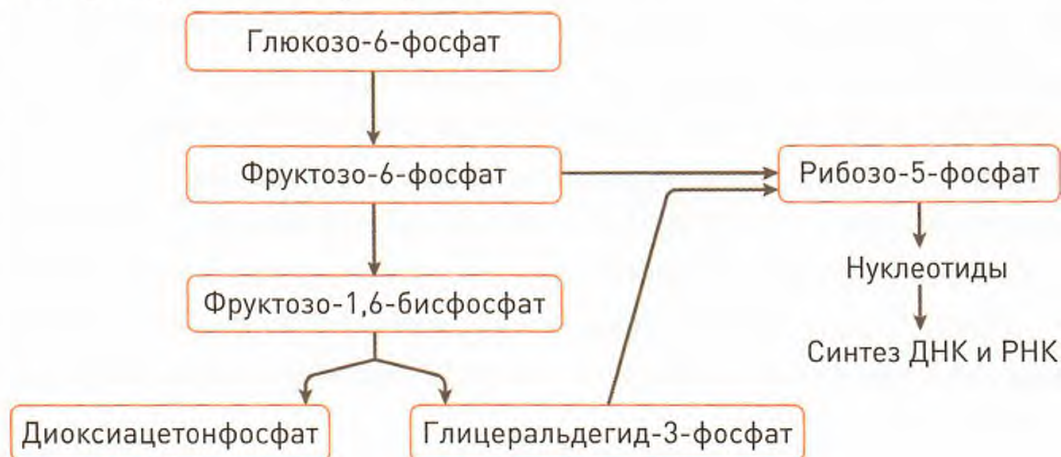
Скорость реакций второго этапа пентозофосфатного пути — этапа структурных перестроек регулируется доступностью субстратов.

### **Активность пентозофосфатного пути в разных клетках**

Метаболизм глюкозо-6-фосфата в пентозофосфатном пути может существенно различаться. Судьба метаболитов пентозофосфатного пути зависит от типа клетки и её потребностей. Реакции окислительного этапа протекают только в том случае, если восстановленный НАДФН расходуется клеткой, то есть переходит в исходное окисленное состояние (НАДФ<sup>+</sup>). Если же потребность в НАДФН у клетки незначительна, то рибозо-5-фосфат образуется в результате обратимых реакций неокислительного этапа пентозофосфатного пути, где исходными субстратами служат метаболиты гликолиза — глицеральдегид-3-фосфат и фруктозо-6-фосфат.

Быстро делящиеся клетки, находящиеся в S-фазе клеточного цикла, нуждаются в большом количестве рибозо-5-фосфата, который они расходуют на синтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот, а также АТФ, НАДН, ФАДН<sub>2</sub> и кофермента А. К таким клеткам относятся клетки костного мозга, эпителия ЖКТ и часть популяции опухолевых клеток. Дефицита НАДФН они могут и не испытывать. В этих клетках глюкозо-6-фосфат превращается во фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат при помощи фермен-

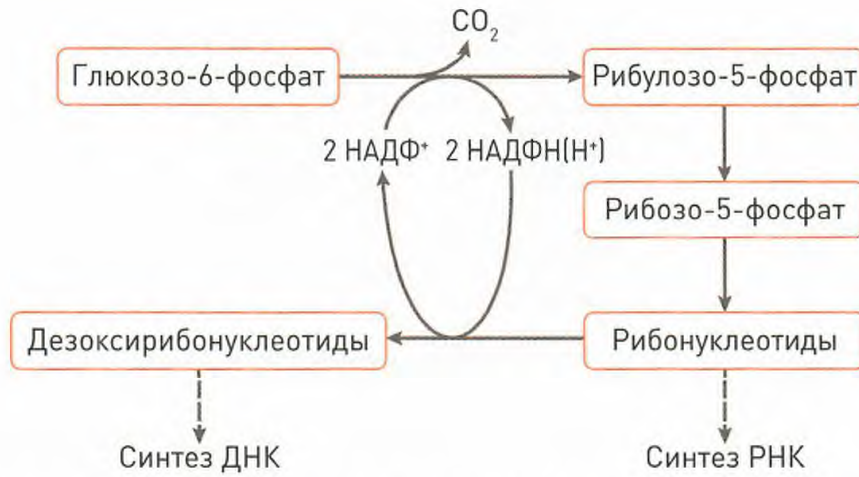
тов гликолиза. Затем транскетолаза и трансальдолаза превращают две молекулы фруктозо-6-фосфата и одну молекулу глицеральдегид-3-фосфата в три молекулы рибозо-5-фосфата.



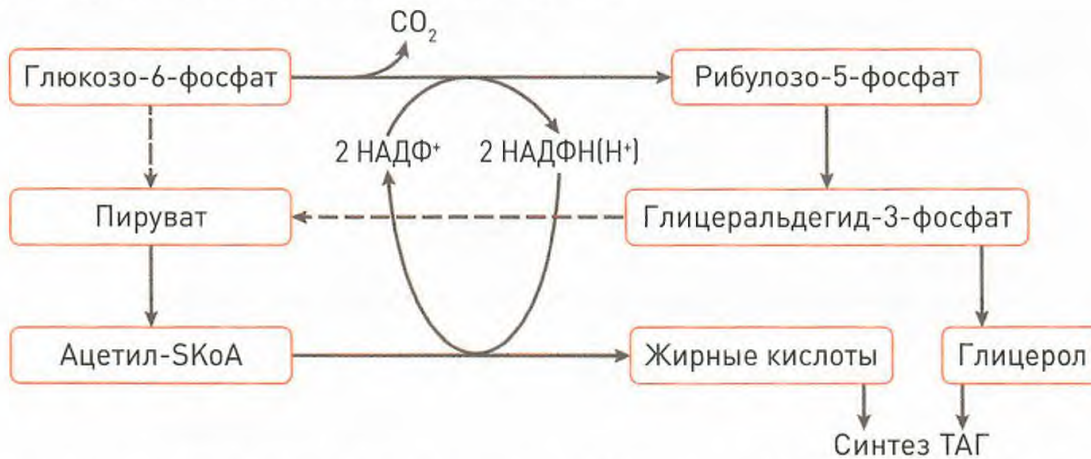
В быстроделющихся опухолевых клетках и НАДФН, и рибозо-5-фосфат требуются для участия в анаболических процессах. Одновременно с этим опухолевая клетка активирует гликолиз для восполнения запасов АТФ. Для перенаправления метаболитов гликолиза в реакции пентозофосфатного пути опухолевые клетки используют изофермент пируваткиназы РКМ. РКМ имеет относительно низкую каталитическую активность, создавая «бутылочное горлышко» в гликолизе и накапливая фосфоенолпируват. Избыток фосфоенолпирувата ингибирует триозофосфатизомеразу, в результате чего глицеральдегид-3-фосфат перенаправляется на синтез рибозо-5-фосфата. Методом масс-спектрометрии меченной  $^{13}\text{C}$  глюкозы ( $\text{C}_1$  и  $\text{C}_2$ ) было показано, что примерно 70% рибоз, которые впоследствии были включены в состав РНК, опухолевые клетки получают через обратные реакции второго этапа пентозофосфатного пути при участии транскетолазы и трансальдолазы.

В реальных условиях организма если клетка растёт и делится, то ей необходимы и НАДФН, и рибозо-5-фосфат. В этом случае второй (неокислительный) этап идти не будет, весь образованный на первом этапе рибозо-5-фосфат превратится в рибозо-5-фосфат. Последний далее фосфорилируется в фосфорибозилдифосфат и используется для синтеза нуклеотидов. НАДФН будет расходоваться на синтез дезоксирибонуклеотидов\*. Таким образом, при окислении одной молекулы глюкозо-6-фосфата образуются одна молекула рибозо-5-фосфата и две молекулы НАДФН.

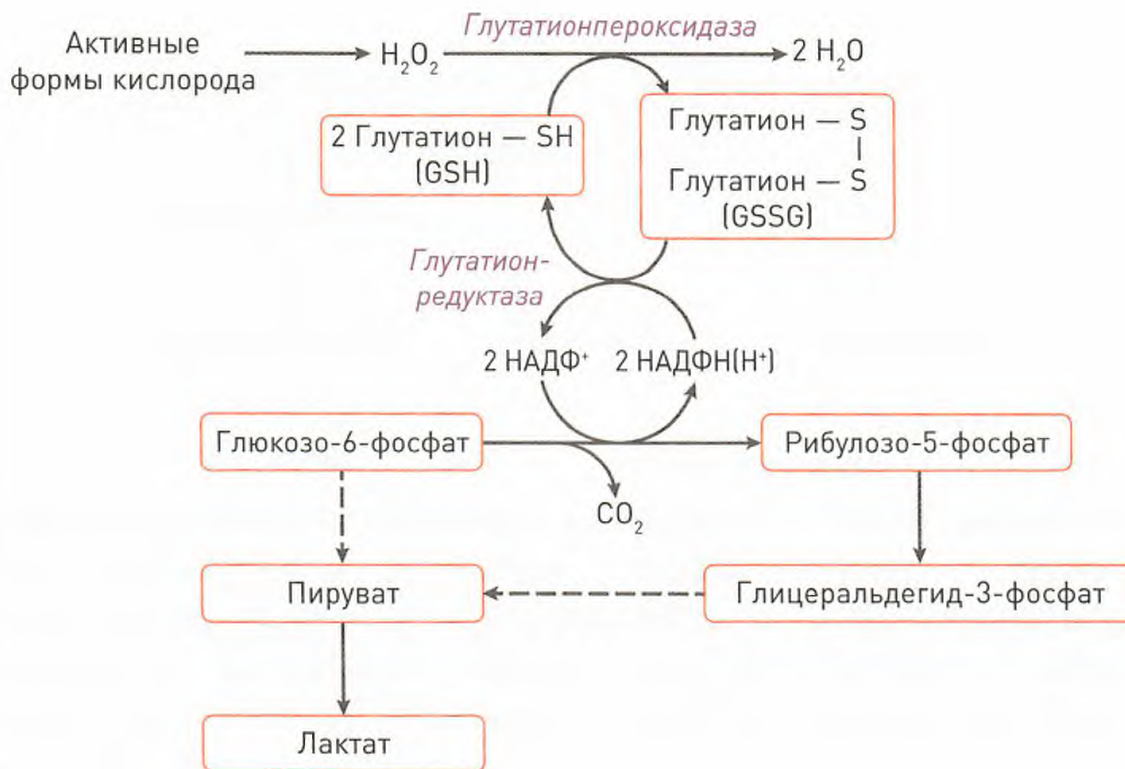
\* Дезоксирибонуклеотиды (дАДФ, дГДФ, дЦДФ, дУДФ) синтезируются из рибонуклеотидов (АДФ, ГДФ, ЦДФ, УДФ) при участии рибонуклеотидредуктазы. Для работы рибонуклеотидредуктазы требуется восстановленный тиоредоксин, который регенерирует при участии НАДФН в реакции, катализируемой тиоредоксинредуктазой.



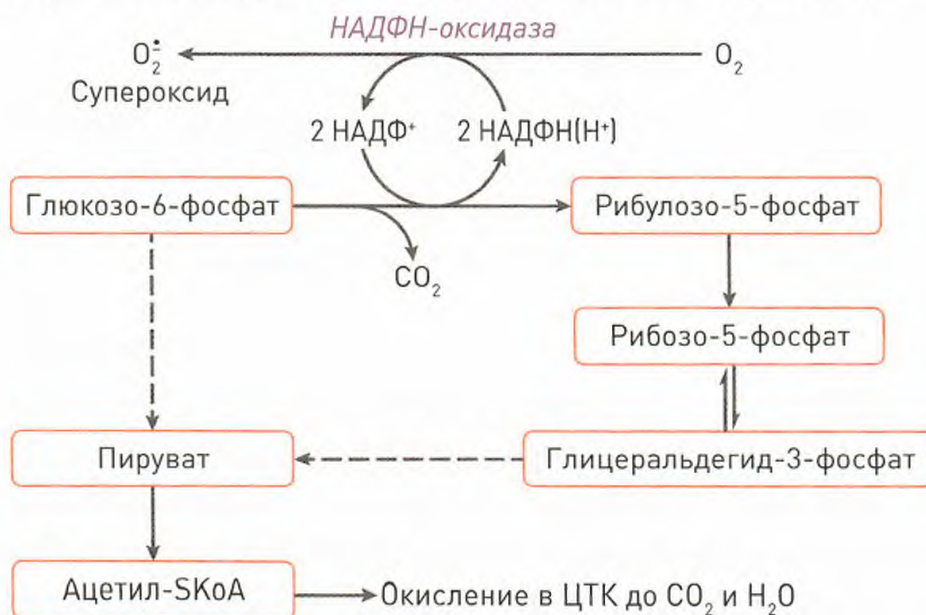
В некоторых клетках потребность в НАДФН значительно превышает потребность в рибозо-5-фосфате. Например, в адипоцитах, клетках лактирующей молочной железы (для синтеза ВЖК), клетках тестикул или коры надпочечников (для синтеза холестерина и стероидных гормонов) или гепатоцитах (для синтеза ВЖК, холестерина и желчных кислот). В таких клетках в окислительных реакциях пентозофосфатного пути образуются НАДФН и рибулозо-5-фосфат. Затем под действием ферментов неокислительного этапа рибулозо-5-фосфат превращается в другие пентозо-5-фосфаты и затем в метаболиты гликолиза (фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат). Эти метаболиты превращаются в пируват и ацетил-SКоА и используются для синтеза ВЖК и холестерина. Одновременно глицеральдегид-3-фосфат может превращаться в глицерол-3-фосфат и расходоваться для синтеза ТАГ.



В случае когда в клетке высока потребность в НАДФН и АТФ, а потребность в рибозо-5-фосфате отсутствует, как в эритроците, где НАДФН активно используется для восстановления глутатиона, последовательно идут оба этапа пентозофосфатного пути. Глюкозо-6-фосфат превращается в рибозо-5-фосфат и затем во фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат, которые вступают в гликолиз с образованием пирувата и затем лактата.



Если высока потребность в НАДФН и АТФ, а потребность в рибозо-5-фосфате варьирует, но, в отличие от эритроцита, клетка имеет митохондрии, пируват может полностью окисляться в ЦТК с высвобождением энергии. В этом случае основным процессом является аэробный гликолиз, а пентозофосфатный путь выполняет роль шунта, обходя первые реакции гликолиза с целью получения НАДФН. Фагоцитирующие клетки (макрофаги и нейтрофилы) нуждаются в НАДФН для работы НАДФН-оксидазы. НАДФН-оксидаза катализирует образование из  $\text{O}_2$  супероксид анион радикала,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и других активных форм кислорода, которые разрушают бактериальную клетку.





Респираторный взрыв (дыхательный взрыв) — процесс быстрого повышения генерации активных форм кислорода в фагоцитирующих клетках в результате активации НАДФН-оксидазы и накопления НАДФН(Н<sup>\*</sup>). Процесс сопровождается значительным (в 50–100 раз превышающим уровень контроля) и быстрым (в течение нескольких секунд) потреблением кислорода фагоцитами. Образованные активные формы кислорода (АФК) разрушают бактериальную клетку. Сам нейтрофил при этом не погибает, так как эти процессы протекают в фаголизосоме, а НАДФН восстанавливает глутатион, который защищает нейтрофил от свободных радикалов. Некоторые микроорганизмы, например *S. aureus* и *Aspergillus*, имеют каталазу, которая может разрушать H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, что препятствует образованию свободных радикалов и может определять их устойчивость к окислительному стрессу.

## Рекомендуемая литература

Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt. Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.

David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer. Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.

Michael King. Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.

Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. 7-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2020, 509 с.

Биохимия/Под ред. Е.С. Северина. 5-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020, 768 с.

## Задания для обсуждения



22-летний мужчина во время путешествия по африканским странам после укуса комара заподозрил наличие у себя малярии и самостоятельно начал принимать противомаларийный препарат примахин, оказывающий гематотоксический эффект. Вскоре после начала терапии у пациента развились анемия и желтуха. Лечащий врач отменил препарат, так как малярия не подтвердилась. Самочувствие пациента нормализовалось, однако диагностированная лекарственная гемолитическая анемия послужила поводом к оценке активности одного из ферментов.

А. Дефицит какого фермента наиболее вероятно можно диагностировать у мужчины?

- Б. Укажите, в каких тканях активность этого фермента минимальная.
- В. Какой патологический гемоглобин образуется при дефиците этого фермента более активно, чем у здоровых людей?
- Г. Дайте рекомендации пациенту по дальнейшему лечению и/или изменению образа жизни.



У 44-летнего мужчины на фоне терапии антибиотиками по поводу уретрита появились боль в спине и желтуха вследствие гемолиза. Общий анализ крови показал анемию. Подобные эпизоды случались и ранее, при инфекционных заболеваниях, в анамнезе у мужчины непереносимость пищи, содержащей бобовые.

- А. Дефицит какого фермента наиболее вероятно можно диагностировать у мужчины?
- Б. Какую реакцию катализирует этот фермент? Укажите субстрат и продукт.
- В. Укажите кофермент этого фермента.
- Г. Укажите две основные функции метаболического пути, в котором участвует этот фермент.



Мужчина, 44 года, поступил в приёмное отделение больницы с жалобами на слабость, рвоту и плохое самочувствие в течение последних 5 дней. В последние 3 дня наблюдается потемнение мочи и пожелтение склер. Пациент отрицает посещение других стран или использование лекарственных препаратов. При сборе анамнеза он вспомнил, что за 2 сут до появления симптомов он съел две порции блюда, приготовленного из замороженных бобов. Оба раза это было примерно 450 г бобов, бланшированных в кипятке. Ранее в жизни пациент таких симптомов не наблюдал, наследственность неотягощённая. При обследовании выявлены анемия, ретикулоцитоз и наличие в эритроцитах телец Хайнца — результат агрегации протомеров гемоглобина.

- А. Врождённый дефицит какого фермента должен заподозрить врач?
- Б. Напишите уравнение реакции, катализируемой этим ферментом, укажите кофермент.
- В. Укажите вероятную причину анемии и желтухи у пациента.
- Г. Какова причина образования телец Хайнца при этом заболевании?



Женщина, 72 года, посещает танцы для пенсионеров «Активное долголетие». После каждого такого мероприятия ощущает необычную слабость, сонливость и «гриппоподобное» состояние, парестезии и онемение ног, иногда тошноту и запоры. Спустя несколько дней эти симптомы проходят, но после следующего выхода на улицу и физической нагрузки повторяются вновь. Известно, что последние несколько лет у неё нет аппетита, и питается пациентка плохо. При осмотре: небольшой тремор рук, пациентка истощена. В эритроцитах снижена активность транскетолазы.

- А. Дефицит какого витамина следует заподозрить?
- Б. Какой кофермент образуется из этого витамина и как изменяется метаболизм глюкозы в условиях дефицита этого витамина?
- В. Поясните причину появления неврологических симптомов у пациентки.

# 7

**Синтез гликогена**

**Гликогеногенез** (гликогенез, или, проще, синтез гликогена) — последовательность биохимических реакций, обеспечивающих полимеризацию молекул глюкозы для её накопления в виде гликогена. Синтез гликогена активируется в период пищеварения (в абсорбтивный период, то есть через 1–2 ч после приёма богатой углеводами пищи), когда концентрация глюкозы плазмы крови поддерживается за счёт глюкозы, поступившей с пищей.

Свободная глюкоза не может депонироваться в клетке в больших количествах, поскольку при повышении её концентрации увеличивается внутриклеточное осмотическое давление. Клетка изящно решает эту проблему, накапливая глюкозу в виде осмотически неактивного гликогена, запасы которого можно быстро мобилизовать в случае необходимости восполнения дефицита энергии. Гликоген является своего рода «подручным», наиболее доступным депо энергоёмких молекул глюкозы, которые будут поддерживать концентрацию глюкозы плазмы крови в период между приёмами пищи, то есть когда организм ещё не успел запустить процесс глюконеогенеза или «настроиться» на использование в качестве субстратов для получения энергии ВЖК или кетоновых тел. Именно запас гликогена служит источником энергии в случае незапланированной интенсивной работы (например, когда нужно быстро убежать от хищника). В отличие от ВЖК или кетоновых тел, высвобождающаяся из гликогена глюкоза может использоваться для получения энергии как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Гликоген может синтезироваться почти во всех тканях, но наибольшие его запасы находятся в печени и скелетных мышцах. Запас гликогена

в печени составляет до 10% массы печени, запас гликогена в мышечной ткани — до 2% её массы (табл. 7.1). Несмотря на относительно небольшую массу печени, именно запасы гликогена печени служат источником глюкозы для головного мозга и эритроцитов в раннем периоде голодания (в течение не более 24 ч после приёма пищи). Запасы гликогена в мышечных клетках ввиду отсутствия в последних глюкозо-6-фосфатазы могут быть использованы для обеспечения энергетических потребностей только самих миоцитов. Имеющихся в мышечной ткани запасов гликогена хватает не более чем на 60 мин интенсивной мышечной работы.

**Таблица 7.1.** Примерный запас углеводов в организме человека с массой тела 70 кг\*

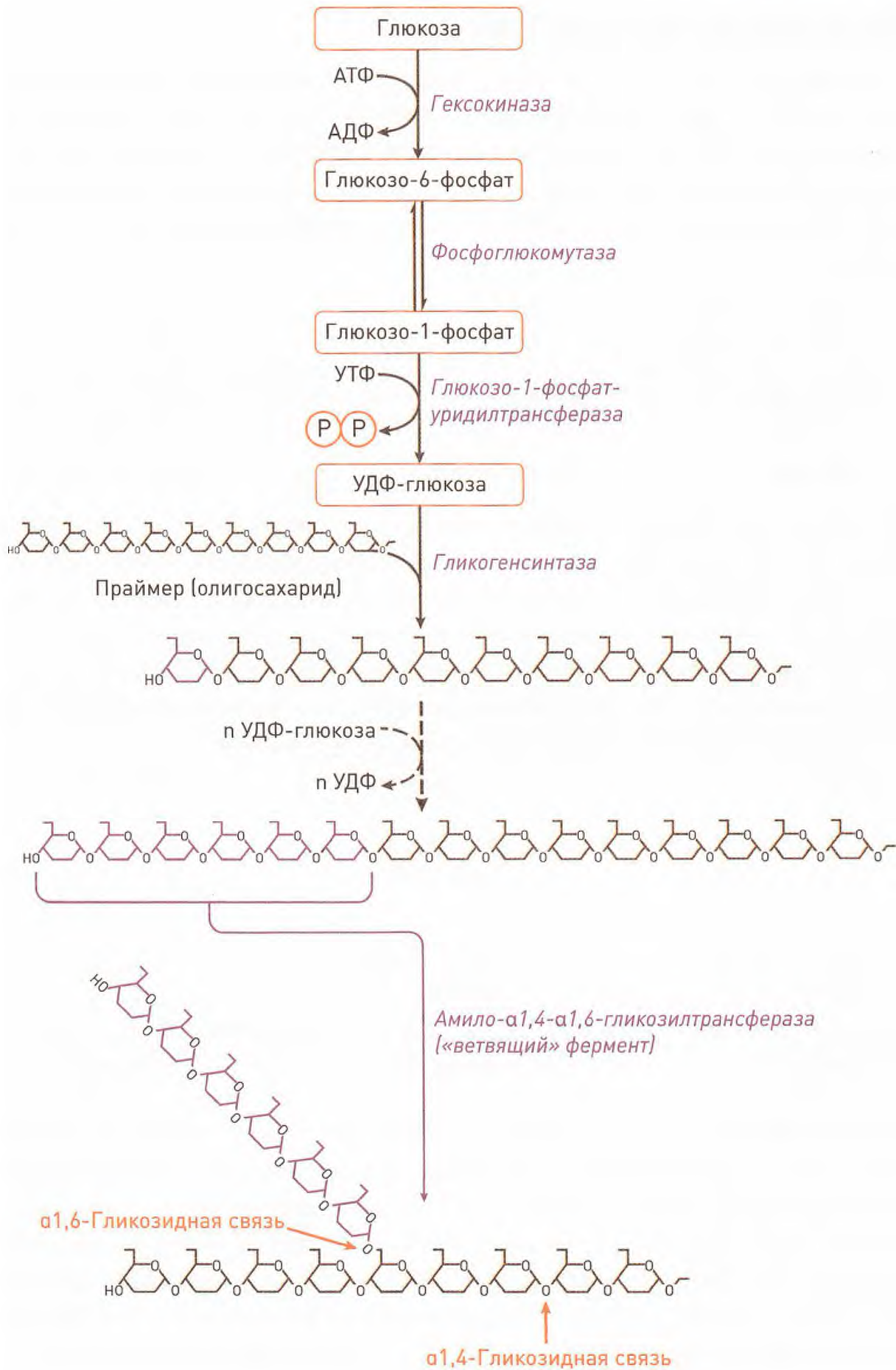
	Доля от массы ткани, %	Масса ткани	Суммарное содержание, г
Гликоген печени	5,0	1,8 кг	90
Гликоген мышечной ткани	0,7	35 кг	245
Внеклеточная глюкоза	0,1	10 л	10

\* Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. *Harper's Illustrated Biochemistry, 29th ed.* New York, NY: McGraw-Hill; 2012.

Для синтеза гликогена из глюкозы непосредственно нужны шесть ферментов:

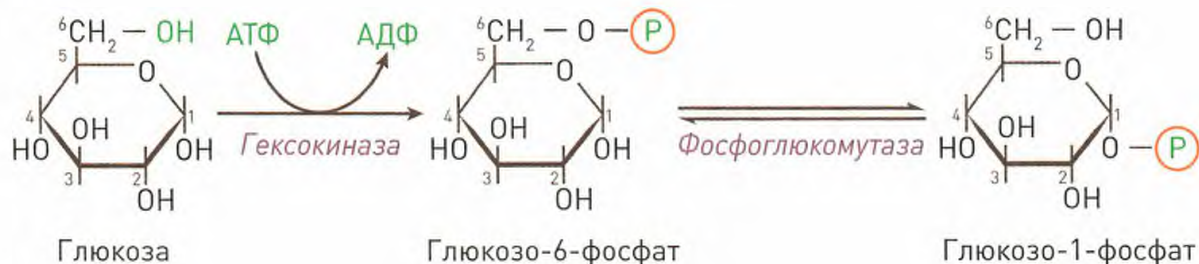
- глюкокиназа (гексокиназа) — фосфорилирует остаток свободной глюкозы (первая реакция гликолиза);
- фосфоглюкомутаза — превращает глюкозо-6-фосфат в глюкозо-1-фосфат;
- глюкозо-1-фосфат-уридилтрансфераза — обеспечивает образование УДФ-глюкозы;
- гликогенин гликозилтрансфераза (или просто гликогенин) — необходима для образования праймера («затравки») из первых нескольких соединённых вместе остатков глюкозы;
- гликогенсинтаза — наращивает линейную полисахаридную цепь;
- амило- $\alpha$ 1,4- $\alpha$ 1,6-гликозилтрансфераза («ветвящий» фермент).

Гликоген накапливается в цитоплазме клетки, соответственно процессы его синтеза и распада протекают там же. Как и любой другой анаболический процесс, синтез гликогена требует затраты энергии АТФ и УТФ.

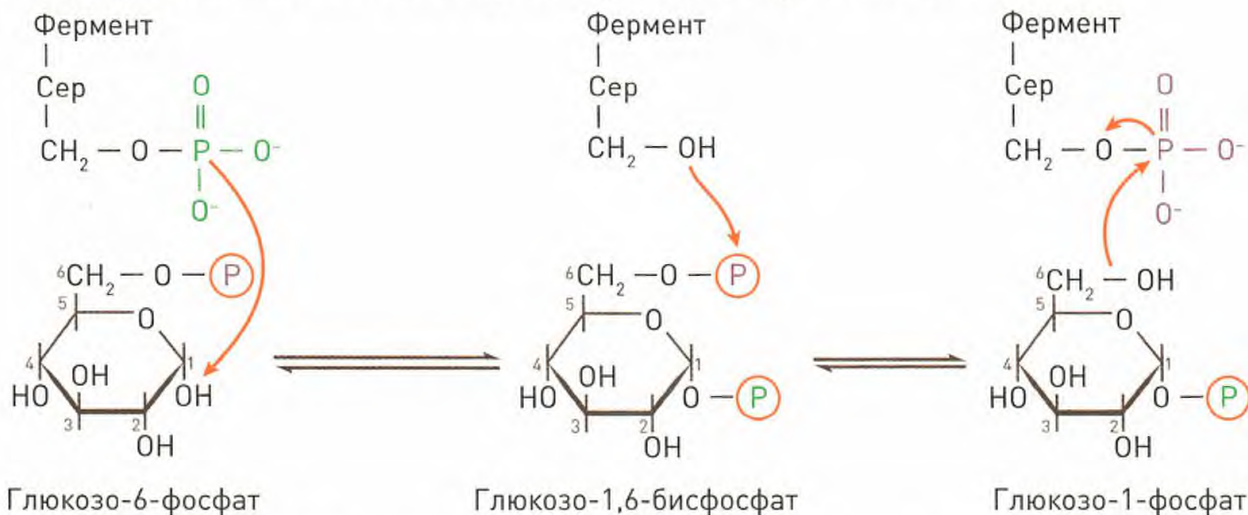


## Образование глюкозо-1-фосфата

Поступающая в клетку глюкоза подвергается фосфорилированию при участии АТФ и различных изоформ гексокиназы. В печени наибольшее значение для синтеза гликогена имеет глюкокиназа (гексокиназа IV типа). Образовавшийся в ходе этой реакции глюкозо-6-фосфат под влиянием фосфоглюкомутазы (КФ 5.4.2.2) обратимо изомеризуется в глюкозо-1-фосфат.



Реакция при участии фосфоглюкомутазы протекает с образованием промежуточного метаболита — глюкозо-1,6-бисфосфата, следовательно, в составе субстрата и продукта реакции находятся разные остатки фосфорной кислоты. Молекулярный механизм этого процесса аналогичен реакции превращения 2-фосфоглицерата в 3-фосфоглицерат при участии фосфоглицератмутазы. Для протекания реакции необходимо присутствие иона двухвалентного металла, как правило,  $\text{Mg}^{2+}$  или  $\text{Cd}^{2+}$ .



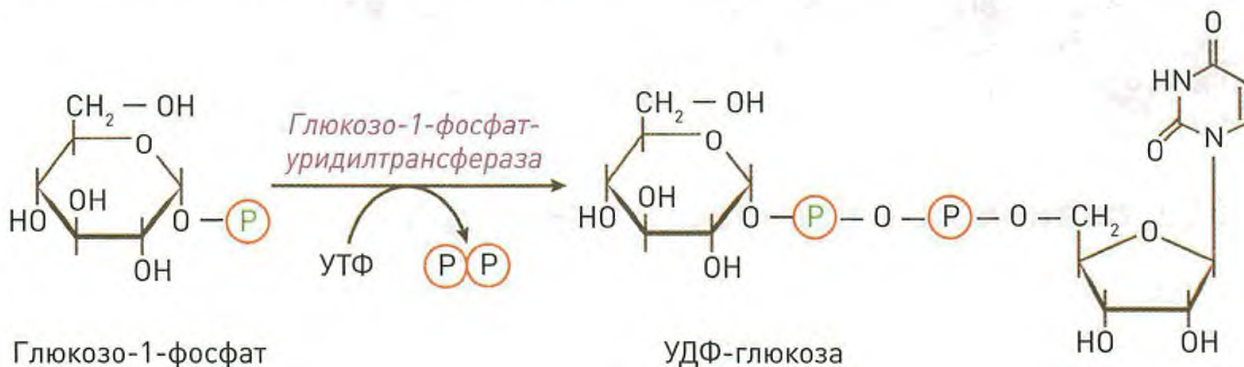
В силу обратимости реакции изомеризации использование непосредственно глюкозо-1-фосфата для синтеза гликогена биологически бессмысленно, поскольку в этом случае синтез и распад гликогена оказались бы также обратимыми и, следовательно, неуправляемыми. Чтобы синтез гликогена был термодинамически необратимым, необходима дополнительная стадия образования из глюкозо-1-фосфата УДФ-глюкозы при участии УТФ.

### Врождённый дефицит фосфоглюкомутазы

Врождённый дефицит фосфоглюкомутазы — ультраредкое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутацией в гене *PGM1*. Ранее классифицировалось как гликогеноз XIV типа, сейчас относится к врождённым синдромам нарушения гликозилирования, *GDG1T*. Описано несколько пациентов с различными симптомами, в том числе с дилатационной кардиомиопатией, нарушением толерантности к физической нагрузке и патологией печени.

## Образование уридиндифосфатглюкозы

Глюкозо-1-фосфат вступает во взаимодействие с УТФ (уридинтрифосфатом), образуя уридиндифосфатглюкозу (УДФ-глюкозу) и пирофосфат. Эта реакция катализируется глюкозо-1-фосфат-уридилтрансферазой (КФ 2.7.7.9). Для стабилизации связей с отрицательно заряженными фосфатными группами и их правильного позиционирования в активном центре фермента необходимо участие двухвалентных катионов, как правило,  $Mg^{2+}$ , возможно также  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  или  $Ni^{2+}$ . Эта реакция в клетке необратима, поскольку образующийся пирофосфат быстро расщепляется пирофосфатазой на два остатка фосфорной кислоты\*.



В геноме человека присутствуют два гена, кодирующих глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазу, *UGP1* и *UGP2*. При альтернативном сплайсинге гена *UGP2* образуются два функционально активных белка, отличающихся на 11 N-концевых аминокислотных остатков (длинная и короткая формы — изоформы 1 и 2), короткая изоформа специфично экспрессируется в клетках головного мозга.

\* Само по себе образование УДФ-глюкозы из УТФ и глюкозо-1-фосфата имеет незначительное изменение свободной энергии Гиббса, необратимость этой реакции достигается благодаря быстрому гидролизу пирофосфата ( $\Delta G^{\circ} = -19,2$  кДж/моль). Гидролиз пирофосфата снижает концентрацию последнего в клетке, что делает невозможным его использование в обратной реакции.

Активность глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазы в клетке регулируется в основном путём изменения численности молекул фермента и может ингибироваться продуктом реакции — УДФ-глюкозой.



*В опухолевых клетках, как правило, отмечается сниженная экспрессия глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазы. Это связано с повышенной активностью гликолиза и низкой способностью опухолевых клеток к накоплению гликогена.*

### **Синдром Бараката–Перентхалера**



*Редкое врождённое заболевание с аутомно-рецессивным типом наследования, связано со специфическим дефектом в гене глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазы UGP2. Вследствие мутации стартового кодона короткой версии белка изоформа 2 в организме человека не образуется, что сопровождается изолированным дефицитом фермента в головном мозге. Заболевание манифестирует в раннем детском возрасте тяжёлыми эпилептическими припадками и задержкой психомоторного развития. Широкий круг неврологических нарушений включает также периферическую спастичность, гиперрефлексию и дистонию. Ребёнок не способен сидеть и не может научиться говорить. Вследствие выраженной гипотонии мышц полости рта для его питания требуется назогастральный зонд. Большинство погибают в раннем детском возрасте.*

*Потеря активности обеих изоформ глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазы несовместима с жизнью, в случае таких мутаций предположительно происходит внутриутробная гибель эмбриона.*

## **Образование гликогенового праймера**

Гликогенин гликозилтрансфераза (КФ 2.4.1.186) — фермент, участвующий в создании первичного праймера («затравки») молекулы гликогена, который затем может наращиваться при участии гликогенсинтазы. Гликогенин представляет собой гомодимер, каждый мономер которого содержит остаток тирозина (Тир-194), к которому и присоединяется первый остаток глюкозы, чьим донором является УДФ-глюкоза. Гликогенин служит самому себе субстратом и присоединяет остаток глюкозы к Тир-194 собственной полипептидной цепи по механизму аутокатализа. Для протекания реакции необходимы ионы  $Mn^{2+}$ .

$УДФ-α-D-глюкоза + гликогенин \rightleftharpoons УДФ + α-D-глюкозилгликогенин.$

$УДФ-α-D-глюкоза + α-D-глюкозилгликогенин \rightleftharpoons$   
 $\rightleftharpoons (1,4-α-D-глюкозил)_n α-D-глюкозилгликогенин + УДФ + H^+.$

Всего гликогенин может присоединить к себе последовательно до семи остатков глюкозы, после чего дальнейший рост цепи происходит уже при непосредственном участии гликогенсинтазы. Белковая молекула гликогенина остаётся при этом в центре растущего полимера гликогена («в центре клубка»), причём к каждому из двух мономеров прикрепляется своя удлиняющаяся цепь из остатков глюкозы.

Геном человека содержит два гена, кодирующих две изоформы гликогенина — *GYG1* и *GYG2*. Ген *GYG1* экспрессируется преимущественно в мышцах, *GYG2* — в клетках миокарда, гепатоцитах и других тканях.

### **Гликогеноз XV типа**



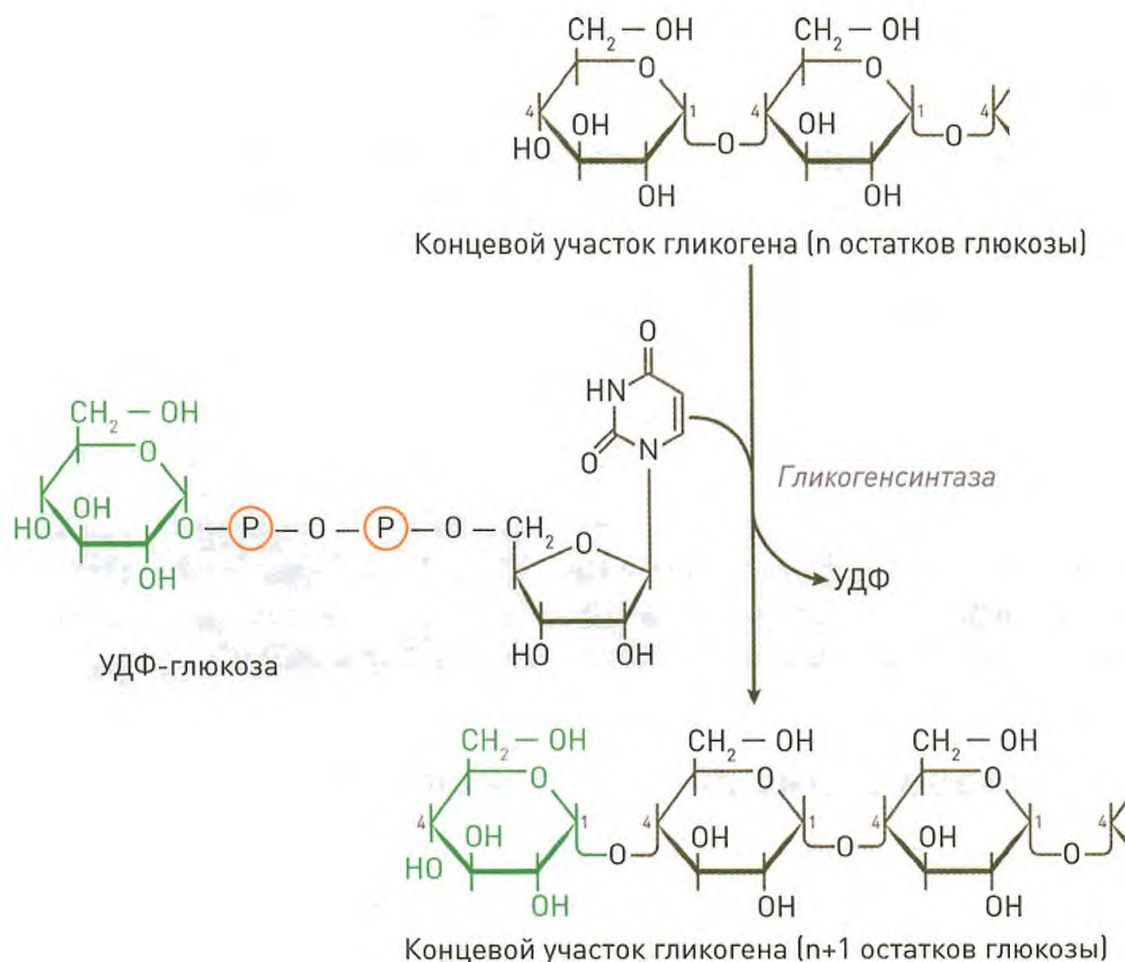
Ультраредкое врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, связано с мутацией в гене *GYG1*. Клинически проявляется снижением накопления гликогена в мышечной ткани, увеличением числа митохондрий в миоцитах, гипертрофией миокарда и аритмиями.

## **Линейное наращивание полисахаридной цепи**

УДФ-глюкоза используется в качестве донора остатка глюкозы для синтеза гликогена. При переносе глюкозного остатка на существующую цепь гликогена образуется  $\alpha$ 1,4-гликозидная связь между  $C_1$  добавляемого остатка глюкозы и  $C_4$  концевого остатка уже существующей цепи гликогена. Эта реакция катализируется гликогенсинтазой (КФ 2.4.1.11). Так как гликоген в клетке никогда не расщепляется полностью, его синтез осуществляется путём удлинения уже существующей молекулы полисахарида. Реакция, катализируемая гликогенсинтазой, возможна только при условии, что полисахаридная цепь, созданная гликогенином, уже содержит не менее четырёх остатков D-глюкозы.

Нуклеотидная часть УДФ-глюкозы обеспечивает распознавание субстрата активным центром и выполняет функцию «рукоятки», которая позволяет позиционировать глюкозу в нужном положении относительно полисахаридной цепи. Высвобождающийся в конце реакции УДФ затем вновь фосфорилируется в УТФ за счёт АТФ, и весь цикл превращений глюкозо-1-фосфата начинается снова.

В геноме человека существуют два гена, *GYS1* и *GYS2*, кодирующих два изофермента гликогенсинтазы. Ген *GYS2* экспрессируется только в печени, ген *GYS1* — в мышцах и во всех других органах и тканях.



### Гликогеноз 0 типа

Врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, связано с мутацией в гене *GYS2* (дефект печёночного изофермента гликогенсинтазы), распространённость 1:20–1:25 тыс. новорождённых\*. Предполагается, что часто заболевание остаётся невыявленным, поскольку у многих пациентов может протекать в мягкой практически бессимптомной форме.

Мутация в гене гликогенсинтазы приводит к снижению накопления гликогена нормального строения в печени\*\*. Вследствие дефицита гликогена и невозможности адекватного поддержания падающей концентрации глюкозы в плазме крови путём гликогенолиза

\* Описаны единичные случаи мутаций в гене *GYS1*. Характерно снижение накопления гликогена в миокарде и скелетных мышцах, что проявляется снижением толерантности к физической нагрузке, гипертрофией миокарда, удлинением интервала Q-T и повышенным риском внезапной остановки сердца. В мышечных клетках увеличивается содержание митохондрий.

\*\* Несмотря на то что дефект гликогенсинтазы не приводит к накоплению гликогена, эту наследственную патологию всё равно классифицируют как гликогеноз, поскольку нарушен процесс обмена гликогена, и отмечаемые биохимические нарушения имеют много общего с другими типами классических гликогенозов.

у пациентов отмечаются гипогликемия натощак, повышение концентрации альтернативных источников энергии — кетоновых тел, свободных ВЖК, и снижение концентрации аланина и лактата в плазме крови, которые расходуются в реакциях глюконеогенеза. После приёма пищи у таких пациентов, напротив, могут быть обнаружены гипергликемия, глюкозурия и гиперлактатемия, поскольку избыток глюкозы не может превратиться в гликоген и расходуется только в катаболических путях с образованием лактата и пирувата. В течение 5–7 ч после приёма пищи уровень лактата, как правило, нормализуется. Приём внутрь глюкозы (оральный глюкозотолерантный тест), галактозы или фруктозы вызывает резкий подъём концентрации лактата в плазме крови. Дифференциальную диагностику проводят с врождённым нарушением толерантности к фруктозе (дефицит фруктозо-1-фосфат альдозазы).

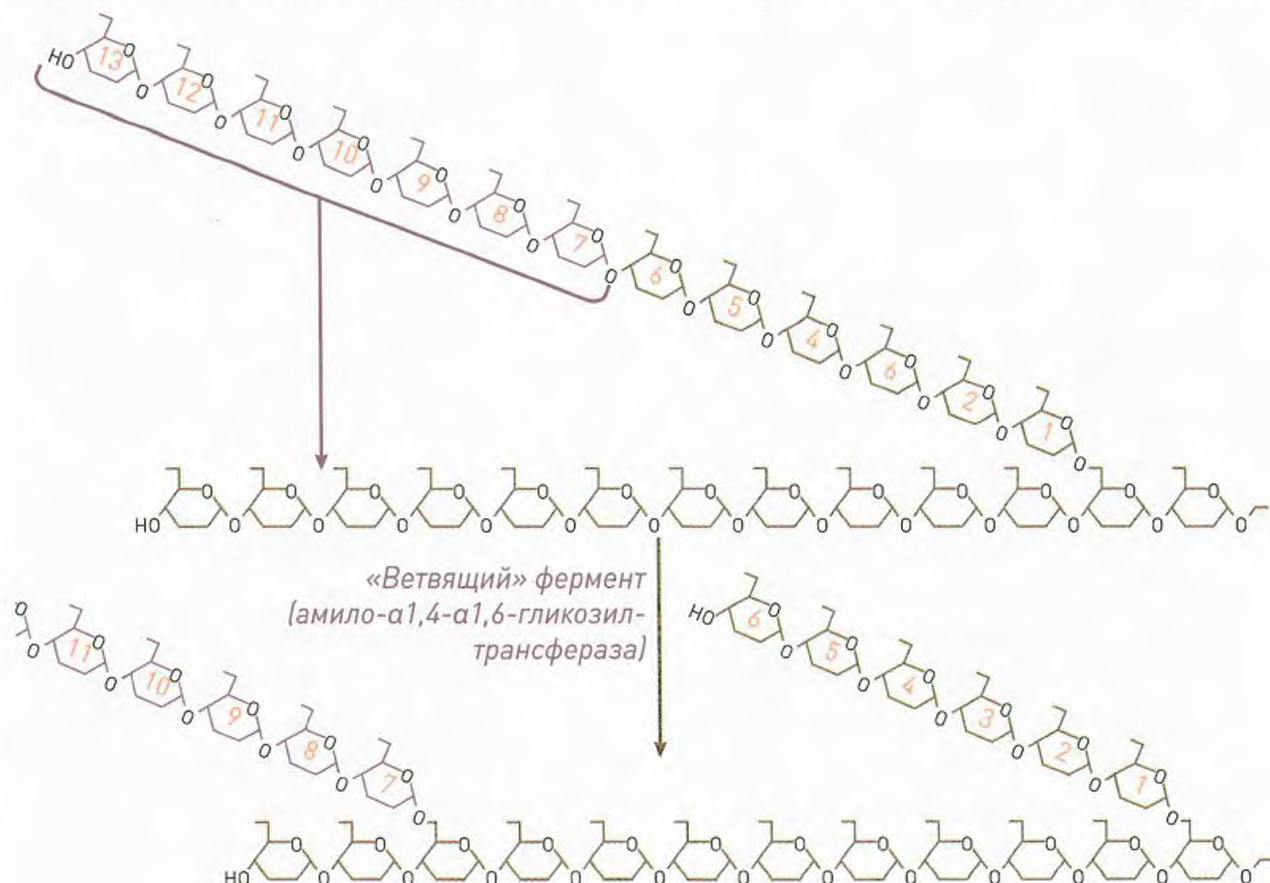
Заболевание чаще всего манифестирует в раннем детском возрасте, когда прекращают ночное кормление ребёнка. Гипогликемия натощак длительное время может оставаться незамеченной или вызывать неспецифические симптомы — головокружение, потливость, головную боль, снижение концентрации внимания или бледность. В тяжёлых случаях могут появляться непроизвольные движения глаз, дезориентация, припадки, летаргия, тахикардия и кома. Возможные отдалённые последствия включают нарушения умственного развития, изменения личности и задержку роста. Для окончательного установления диагноза показано проведение биопсии печени и генетический анализ с подтверждением наличия соответствующей мутации.

Лечение включает частое дробное питание (желательно каждые 1–2 ч), на ночь рекомендуется принимать термически необработанный кукурузный крахмал, который постепенно расщепляется в тонкой кишке и всасывается в кровь в течение 6 ч. Прогноз благоприятный.

## **Ветвление молекулы гликогена**

Амило- $\alpha$ 1,4- $\alpha$ 1,6-гликозилтрансфераза, «ветвящий» фермент (англ. branching enzyme, КФ 2.4.1.18), переносит фрагмент, состоящий из не менее шести остатков глюкозы, на эту же или соседнюю цепь с образованием  $\alpha$ 1,6-гликозидной связи. Как только гликогенсинтаза удлиняет линейный участок примерно до 11 остатков глюкозы, «ветвящий» фермент переносит концевой фрагмент синтезированной цепи (6–7 остатков) на один из промежуточных остатков глюкозы этой или соседней полисахаридной цепи. В точке ветвления концевой остаток глюкозы олигосахарида соединяется с гидроксильной группой у  $C_6$  с образованием  $\alpha$ 1,6-гликозидной связи. Новая точка ветвления может быть образована на расстоянии не менее четы-

рѐх остатков от любой уже существующей. Как правило, участки ветвления в молекуле гликогена встречаются через каждые 8–14 остатков глюкозы.



Ветвление повышает растворимость молекулы гликогена и снижает осмотическое давление в клетке. По мере синтеза гликогена число ветвлений многократно возрастает, а молекула приобретает более плотный шарообразный вид с ветвями, свободные концы которых обращены к периферии сферы. Крупные молекулы гликогена имеют диаметр примерно 21 нм и содержат примерно 55 тыс. остатков глюкозы, из которых примерно 2 тыс. — свободные концевые остатки глюкозы (невосстанавливающие, содержат свободную  $-OH$ -группу у  $C_4$ ). Именно с этих свободных концов и начнѐтся отщепление гликогенфосфорилазой депонированных остатков глюкозы.

#### **Гликогеноз IV типа (болезнь Андерсена)**

Врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, дефект гена *GBE1*, сопровождающееся дефицитом «ветвящего» фермента и накоплением гликогена аномального строения, который образует плохо растворимые полиглюкозанные внутриклеточные агрегаты (тельца). Распространѐнность составляет 1:800 тыс. новорождённых. Накопление избытка аномального гликогена сопровождается повышением внутриклеточного осмотического давления, что приводит к набуханию и гибели клетки. В наибольшей степени поражаются органы, где синтез гликогена протекает интенсивно: печень, мышечная ткань и миокард. Поражение

печени сопровождается гепатомегалией и нарушением её функции. Накопление аномального гликогена в мышечных клетках приводит к атрофии мышц и мышечной слабости. В тяжёлых случаях наступает цирроз печени и летальный исход в дошкольном возрасте. При отдельных мутациях сохраняется частичная активность фермента, и заболевание манифестирует уже во взрослом возрасте. Описаны несколько клинических вариантов:

- ✦ *фатальный перинатальный нейромышечный тип: снижение мышечного тонуса новорождённых и атрофия мышц, дети погибают в младенческом возрасте из-за прогрессирующей сердечно-лёгочной недостаточности;*
- ✦ *врождённый мышечный тип: развивается в раннем детском возрасте, отмечается дилатационная кардиомиопатия, летальный исход в первые несколько месяцев жизни;*
- ✦ *прогрессирующий печёночный тип: быстро развивается необратимый цирроз печени, летальный исход вследствие печёночной недостаточности в раннем детском возрасте;*
- ✦ *непрогрессирующий печёночный тип: сопровождается патологией печени в отсутствие цирроза, мышечной слабостью, продолжительность жизни существенно варьирует в зависимости от тяжести клинических проявлений;*
- ✦ *детский нейромышечный тип: манифестирует в детском возрасте, среди проявлений наибольшее значение имеют мышечная слабость и дилатационная кардиомиопатия, прогноз существенно отличается в зависимости от тяжести симптомов.*

#### **Болезнь накопления полиглюкозановых телец у взрослых**

*В том же гене GBE2 описаны три мутации, которые сопровождаются незначительным снижением активности «ветвящего» фермента. При этом гликоген аномального строения накапливается избирательно в клетках нервной системы, что приводит к неврологической патологии. Ранние признаки определяются локализацией поражённых нейронов и могут включать нарушения мочеиспускания (нейрогенный мочевой пузырь — нарушение способности контролировать мочеиспускание), патологию моторных нейронов (нарушения ходьбы, мышечная слабость и спастичность) и потерю чувствительности нижних конечностей. В развитии заболевания примерно у половины пациентов отмечаются нарушения умственной сферы (деменция). Заболевание манифестирует во взрослом возрасте, как правило, от 30 до 60 лет. Лечение симптоматическое.*

## **Регуляция синтеза гликогена**

Регуляция процессов синтеза и распада гликогена осуществляется координированно по реципрокному принципу. Переключение с одного процесса на другой происходит при переходе из абсорбтивного состояния в постабсорбтивное, а также при смене состояния покоя на режим

физической работы. В печени активность этих процессов регулируется главным образом инсулином, глюкагоном и адреналином, а в мышцах — инсулином и адреналином. Их влияние на обмен гликогена опосредовано разнонаправленной регуляцией активности двух ключевых ферментов: гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы при помощи их фосфорилирования/дефосфорилирования.

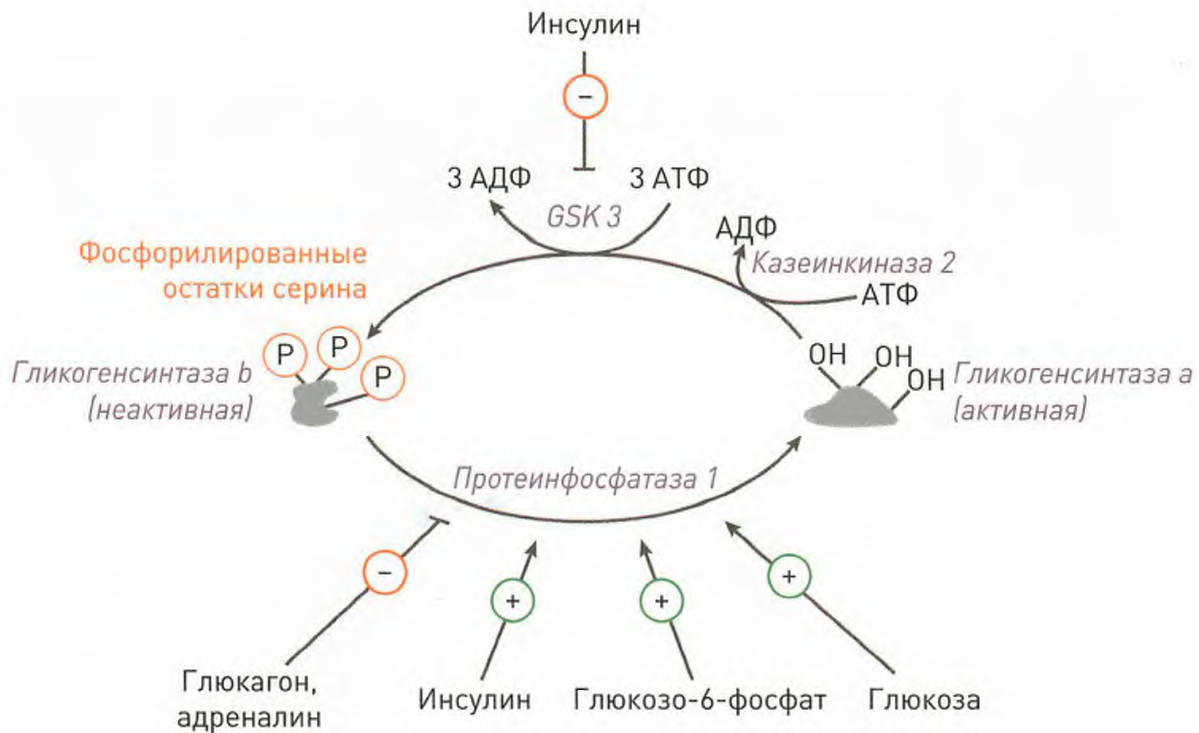
Ключевой фермент синтеза гликогена, подверженный активному регуляторному влиянию — гликогенсинтаза. Гликогенсинтаза имеет широкий круг эффекторов, действующих как путём быстрой посттрансляционной модификации — фосфорилирования/дефосфорилирования под действием гормонов, так и непосредственно связывающихся с ферментом в аллостерическом центре.

Гликогенсинтаза может существовать в фосфорилированной и дефосфорилированной форме. Она активна в дефосфорилированном состоянии — гликогенсинтаза *a*; фосфорилированная, менее активная форма, носит название гликогенсинтазы *b*. Следует заметить, что гликогенсинтаза имеет несколько аминокислотных остатков (сайтов), к которым может присоединяться остаток фосфорной кислоты, и для активности фермента имеет значение не только количество фосфорилированных аминокислотных остатков, но также и очерёдность их присоединения.

Активность гликогенсинтазы снижается путём фосфорилирования при участии целого ряда протеинкиназ: киназы гликогенсинтазы (GSK-3)\*, казеинкиназы 2 (СК2), 5'-АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК), протеинкиназы А, протеинкиназы С, кальмодулин-зависимой протеинкиназы 2, казеинкиназы 1 (СК1) и др. Каждая из перечисленных протеинкиназ может фосфорилировать определённые аминокислотные остатки в составе фермента. Наиболее важной для регуляции активности гликогенсинтазы считается киназа GSK-3, которая может присоединять остатки фосфорной кислоты к остаткам серина недалеко от С-конца фермента (Сер-641, Сер-645, Сер-649 или Сер-653). GSK-3 активируется после того как ещё одна киназа, казеинкиназа 2, уже присоединила один остаток фосфорной кислоты к молекуле гликогенсинтазы (такое «подготовительное» фосфорилирование обозначается термином англ. *priming*).

---

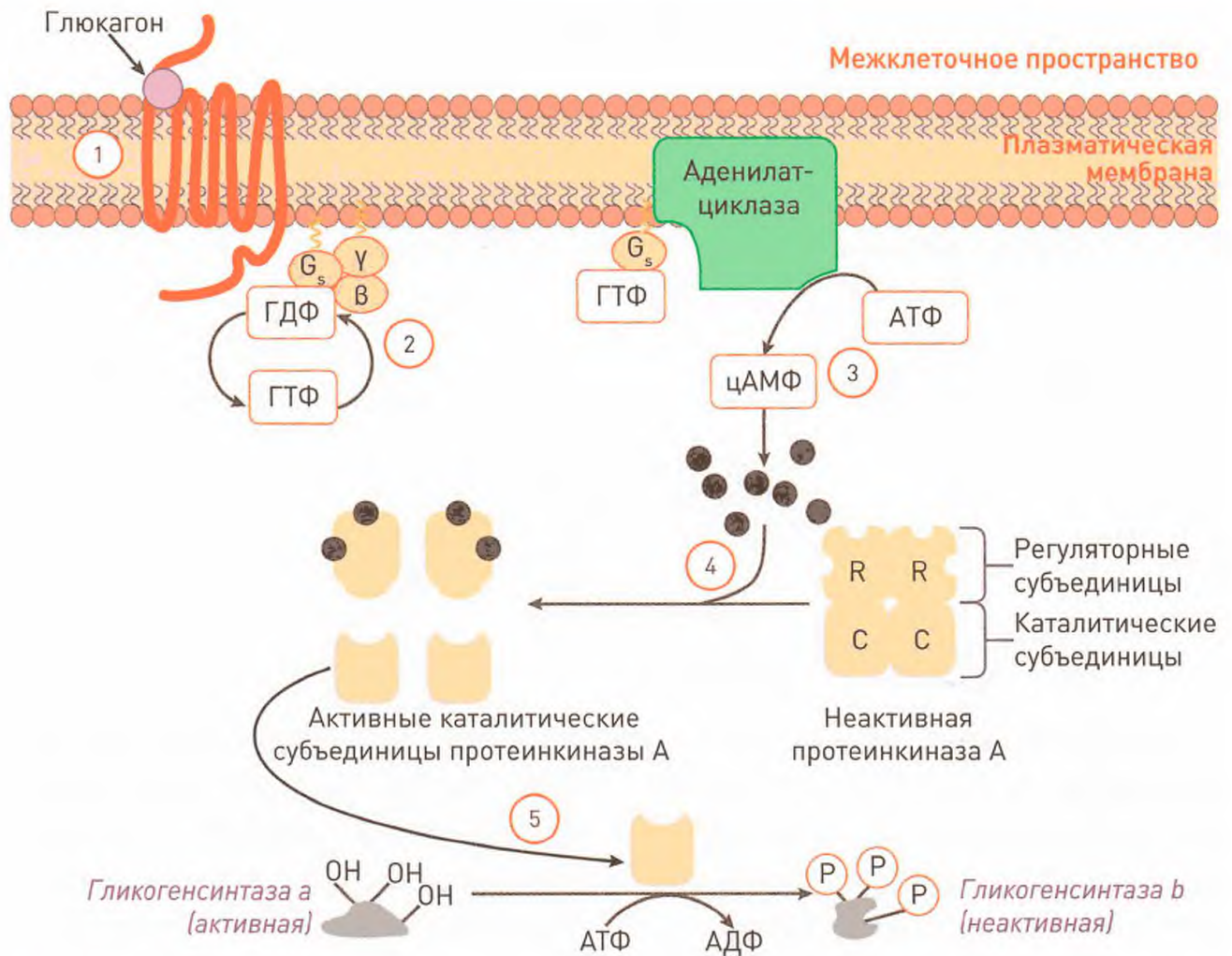
\* Несмотря на порядковый номер «3», это единственная специфическая киназа гликогенсинтазы. Ранее предположенные гены *GSK1* и *GSK2* были исключены из номенклатуры HUGO Gene Nomenclature Committee.



Восстановление активности гликогенсинтазы происходит при участии протеинфосфатазы 1, отщепляющей остатки фосфорной кислоты. В норме она находится в клетке в комплексе с белком-ингибитором PPI-1, который может активироваться протеинкиназой А. Фосфорилирование PPI-1 увеличивает его способность связывать протеинфосфатазу 1, снижая её способность к дефосфорилированию и восстановлению активности гликогенсинтазы.

Процессы фосфорилирования/дефосфорилирования гликогенсинтазы модулируются гормонами, ключевая роль среди которых принадлежит глюкагону, адреналину и инсулину. Кроме того, гликогенсинтаза аллостерически активируется глюкозо-6-фосфатом. Глюкозо-6-фосфат и глюкоза могут связываться с фосфорилированной гликогенсинтазой, облегчая её дефосфорилирование протеинфосфатазой 1.

При связывании глюкагона с рецепторами на гепатоцитах происходит активация аденилатциклазы, что приводит к образованию цАМФ и последующей активации цАМФ-зависимой протеинкиназы А (рис. 7.1). Связывание цАМФ с регуляторными субъединицами протеинкиназы А приводит к высвобождению каталитических субъединиц. Каталитическая субъединица протеинкиназы А может фосфорилировать четыре различных аминокислотных остатка в составе гликогенсинтазы, снижая её активность. Кроме того, глюкагон дополнительно может активировать казеинкиназу 2. Таким образом, суммарное действие глюкагона на гликогенсинтазу гепатоцитов сводится к фосфорилированию различных аминокислотных остатков и её последующей инактивации.



**Рис. 7.1.** Аденилатциклазный механизм передачи сигнала, инактивация гликогенсинтазы.

- 1** Взаимодействие глюкагона с рецептором приводит к изменению конформации рецептора. Это изменение передаётся на G<sub>s</sub>-белок, который состоит из трёх субъединиц (α, β и γ), α-субъединица связана с ГДФ.
- 2** В результате взаимодействия с рецептором β- и γ-субъединицы отсоединяются, одновременно на α-субъединице ГДФ заменяется на ГТФ.
- 3** Активированная α-субъединица стимулирует аденилатциклазу, которая начинает синтез цАМФ. Одновременно происходит гидролиз ГТФ, по окончании
- 4** Циклический АМФ (цАМФ) связывается с регуляторными субъединицами протеинкиназы А (R) и вызывает их диссоциацию от каталитических. В результате каталитические субъединицы (C) становятся активными.
- 5** Активные каталитические субъединицы протеинкиназы А фосфорилируют гликогенсинтазу, снижая её активность.

которого α-субъединица вновь соединяется с β- и γ-субъединицами и переходит в неактивное состояние (своеобразное «реле времени»).

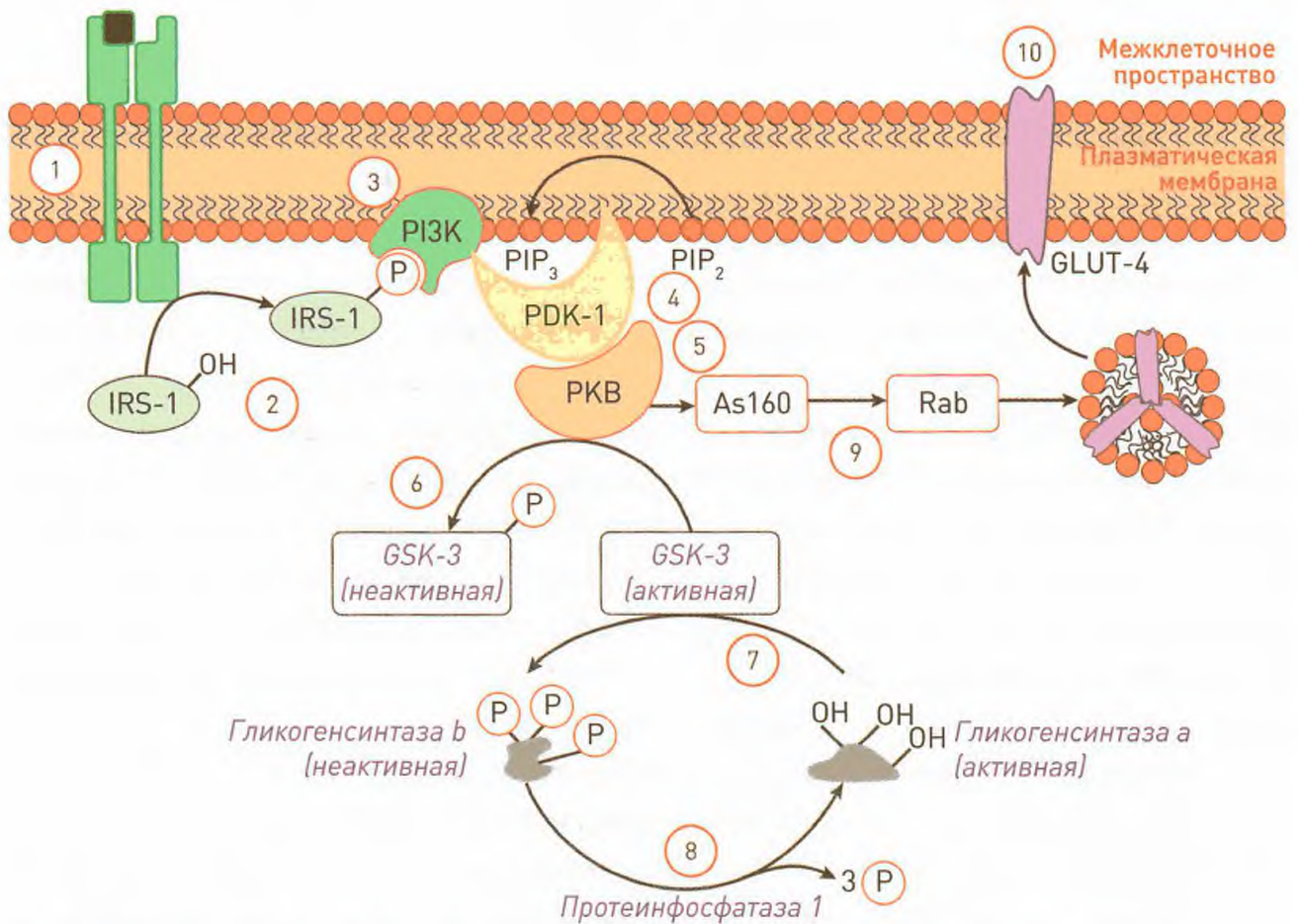
В мышцах адреналин по аналогичному глюкагону механизму активирует протеинкиназу А, которая фосфорилирует:

- гликогенсинтазу;
- регуляторный гликоген-связывающий белок GM (ингибитор протеинфосфатазы 1), что вызывает диссоциацию протеинфосфатазы 1 от комплекса белков с гликогеном.

После приёма углеводной пищи высокая концентрация глюкозы плазмы крови стимулирует выброс инсулина. Связываясь с мембранными рецепторами, инсулин фосфорилирует белок IRS-1, который связывается с PI3K, превращающей фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат в фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат. Последний активирует протеинкиназу PDK-1, которая, в свою очередь, фосфорилирует и инактивирует киназу гликогенсинтазы GSK-3, снимая её ингибирующее действие на гликогенсинтазу (рис. 7.2). Неактивная киназа не может поддерживать гликогенсинтазу в фосфорилированном неактивном состоянии, что приводит к активации гликогенсинтазы протеинфосфатазой 1. Кроме того, инсулин:

- стимулирует захват глюкозы клетками печени при помощи GLUT-4, что повышает доступность субстрата для синтеза гликогена;
- повышает активность фосфодиэстеразы, что сопровождается гидролизом цАМФ с образованием АМФ и снижением активности протеинкиназы А;
- активирует протеинфосфатазу 1.

Гормоны и нейромедиаторы, увеличивающие цитоплазматическую концентрацию ионов  $Ca^{2+}$ , снижают активность гликогенсинтазы. Высвобождающиеся ионы  $Ca^{2+}$  связываются с кальмодулином и активируют киназу фосфорилазы, которая также способна фосфорилировать и инактивировать гликогенсинтазу (см. рис. 7.2). Активация  $\alpha_1$ -адренорецепторов в скелетных мышцах активирует фосфолипазу С, которая гидролизует фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат с образованием инозитол-3-фосфата и диацилглицерола (ДАГ). Инозитол-3-фосфат мобилизует запасы  $Ca^{2+}$  из ЭПР, которые совместно с ДАГ активируют протеинкиназу С. Протеинкиназа С фосфорилирует гликогенсинтазу, снижая её сродство к субстрату (УДФ-глюкозе) и аллостерическому активатору глюкозо-6-фосфату.



**Рис. 7.2.** Передача сигнала от рецепторов инсулина, инактивация гликогенсинтазы.

- ① Рецепторы инсулина при связывании с лигандом димеризуются и происходит аутофосфорилирование цитоплазматических доменов каждого мономера по остаткам тирозина. При этом один мономер фосфорилирует внутриклеточный домен другого (партнёрского) мономера.
- ② При фосфорилировании остатка тирозина внутриклеточный домен рецепторной тирозинкиназы приобретает способность фосфорилировать адаптерный белок IRS-1 (insulin receptor substrate 1).
- ③ Фосфорилированный IRS-1 активирует PI3K (фосфатидинозитол-3-киназу), которая превращает фосфатидинозитол-4,5-бисфосфат ( $PIP_2$ ) в фосфатидинозитол-3,4,5-трифосфат.
- ④ Фосфатидинозитол-3,4,5-трифосфат активирует протеинкиназу PDK-1.
- ⑤ PDK-1 фосфорилирует протеинкиназу В (PKB/Akt2) по остатку серина Ser-473, что приводит к её активации.
- ⑥ PKB фосфорилирует киназу гликогенсинтазы GSK-3, что приводит к снижению её активности.
- ⑦ GSK-3 перестаёт фосфорилировать гликогенсинтазу.
- ⑧ Активность гликогенсинтазы восстанавливается при помощи протеинфосфатазы 1.
- ⑨ PKB/Akt2 фосфорилирует ГТФ-связывающий белок AS160 (Akt substrate 160 кДа)\*, что приводит к активации белков семейства Rab, которые стимулируют встраивание внутриклеточных везикул, содержащих GLUT-4, в плазматическую мембрану.
- ⑩ GLUT-4 обеспечивает поступление глюкозы в клетку, повышая её внутриклеточную концентрацию и увеличивая доступность субстрата для синтеза гликогена.

\* Ранее был также известен как TBC1D4 [TBC1 domain family member 4].

## Рекомендуемая литература

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt.* Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.

*David L. Nelson, Michael M. Cox.* Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

*Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer.* Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.

*Michael King.* Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.

*Кольман Я., Рём К.-Г.* Наглядная биохимия. 7-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2021, 509 с.

Биохимия/Под ред. Е.С. Северина. 5-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020, 768 с.

## Задания для обсуждения



В клинику доставлен 6-месячный ребёнок в состоянии истощения. При клиническом осмотре выявлены гепатоспленомегалия, мышечная слабость и атрофия мышц, снижение сухожильных рефлексов. Уровень глюкозы плазмы крови в пределах нормальных значений. При биопсии печени обнаружено накопление аномального гликогена, напоминающего по строению амилопектин.

- Чем с точки зрения химической структуры отличаются гликоген и амилопектин?
- С дефицитом какого фермента может быть связано накопление в печени у ребёнка аномального гликогена?
- К какому классу ферментов относится этот фермент? Какому типу гликогеноза соответствует его дефицит?
- Объясните причину мышечной слабости у ребёнка.



Молекула гликогена содержит 5000 остатков глюкозы.

- Сколько  $\alpha$ 1,6-гликозидных связей может содержаться в составе этой молекулы, если считать, что участки ветвления образуются каждым двенадцатым остатком?
- Сколько  $\alpha$ 1,4-гликозидных связей может содержаться в составе этой молекулы?
- Сколько невосстанавливающих концов цепи полисахарида может иметь такая молекула?
- Посчитайте молекулярную массу такой молекулы.



Известно, что активность гликогенсинтазы может регулироваться как аллостерически, так и путём фосфорилирования/дефосфорилирования.

- Как изменится интенсивность синтеза гликогена в клетке в случае мутации

- в аллостерическом центре гликогенсинтазы, с которым связывается глюкозо-6-фосфат? Поясните.
- Б. Как изменится интенсивность синтеза гликогена в клетке в случае мутации в гене киназы гликогенсинтазы 3 (GSK-3), приводящей к её инактивации? Поясните.
- В. Как изменится интенсивность синтеза гликогена в клетке в случае мутации в гене казеинкиназы 2, приводящей к её инактивации? Поясните.
- Г. Как изменится интенсивность синтеза гликогена в клетке в случае мутации в гене протеинфосфатазы 1, приводящей к её инактивации? Поясните.



Для исследования метаболических нарушений, обусловленных дефектом гена *GYS2*, были получены нокаутные мыши, продукт экспрессии гена *GYS2* у которых не имел необходимой биологической активности.

- А. Предположите возможные нарушения обмена глюкозы у таких мышей.
- Б. Нарисуйте гликемические кривые при проведении глюкозотолерантного теста у здоровых мышей и мышей с нокаутом *GYS2*.

# 8

## Распад гликогена

**Гликогенолиз** (распад гликогена) — биохимический процесс расщепления гликогена до глюкозы, осуществляется главным образом в печени и мышцах в ответ на повышение потребности в глюкозе. Для снабжения глюкозой других органов могут использоваться только запасы гликогена печени, поскольку в гепатоцитах имеется глюкозо-6-фосфатаза, позволяющая получать свободную глюкозу, которая через плазматическую мембрану выходит в кровь. Гликоген печени расщепляется при снижении концентрации глюкозы в крови прежде всего в интервалах между приёмами пищи и отчасти при физической нагрузке. Через 12–24 ч голодания запасы гликогена в печени полностью истощаются. В мышцах гликоген мобилизуется во время продолжительной физической нагрузки и используется для обеспечения энергией самих миоцитов.

---



Гликоген печени используется для поддержания уровня глюкозы в плазме крови в пределах нормальных значений. Гликоген мышечной ткани используется для обеспечения глюкозой миоцитов

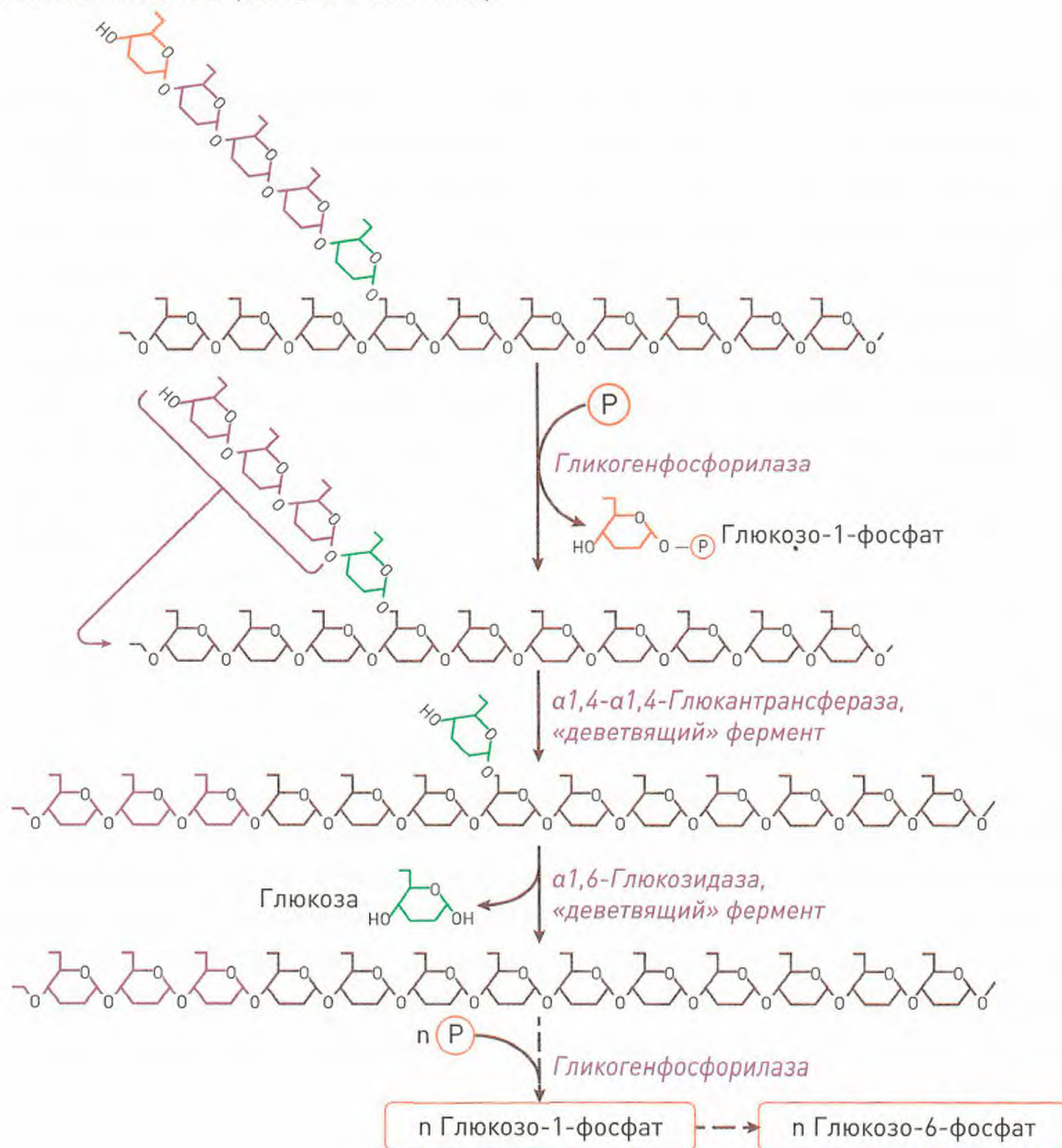
---

Разветвлённая структура гликогена обеспечивает наличие большого количества концевых мономеров, содержащих свободную гидроксильную группу у  $C_4$ , что способствует работе ферментов, отщепляющих остатки глюкозы при распаде гликогена. Чем больше свободных невосстанавливающих концов имеет молекула гликогена, тем больше молекул гликогенфосфорилазы могут действовать одновременно на нескольких ветвях молекулы.

В процессе распада гликогена непосредственно принимают участие три фермента:

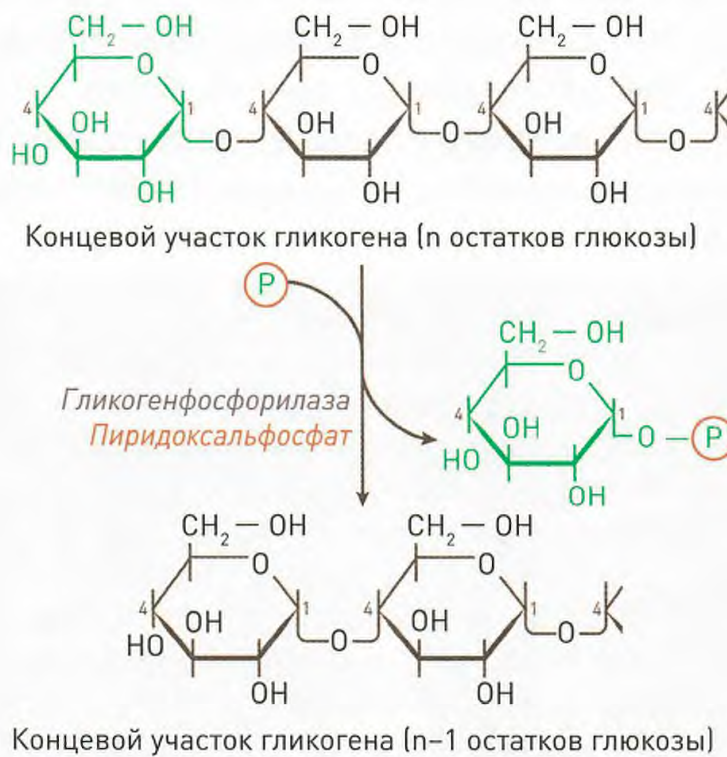
- фосфорилаза гликогена, или гликогенфосфорилаза — расщепляет  $\alpha$ 1,4-гликозидные связи с образованием глюкозо-1-фосфата;
- бифункциональный фермент ( $\alpha$ 1,4- $\alpha$ 1,6-глюкантрансфераза/амило- $\alpha$ 1,6-глюкозидаза) — «деветвящий» фермент;
- кислая  $\alpha$ 1,4-глюкозидаза (кислая мальтаза).

Для последующего использования клеткой образованный в ходе распада гликогена глюкозо-1-фосфат изомеризуется фосфоглюкомутазой в глюкозо-6-фосфат, который может окисляться в ходе гликолиза или пентозофосфатного пути окисления глюкозы либо использоваться для синтеза глюкозы (только в печени).



## Фосфороллиз гликогена

Мобилизация гликогена происходит путём последовательного отщепления остатков глюкозы в виде глюкозо-1-фосфата. Гликогенфосфорилаза (КФ 2.4.1.1) катализирует реакцию отщепления молекулы глюкозо-1-фосфата с невосстанавливающего конца молекулы гликогена, содержащего свободную гидроксильную группу у  $C_4$  концевого остатка глюкозы.  $\alpha$ 1,4-Гликозидная связь расщепляется с использованием остатка фосфорной кислоты, поэтому процесс распада гликогена называется фосфороллизом, а фермент — гликогенфосфорилазой\*. Фермент последовательно отрывает остатки глюкозо-1-фосфата от молекулы гликогена до тех пор, пока до точки ветвления ( $\alpha$ 1,6-гликозидной связи) не останется четыре остатка глюкозы.




В условиях *in vitro* эта реакция легко обратима, однако в клетке она протекает только в сторону образования глюкозо-1-фосфата, поскольку внутриклеточная концентрация фосфата примерно в 100 раз выше, чем концентрация глюкозо-1-фосфата. Это позволяет обеспечивать необратимость данной реакции в условиях организма. Участие неорганического фосфата в реакции энергетически выгодно для клетки, поскольку в процессе не расходуются молекулы АТФ, но при этом высвобождающаяся

\* Гликогенфосфорилаза является первым открытым аллостерическим ферментом благодаря исследованиям Карла и Герти Кори, результаты которых были впервые опубликованы в 1943 г. С учётом исторического «первенства» в литературе её иногда называют просто «фосфорилаза».

в качестве продукта реакции глюкоза уже фосфорилирована. В случае если бы остаток глюкозы высвобождался в виде свободной глюкозы, а не фосфорилированной (как это происходит под действием амило- $\alpha$ 1,6-глюкозидазы или лизосомальной кислой мальтазы), её последующее использование клеткой в гликолизе требовало бы фосфорилирования при участии гексокиназы и соответственно расхода АТФ.

Активная гликогенфосфорилаза в клетке существует в виде гомодимера, причём каждый гомодимер формирует два активных центра — по одному в каждом мономере. Каждый активный центр содержит кофермент пиридоксальфосфат. Помимо активного и аллостерического центров, гликогенфосфорилаза также содержит участок, способный ковалентно связываться с молекулой гликогена. До 70% гликогенфосфорилазы в клетке находится в связи с гликогеном и вместе с другими ферментами обмена гликогена (киназа гликогенфосфорилазы, протеинфосфатаза 1) и регуляторными гликоген-связывающими белками (GL, GM) участвует в формировании так называемых гликогеновых гранул. Существуют три изоформы гликогенфосфорилазы: мышечная (PYGM), печёночная (PYGL), и мозговая (PYGB).

#### **Болезнь МакАрдля (гликогеноз V типа)**

 Дефект мышечного изофермента гликогенфосфорилазы (мутация в гене PYGM), распространённость составляет 1:100 тыс. новорождённых. Заболевание часто манифестирует в детском возрасте, однако может оставаться недиагностированным до 30–40 лет. Клинические проявления болезни МакАрдля включают мышечную слабость, миалгию, снижение толерантности к физической нагрузке вследствие недостаточного внутриклеточного уровня глюкозы в миоцитах. В момент интенсивной мышечной нагрузки у пациентов появляются боли в мышцах, а спустя некоторое время вследствие разрушения миоцитов в моче определяется миоглобин. При этом уровень лактата в плазме крови остаётся относительно низким (вследствие отсутствия усиления анаэробного гликолиза), а концентрация аммиака — высокой (вследствие активации аденилаткиназы, необходимой для синтеза АТФ). У 90% пациентов увеличивается активность креатинфосфокиназы плазмы крови, как в состоянии покоя, так и во время физической нагрузки. У некоторых пациентов отмечается феномен «второго дыхания»: аэробные нагрузки переносятся легче через 10 мин после начала тренировки. Это связано с улучшением кровотока в мышце и «переключением» миоцитов на использование альтернативных источников энергии — глюкозы плазмы крови, ВЖК или кетоновых тел. К отдалённым осложнениям относятся почечная недостаточность, которая развивается вследствие миоглобинурии, и прогрессирующая с возрастом

атрофия мышечной ткани. Массивный рабдомиолиз может приводить к острой почечной недостаточности.

Биопсия мышечной ткани позволяет обнаружить внутриклеточные скопления гликогена, для подтверждения мутации в гене *PYGM* используют генетические методы. Лёгкие формы не требуют специфического лечения, приём креатина и углеводов-содержащих напитков за 30 мин до физической нагрузки улучшает её переносимость. Прогноз благоприятный.

#### **Болезнь Херса (гликогеноз VI типа)**

Дефект печёночного изофермента гликогенфосфорилазы (мутация в гене *PYGL*), распространённость составляет 1:65–85 тыс. новорождённых (примерно 30% всех гликогенозов). Болезнь Херса проявляется мягко выраженными симптомами, часто ограничивающимися гипогликемией, и в случае сохранения остаточной активности фермента часто остаётся не выявленной. Клинически выраженные случаи проявляются гепатомегалией, замедлением роста в раннем детском возрасте, гиперлипидемией и повышением концентрации в плазме крови кетоновых тел. Специфической терапии не требуется, пациенту рекомендуется избегать продолжительных интервалов между приёмами пищи.



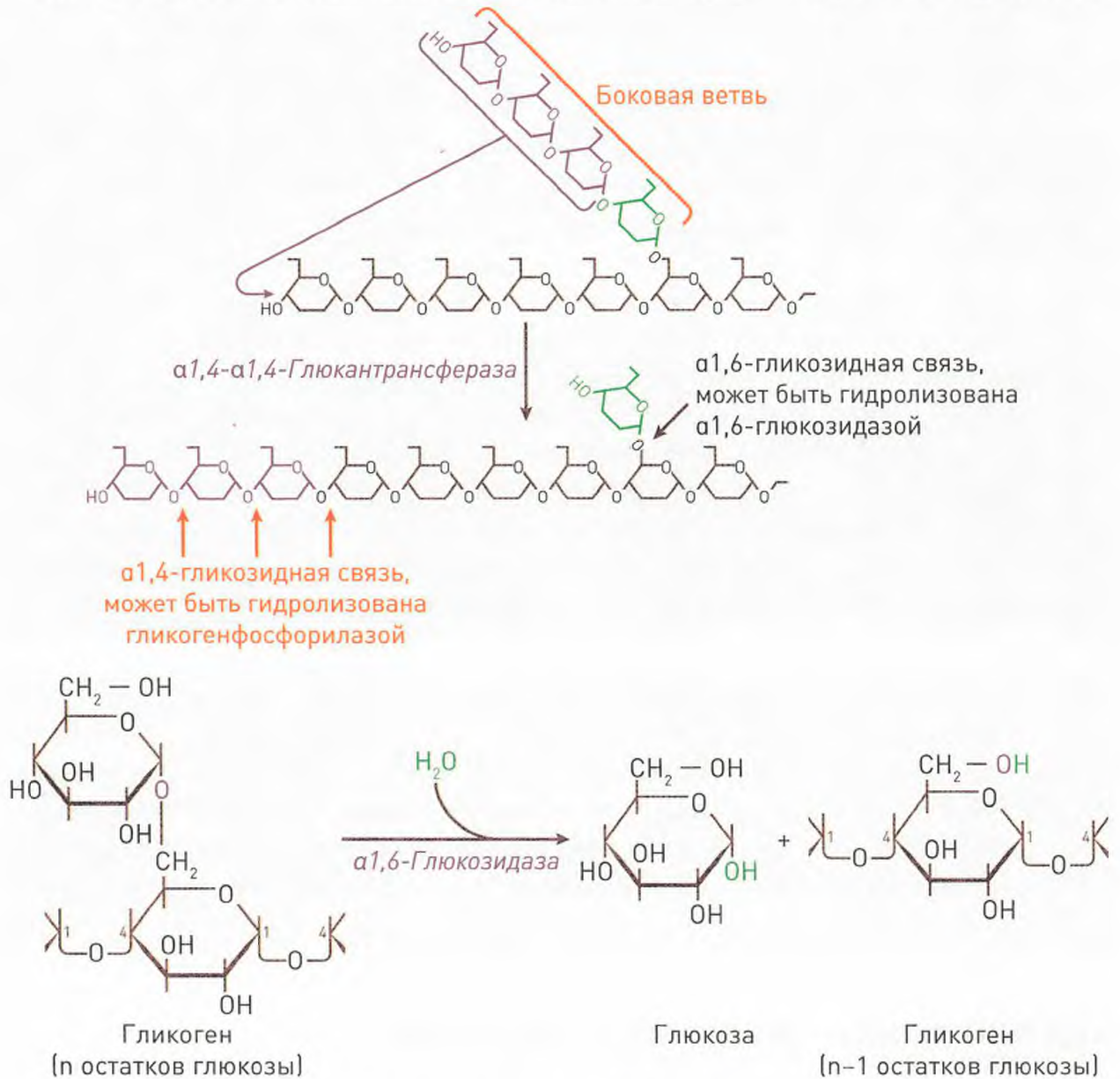
Мозговой изофермент гликогенфосфорилазы (*PYGB*) гиперэкспрессируется при ряде злокачественных опухолей (рак толстой кишки, немелкоклеточный рак лёгкого, рак желудка). *PYGB* может регулировать опухолевую прогрессию через сигнальный путь *Wnt/β-катенин*, а снижение экспрессии *PYGB* замедляет эпителиально-мезенхимальный переход и уменьшает способность опухолевой клетки к инвазии в окружающие ткани и метастазированию.

## **«Деветвление» молекулы гликогена**

Гликогенфосфорилаза может работать только с линейной цепью остатков глюкозы, расщепляя α1,4-гликозидные связи. При приближении к участку ветвления молекулы менее чем на пять остатков глюкозы её действие останавливается, и четвёртый концевой остаток она отщепить уже не может. В этом случае необходим перенос остатков глюкозы на более длинную и отщепление последнего остатка, присоединённого α1,6-гликозидной связью. В этом процессе принимают участие:

- α1,4-α1,4-глюкантрансфераза (4-α-D-глюкантрансфераза, КФ 2.4.1.25) — переносит фрагмент из трёх остатков глюкозы с боковой на основную цепь с образованием новой α1,4-гликозидной связи; при этом на прежнем месте остаётся один остаток глюкозы;

- амило- $\alpha$ 1,6-глюкозидаза (КФ 3.2.1.33) — гидролизует  $\alpha$ 1,6-гликозидную связь с высвобождением свободной (нефосфорилированной) глюкозы.




В результате этих перестановок образуется цепь без ветвлений, и гликогенфосфорилаза может продолжить свою работу.

В клетках прокариот вышеупомянутые ферменты являются отдельными белками, которые кодируются разными генами. В клетках дрожжей и млекопитающих в катализе обеих реакций участвует один и тот же белок, кодируемый геном *AGL*, и имеющий тривиальное название «деветвящий» (англ. *debranching*) фермент. «Деветвящий» фермент млекопитающих представляет собой единственный известный пример бифункционального фермента, активного в виде мономера, оба активных центра которого сформированы одной полипептидной цепью. При этом две каталитические функции этого фермента реализуются независимо друг от друга.

Помимо двух активных центров, молекула «деветвящего» фермента содержит также сайт связывания гликогена. Мутации, изменяющие конформацию активных центров, приводят к нарушению соответственно трансферазной или глюкозидазной реакции, а мутации в сайте связывания гликогена нарушают обе функции фермента.

### **Болезнь Форбса/Кори (гликогеноз III типа)**

 Врождённый дефицит «деветвящего» фермента — редкое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутацией в гене AGL. Распространённость 1:100 тыс. новорождённых, в ряде регионов существенно выше (1:3,6 тыс. новорождённых на Фарерских островах). Вследствие неспособности организма человека к полноценной мобилизации гликогена в клетках печени и/или мышц накапливается гликоген аномального строения, содержащий многочисленные короткие («обрубленные») боковые ветви гликогена, состоящие из 1–3 остатков глюкозы. У пациентов с гликогенозом IIIa (до 85% случаев) аномальный гликоген накапливается как в печени, так и в мышечной ткани, при гликогенозе типа IIIb (до 15% случаев) — только в печени. В очень редких случаях отмечается потеря только одной из двух функций фермента: изолированное снижение глюкозидазной активности (тип IIIc) или изолированное снижение трансферазной активности (тип IIId).

Заболевание дебютирует в раннем детском возрасте. Клинические симптомы напоминают гликогеноз I типа и включают гепатомегалию, гипогликемию, кардиомиопатию и мышечную слабость. Тяжесть заболевания, возраст дебюта, а также характер прогрессирования могут существенно варьировать. Повышенная активность АЛТ и АСТ на фоне нормальной концентрации лактата и мочевой кислоты плазмы крови позволяет дифференцировать гликогеноз III типа от других типов. Характерно также увеличение концентрации в крови ВЖК. У пациентов с гликогенозом IIIa преобладает мышечная слабость, которая в развитии заболевания может приводить к атрофии мышц конечностей и гипертрофии миокарда. У пациентов с гликогенозом IIIb преобладают симптомы поражения печени. Накопление аномального гликогена в печени повышает риск развития цирроза печени, аденом и гепатоцеллюлярной карциномы.

Лечение пациентов включает частое дробное питание (с приёмом на ночь термически необработанного кукурузного крахмала), высокобелковую диету (позволяет повысить интенсивность глюконеогенеза в печени), дополнительный приём глюкозы, а также витамина D для профилактики остеопороза. В отдельных исследованиях описано положительное влияние на течение заболевания кетогенной диеты. В случаях тяжёлой печёночной недостаточности показана трансплантация печени.



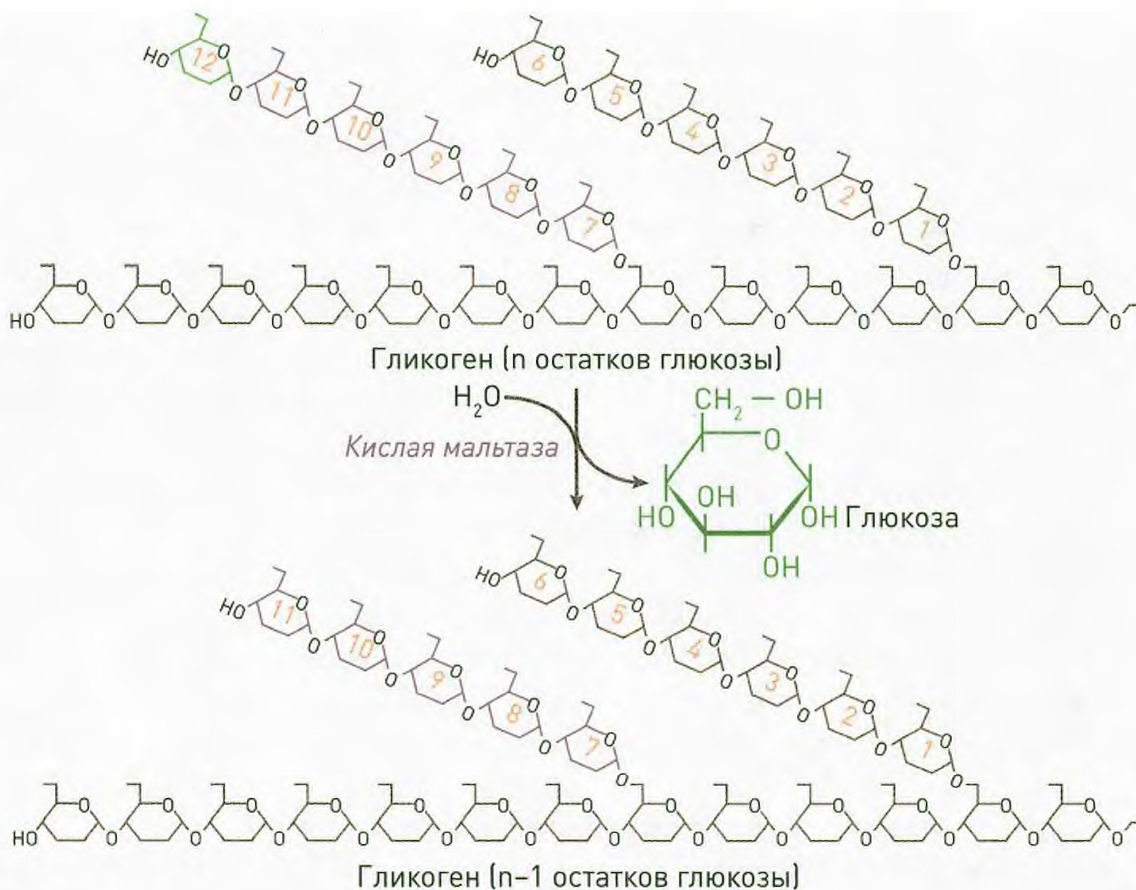
*Низкая экспрессия «деветвящего» фермента в клетках рака мочевого пузыря является отрицательным прогностическим признаком и ассоциируется с агрессивным течением заболевания.*

## **Распад гликогена в лизосомах**

Лизосомы — внутриклеточные мембранные органеллы, образуются из везикул, отделяющихся от аппарата Гольджи, или формируются путём фрагментации мембран ЭПР. В лизосомах поддерживается кислая реакция внутренней среды, которая обеспечивает оптимум pH лизосомальных гидролаз. pH в лизосомах составляет около 4,5–5,0, то есть концентрация  $H^+$  в них на два порядка выше, чем в цитоплазме. При аутофагии внутрь лизосом попадает содержимое цитоплазмы клеток, в том числе и некоторое количество гранул гликогена. Внутри лизосом гликоген гидролизуется с образованием глюкозы при участии  $\alpha$ 1,4-глюкозидазы ( $\alpha$ 1,4-глюкангидролазы, КФ 3.2.1.20, тривиальное наименование «кислая мальтаза»), которая кодируется геном *GAA*. Кислая мальтаза может гидролизовать  $\alpha$ 1,4-гликозидные связи и соответственно отщеплять концевые остатки глюкозы от молекулы гликогена в виде свободной глюкозы\*. После синтеза на рибосомах молекула кислой мальтазы подвергается существенной посттрансляционной модификации: частичному протеолизу, гликозилированию и фосфорилированию. Наличие фосфорилированного остатка маннозы в углеводной части фермента позволяет ему проникать в лизосомы.

Расщепление гликогена в лизосомах не играет существенной роли в энергетическом обмене здоровой клетки, но позволяет клетке утилизировать избыток гликогена, который по каким-либо причинам не был расщеплён гликогенфосфорилазой и «деветвящим» ферментом в цитоплазме.

\* При этом, однако, остаётся не до конца понятным, каким образом в лизосомах расщепляются  $\alpha$ 1,6-гликозидные связи и происходит деветвление молекулы гликогена. В ранних исследованиях было показано, что в лизосомах возможна полная деградация гликогена, то есть  $\alpha$ 1,6-гликозидазная активность в них присутствует, при этом было выдвинуто предположение о существовании двух различных ферментов, помимо кислой мальтазы —  $\alpha$ 1,6-гликозидазы, и  $\alpha$ 1,4-экзополиглюкозидазы (отщепляющей сразу несколько остатков глюкозы от молекулы гликогена). Однако это предположение не нашло подтверждения (гены таких ферментов не установлены, и сами ферменты не выделены). Возможно, кислая мальтаза в лизосомах способна также и способностью расщеплять  $\alpha$ 1,6-гликозидные связи, но с меньшей скоростью.



### Болезнь Помпе (гликогеноз II типа)

Врождённый дефицит кислой мальтазы, обусловленный мутацией в гене GAA, — заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, распространённость 1:40 тыс. новорождённых. Сопровождается накоплением гликогена в лизосомах, преимущественно в мышечной ткани (как в скелетных мышцах, так и в миокарде и гладкомышечных клетках). Помимо мышечных клеток, накопление гликогена в лизосомах отмечается в гепатоцитах и нейронах. Существуют две клинические формы заболевания, отличающиеся временем дебюта, а также скоростью прогрессирования. Полная потеря активности фермента приводит к ранней манифестации и более быстрому прогрессированию, в то время как частично сохранный фермент может давать бессимптомную картину в течение длительного времени.

Инfantильная форма проявляется в течение первых нескольких месяцев жизни и быстро прогрессирует, с исходом в сердечную недостаточность. Основные клинические признаки включают кардиомегалию, аритмии, увеличение размера языка (макроглоссия), снижение мышечного тонуса, респираторный дистресс-синдром. Ребёнок апатичный, с медленным развитием моторных навыков. Вследствие снижения тонуса мышц, необходимых для сосания и глотания, могут отмечаться сложности в кормлении. Вследствие снижения тонуса дыхательных мышц некоторые

пациенты используют во время вдоха/выдоха вспомогательные мышцы. В биохимическом анализе крови обнаруживается заметное увеличение активности креатинфосфокиназы при относительно небольшом повышении активности АЛТ, АСТ и ЛДГ. Для подтверждения диагноза проводят биопсию кожи или мышц и определяют внутриклеточную активность кислой мальтазы. В отсутствие лечения медиана продолжительности жизни составляет 8,7 мес, летальный исход наступает вследствие сердечно-лёгочной недостаточности. Последние недели жизни требуют постоянной искусственной вентиляции лёгких. Раннее начало (немедленно сразу после постановки диагноза) ферментозаместительной терапии может увеличивать ожидаемую продолжительность жизни в несколько раз.

Форма с поздним дебютом (взрослая) может оставаться длительное время не диагностированной, проявляется медленно прогрессирующей мышечной слабостью. Для взрослой формы нехарактерно вовлечение миокарда, среди скелетных мышц первыми поражаются мышцы нижних конечностей. Ведущими клиническими признаками выступают дыхательная недостаточность вследствие атрофии дыхательных мышц, а также рецидивирующие инфекции дыхательных путей.

Поскольку кислая мальтаза не играет важной роли в снабжении глюкозой мышцы во время физической нагрузки, активность процессов тканевого дыхания, а также окисления углеводов и ВЖК у таких пациентов не отличается от здорового человека. Внутривенное введение глюкозы не улучшает переносимость физических нагрузок.

Для лечения пациентов используются препараты рекомбинантной кислой мальтазы (алглюкозидаза альфа). Эффективность такой ферментозаместительной терапии остаётся ограниченной, и в настоящее время перспективы лечения болезни Помпе связывают с технологиями редактирования генома. Патология сердца и лёгких требует симптоматического лечения.

### **Болезнь Данон**

X-сцепленное заболевание с доминантным типом наследования, связанное с мутацией в гене LAMP2. Ген LAMP2 кодирует белок, ассоциированный с лизосомальной мембраной, который обеспечивает поглощение лизосомами аутофагосом (аутофагических вакуолей), и соответственно перенос содержимого цитоплазмы, в том числе гранул гликогена, в лизосомы. Клинические проявления включают гипертрофию миокарда и миопатию. В большинстве случаев у мальчиков заболевание протекает намного тяжелее, чем у девочек.

### **Алглюкозидаза альфа**



Препарат одобрен FDA\* в 2006 г. (Майозайм®), представляет рекомбинантную кислую мальтазу, которая продуцируется клетками яичника китайских хомячков. Ферментозаместительная терапия увеличивает общую выживаемость пациентов с инфантильной формой болезни Помпе и продлевает время жизни без потребности в искусственной вентиляции лёгких. Алглюкозидаза альфа стабилизирует функцию миокарда и скелетных мышц, включая дыхательные мышцы. Препарат вводят внутривенно 1 раз в 2 нед пожизненно. У некоторых пациентов могут образовываться антитела к ферменту, что существенно снижает эффективность лечения.

В 2021 г. ЕМА\* выдано положительное заключение о регистрации ещё одного рекомбинантного препарата кислой мальтазы — авалглюкозидаза альфа (Nexviadyme®), в России он не зарегистрирован.

## **Регуляция распада гликогена**

Поскольку накопление и мобилизация гликогена — взаимно противоположные по биологической сути процессы, в организме человека они контролируются реципрочно. Наибольшее влияние на изменение активности двух ключевых ферментов — гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы оказывает их фосфорилирование/дефосфорилирование под действием гормонов.

Во время мышечной работы адреналин вызывает фосфорилирование внутримышечных ферментов обмена гликогена. В результате гликогенфосфорилаза активируется, гликогенсинтаза инактивируется. В мышце происходит распад гликогена, образующийся глюкозо-6-фосфат используется для обеспечения энергией мышечного сокращения.

При голодании в ответ на снижение уровня глюкозы плазмы крови островковыми  $\alpha$ -клетками поджелудочной железы секретируется глюкагон. Он связывается с рецепторами в гепатоцитах и, как и адреналин, стимулирует фосфорилирование ферментов (как гликогенфосфорилазы, так и гликогенсинтазы), что активирует гликогенолиз и приводит к повышению концентрации глюкозы в крови.

Интенсивность процесса распада гликогена лимитирована только скоростью работы гликогенфосфорилазы. Активная гликогенфосфорилаза представляет собой гомодимер, содержащий, помимо двух активных центров (по одному на каждый мономер), сайт связывания гликогена,

\* FDA (Food and Drugs Administration) — Управление по контролю за оборотом пищевых продуктов и лекарственных препаратов США; ЕМА (European Medicines Agency) — Европейское агентство, регулирующее обращение лекарственных средств.

аллостерические сайты и регуляторные остатки серина, которые могут фосфорилироваться, наиболее важным из которых является Сер-14.

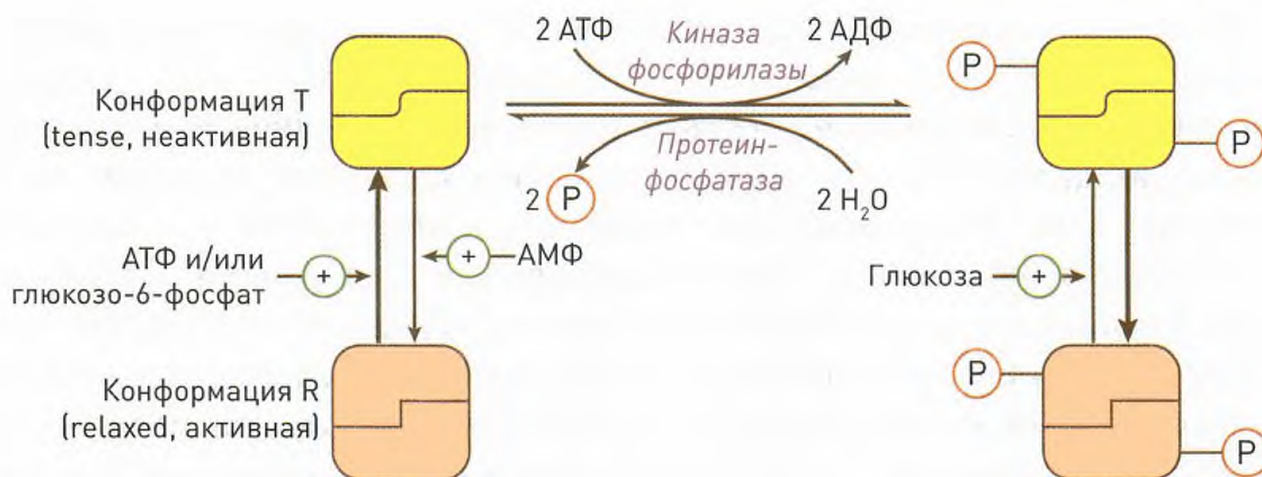
Скорость работы гликогенфосфорилазы регулируется путём:

- обратимого фосфорилирования/дефосфорилирования;
- аллостерической активации;
- диссоциации/ассоциации мономеров.

Гликогенфосфорилаза может принимать различные конформации — *a* и *b* (в зависимости от наличия остатков фосфорной кислоты на сайтах фосфорилирования, *a* — активная конформация), а также R и T [при связывании аллостерических активаторов, например, АМФ, гликогенфосфорилаза переходит из менее активного состояния T (tense) в более активное R (relaxed)]. В состоянии T активные центры фермента находятся в частично закрытом состоянии и менее охотно взаимодействуют с субстратом. Как фосфорилаза *a*, так и фосфорилаза *b* могут находиться в конформациях R и T, однако в равновесных условиях неактивная фосфорилаза *b* чаще принимает конформацию T (неактивную), а активная фосфорилаза *a*, как правило, находится в конформации R (активной). Фосфорилирование/дефосфорилирование и соответственно превращение фосфорилазы *b* в фосфорилазу *a* и наоборот возможно только в конформации T (рис. 8.1).

Реакция фосфорилирования катализируется киназой фосфорилазы (киназой гликогенфосфорилазы). Скорость фосфорилирования гликогенфосфорилазы повышается под действием адреналина, глюкагона и некоторых других гормонов. В результате адреналин и глюкагон стимулируют распад гликогена (гликогенолиз). Обратная реакция дефосфорилирования гликогенфосфорилазы, приводящая к её инактивации, катализируется протеинфосфатазой 1.

Активность гликогенфосфорилазы печени и гликогенфосфорилазы мышц регулируется по-разному. Гликогенфосфорилаза мышц «по умолчанию» находится в неактивной конформации *b*, активируясь только при мышечных сокращениях, чтобы восполнить дефицит глюкозы в миоцитах. Мышечная изоформа гликогенфосфорилазы имеет аллостерический центр для связывания АМФ, который активирует фермент, переводя его в активную конформацию R. В отсутствие АМФ с аллостерическим центром может связываться АТФ или глюкозо-6-фосфат, сигнализируя о достаточном уровне субстратов для получения энергии в клетке и приостанавливая гликогенолиз. Так, в состоянии покоя мышцы высокие концентрации АТФ и глюкозо-6-фосфата поддерживают гликогенфосфорилазу в неактивной T конформации.



**Рис. 8.1.** Гликогенфосфорилаза может существовать в виде каталитически неактивной конформации Т (tense) или активной R (relaxed). Переход между двумя этими конформациями в случае фосфорилазы *b* (дефосфорилированной) контролируется аллостерическими ингибиторами АТФ, глюкозо-6-фосфатом или аллостерическим активатором АМФ. «По умолчанию» фосфорилаза *b* стремится принять неактивную конформацию Т. Напротив, фосфорилаза *a* (фосфорилированная) не отвечает на аллостерическую регуляцию с участием этих эффекторов и «по умолчанию» находится в активной конформации R. Однако при повышении внутриклеточной концентрации глюкозы фосфорилаза *a* инактивируется. Дефосфорилирование и, соответственно, превращение фосфорилазы *a* в фосфорилазу *b* возможно только в конформации Т.

В отличие от мышечной изоформы, гликогенфосфорилаза в печени не имеет аллостерического центра связывания АМФ. Гликогенфосфорилаза печени «по умолчанию» находится в активном состоянии (фосфорилаза *a*), что позволяет гепатоциту поддерживать концентрацию глюкозы плазмы крови. В условиях избытка глюкозы (например, в абсорбтивном периоде) нет нужды в расщеплении гликогена печени, и свободная глюкоза, связываясь с гликогенфосфорилазой, переводит её в неактивное состояние Т.

Существуют и другие, менее изученные механизмы регуляции активности гликогенфосфорилазы. Например, активность фермента может снижаться путём ацетилирования под влиянием высокой концентрации глюкозы или инсулина. Ацетилирование повышает способность гликогенфосфорилазы к взаимодействию с протеинфосфатазой 1, облегчая её дефосфорилирование.

### Киназа гликогенфосфорилазы

Киназа гликогенфосфорилазы (киназа фосфорилазы, PhK, КФ 2.7.11.19) — серин/треонин-специфическая протеинкиназа, активирующая гликогенфосфорилазу путём фосфорилирования. Киназа гликогенфосфорилазы присоединяет остатки фосфорной кислоты к двум остаткам серина, стимулируя изменение конформации гликогенфосфорилазы на активную (фосфорилаза *a*).

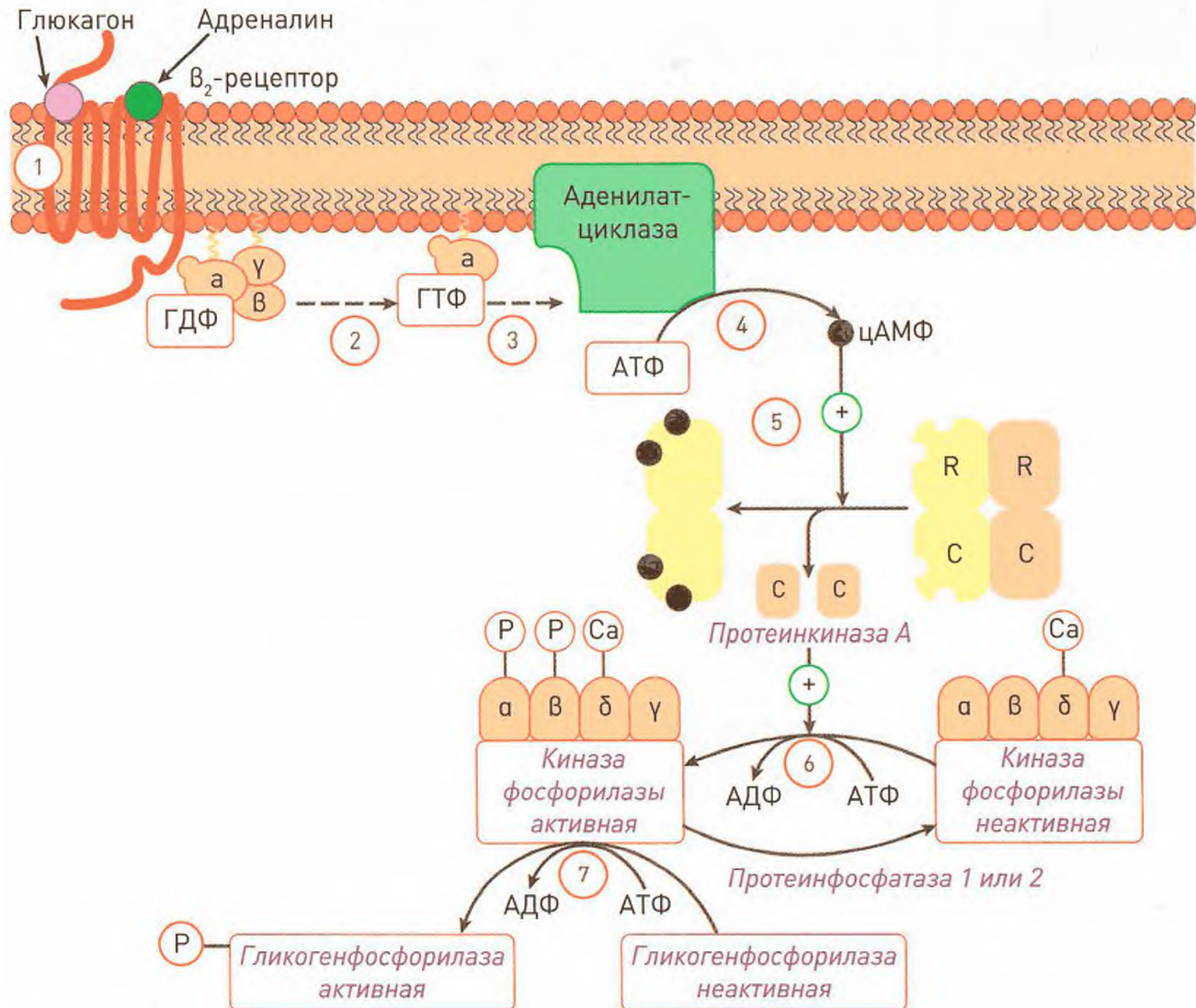
Киназа гликогенфосфорилазы представляет собой гексадекамер  $(\alpha\beta\gamma\delta)_4$ , то есть гомотетрамер, каждый из мономеров которого, в свою очередь, состоит из четырёх различных субъединиц ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$ ). Активный центр фермента находится на  $\gamma$ -субъединице, остальные субъединицы играют регуляторную роль. Фосфорилирование отдельных аминокислотных остатков  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц киназы гликогенфосфорилазы при участии протеинкиназы А приводит к повышению её активности.  $\delta$ -Субъединица представляет собой кальмодулин и обеспечивает чувствительность фермента к изменению внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ . При повышении цитоплазматической концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  выше  $10^{-7}$  М кальмодулин связывает четыре иона  $\text{Ca}^{2+}$  и стабилизирует четвертичную структуру киназы гликогенфосфорилазы в активной конформации. Максимальная активность киназы фосфорилазы гликогена наблюдается, когда  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы фосфорилированы, а  $\delta$ -субъединица находится в связи с четырьмя ионами  $\text{Ca}^{2+}$ .

$\alpha$ -Субъединица киназы гликогенфосфорилазы существует в виде двух изоферментов, кодируемых двумя различными генами, *PHKA1*, и *PHKA2*, оба из которых локализуются на X-хромосоме.  $\beta$ -Субъединица кодируется геном *PHKB*, в ходе альтернативного сплайсинга которого образуются разные сплайс-варианты, характерные преимущественно для мышечной, печёночной и мозговой ткани.  $\gamma$ -Субъединица киназы гликогенфосфорилазы имеет две изоформы, кодируемых генами *PHKG1* и *PHKG2*, которые экспрессируются преимущественно в мышцах и в печени, соответственно. Кальмодулин в организме человека кодируется тремя различными генами, *CALM1*, *CALM2* и *CALM3*.

Киназа гликогенфосфорилазы активируется в ответ на повышение внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и цАМФ. В мышечных клетках фосфорилирование  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц происходит в результате активации аденилатциклазной сигнальной системы при связывании адреналина с  $\beta$ -адренорецепторами. Особое значение имеет активация гликогенфосфорилазы при участии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которые, высвобождаясь из ЭПР, стимулируют также мышечные сокращения. В клетках печени аденилатциклазная система активируется как адреналином, так и глюкагоном. Адреналин также при связывании с  $\alpha$ -адренорецепторами активирует фосфатидилинозитолфосфатную сингальную систему, повышая внутриклеточную концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$ .

В случае когда клетке необходимо остановить распад гликогена (при окончании интенсивной физической работы в мышечных клетках или при восстановлении уровня глюкозы плазмы крови за счёт пищевой глюкозы),

$\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы киназы гликогенфосфорилазы дефосфорилируются протеинфосфатазами 1 и 2, возвращая фермент в исходное неактивное состояние (рис. 8.2, 8.3).



**Рис. 8.2.** Регуляция активности гликогенфосфорилазы глюкагоном и адреналином (через  $\beta_2$ -адренорецепторы).

- 1 Молекула гормона (адреналин, глюкагон) взаимодействует со своим рецептором. Адреналин запускает процесс распада гликогена в мышцах и, в меньшей степени, в печени. Глюкагон активирует гликогенолиз в печени, клетки мышечной ткани к его действию нечувствительны.
- 2 Гормон-рецепторный комплекс активирует  $G_s$ -белок.  $\alpha$ -Субъединица  $G_s$ -белка отделяется, ГДФ заменяется на ГТФ.
- 3  $\alpha$ -Субъединица  $G_s$ -белка активирует аденилатциклазу.
- 4 Аденилатциклаза превращает АТФ в цАМФ.
- 5 цАМФ аллостерически активирует протеинкиназу А.
- 6 Протеинкиназа А фосфорилирует киназу гликогенфосфорилазы (сначала  $\beta$ -, затем  $\alpha$ -субъединицу), что приводит к её активации.
- 7 Киназа гликогенфосфорилазы фосфорилирует неактивную гликогенфосфорилазу (фосфорилазу  $\beta$ ) по остатку Сер-14, которая принимает активную конформацию — фосфорилаза  $\alpha$ . Активная фосфорилаза  $\alpha$  отщепляет остатки глюкозо-1-фосфата от молекулы гликогена, активируя процесс его распада.

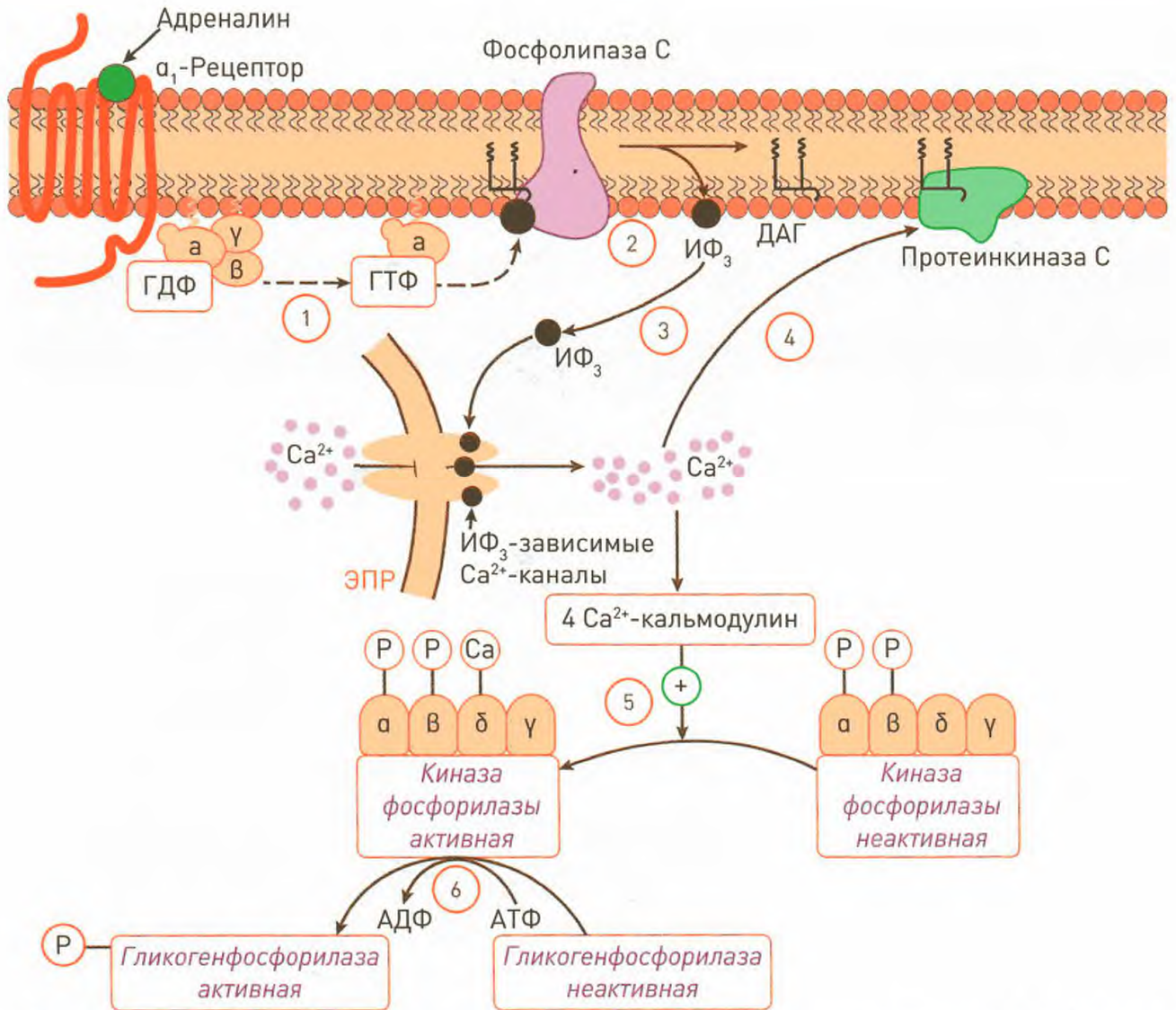


Рис. 8.3. Регуляция активности гликогенфосфорилазы адреналином (через  $\alpha_1$ -адренорецепторы).

- 1 Взаимодействие адреналина с  $\alpha_1$ -адренорецептором изменяет конформацию рецептора. В результате взаимодействия гормона с рецептором  $G_q$ -белок диссоциирует, одновременно на  $\alpha$ -субъединице ГДФ заменяется на ГТФ.
- 2 Активированная  $\alpha$ -субъединица (связанная с ГТФ) активирует фосфолипазу C, которая расщепляет фосфатидилинозитолбисфосфат на инозитолтрифосфат и диацилглицерол (ДАГ).
- 3 Инозитолтрифосфат открывает инозитолтрифосфат-зависимые  $Ca^{2+}$ -каналы в мембране ЭПР, что приводит к повышению внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ .
- 4 Выброс  $Ca^{2+}$  в цитоплазму приводит к связыванию  $Ca^{2+}$  с протеинкиназой C, которая перемещается к мембране, где связывается с ДАГ и активируется.
- 5 При повышении цитоплазматической концентрации ионов  $Ca^{2+}$  выше  $10^{-7}$  М кальмодулин связывает четыре иона  $Ca^{2+}$  и стабилизирует четвертичную структуру киназы гликогенфосфорилазы в активной конформации. Кальмодулин, связанный с  $Ca^{2+}$ , активирует кальмодулин-зависимую протеинкиназу, которая, в свою очередь, фосфорилирует (инактивирует) гликогенсинтазу.
- 6 Киназа гликогенфосфорилазы фосфорилирует неактивную гликогенфосфорилазу (фосфорилазу b) по остатку Ser-14, которая принимает активную конформацию — фосфорилаза a. Активная фосфорилаза a отщепляет остатки глюкозо-1-фосфата от молекулы гликогена, запуская гликогенолиз.

Мутации в генах, кодирующих соответствующие субъединицы киназы гликогенфосфорилазы, приводят к снижению активности фермента и, следовательно, нарушают процесс распада гликогена в клетках. Мутации в гене *РНКА1*, кодирующем  $\alpha$ -субъединицу киназы гликогенфосфорилазы миоцитов, приводят к недостаточности фермента в мышечной ткани (гликогеноз VIII типа). Мутации в генах *РНКА2*, *РНKB* и *РНKG2* приводят к патологическим вариантам накопления гликогена, объединённым в группу гликогенозов IX типа [IXa, IXb и IXc соответственно (табл. 8.1)].

**Таблица 8.1.** Гликогенозы, обусловленные мутациями в генах различных субъединиц киназы гликогенфосфорилазы

Субъединица киназы гликогенфосфорилазы	Гены, изоформы	Дефицит
$\alpha$	<i>РНКА1</i>	Гликогеноз VIII типа
	<i>РНКА2</i>	Гликогеноз IXa типа
$\beta$	<i>РНKB</i>	Гликогеноз IXb типа
$\gamma$	<i>РНKG1</i> (мышечная)	Не описан
	<i>РНKG2</i> (печёночная)	Гликогеноз IXc типа
$\delta$ (кальмодулин)	<i>CALM1</i> , <i>CALM2</i> и <i>CALM3</i>	Не описан

#### **Гликогеноз VIII типа**

Врождённый дефицит киназы гликогенфосфорилазы миоцитов, обусловленный мутацией в гене *РНКА1*, кодирующей  $\alpha$ -субъединицу. Ультраредкое заболевание с X-сцепленным типом наследования. Проявляется, как правило, мягкой миопатией с накоплением гликогена в мышцах и незначительным увеличением активности креатинфосфокиназы плазмы крови. В некоторых случаях описаны нарушения когнитивных функций.

#### **Гликогеноз IXa типа**

Врождённый дефицит киназы гликогенфосфорилазы печени, обусловленный мутацией в гене *РНКА2*, кодирующей  $\alpha$ -субъединицу. Ультраредкое заболевание с X-сцепленным типом наследования. Проявляется гипогликемией в постабсорбтивном периоде на фоне повышения в плазме крови концентрации кетоновых тел. Характерны увеличение размеров печени (гепатомегалия) и задержка роста. Тяжесть клинических проявлений существенно варьирует. Для лечения используется частое дробное питание (в ночной период — термически необработанный кукурузный крахмал)

и высокобелковая диета (позволяет «переключить» организм пациента на использование неуглеводных источников энергии).

### **Гликогеноз IXb типа**

Врождённый дефицит киназы гликогенфосфорилазы печени, обусловленный мутацией в гене *PNKB*, кодирующей  $\beta$ -субъединицу. Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, сопровождающееся нарушением распада гликогена как в мышечной ткани, так и в печени. Как правило, протекает относительно доброкачественно, сопровождается гипогликемией в постабсорбтивном периоде, гепатомегалией и снижением мышечного тонуса.

### **Гликогеноз IXc типа**

Врождённый дефицит киназы гликогенфосфорилазы печени, обусловленный мутацией в гене *PNKG2*, кодирующей  $\gamma$ -субъединицу. Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, характеризующееся широким спектром возможных клинических вариантов. В лёгкой форме отмечается гипогликемия, в тяжёлых случаях возможен фиброз печени с прогрессированием в цирроз и летальным исходом в раннем детском возрасте. У отдельных пациентов повышен риск развития опухолей печени.

## **«Сенсор глюкозы» в печени**

После приёма пищи прекращается секреция глюкагона и соответственно стимуляция внутриклеточных сигнальных путей, идущих от его рецепторов. По прошествии времени молекула ГТФ, связанная с  $\alpha$ -субъединицей  $G_s$ -белка, гидролизуется с образованием ГДФ, что сопровождается его инактивацией. Присутствующие постоянно в клетке фосфодиэстеразы превращают цАМФ в АМФ, снижая концентрацию цАМФ и тем самым инактивируя протеинкиназу А.

Одновременно с этим инсулин активирует протеинфосфатазу 1. Протеинфосфатаза 1 дефосфорилирует гликогенфосфорилазу, возвращая её в неактивное состояние, а также дефосфорилирует гликогенсинтазу, что запускает обратный процесс синтеза гликогена (рис. 8.4). Активация протеинфосфатазы 1 происходит в результате фосфорилирования, которое катализируется специ-



Рис. 8.4. «Переключение» распада и синтеза гликогена при введении глюкозы.

фической протеинкиназой, которая, в свою очередь, активируется инсулином через сигнальный путь Ras.

После приёма пищи, содержащей большое количество углеводов, концентрация глюкозы плазмы крови повышается, что сопровождается активацией синтеза гликогена в печени. Этот процесс происходит в основном благодаря выбросу инсулина островковыми  $\beta$ -клетками поджелудочной железы, который, однако, занимает довольно много времени (с задержкой до 10 мин после повышения концентрации глюкозы плазмы крови). Более быстрая реакция гепатоцитов в ответ на повышение концентрации глюкозы возможна благодаря наличию «сенсорного» механизма, основным элементом которого служит гликогенфосфорилаза. Эксперименты на животных показали, что внутривенное введение глюкозы приводит к почти моментальному снижению активности гликогенфосфорилазы и последующему увеличению активности гликогенсинтазы.

Гликогенфосфорилаза, киназа гликогенфосфорилазы и протеинфосфатаза 1 находятся в непосредственной близости к гранулам гликогена и связаны с ними при помощи регуляторных гликогенсвязывающих белков (GL, GM и др.). Два фермента — гликогенфосфорилаза и протеинфосфатаза 1 находятся в тесной связи друг с другом до тех пор, пока гликогенфосфорилаза сохраняет активную конформацию R, при этом протеинфосфатаза 1 остаётся неактивной. Связывание глюкозы гликогенфосфорилазой меняет её конформацию на неактивную (состояние T). Такое изменение конформации, а также стимулированное инсулином фосфорилирование регуляторных гликогенсвязывающих белков приводит к диссоциации белков из комплекса и открывает остаток фосфорной кислоты, присоединённый к Сер-14, для протеинфосфатазы 1. Протеинфосфатаза 1 катализирует дефосфорилирование гликогенфосфорилазы, переводя её из активного состояния *a* в неактивное состояние *b*.

Одновременно с этим протеинфосфатаза 1 активирует гликогенсинтазу, и запускается процесс синтеза гликогена. Нахождение протеинфосфатазы 1 в комплексе с гликогенфосфорилазой *a* предупреждает преждевременную активацию гликогенсинтазы.

## **Тренированность мышц и распад гликогена**

Глюкозо-6-фосфат, образующийся при мобилизации гликогена, является основным источником энергии для мышечного сокращения при высокоинтенсивных физических нагрузках. В экспериментах на биоптатах мышечной ткани, полученных от здоровых добровольцев, было показано,

что после интенсивной тренировки на велотренажёре количество гликогена в мышечной ткани существенно снижается. Переносимость мышцами физической нагрузки напрямую связана с уровнем содержания гликогена, а мышечная усталость ощущается, когда запасы гликогена истощаются.

Предшествующий опыт физических нагрузок (тренированность) существенно повышает способность мышечной ткани запасать гликоген, увеличивая потенциальную ёмкость доступного резерва гликогена в миоцитах. В тренированной мышце запас гликогена после физической нагрузки восстанавливается быстрее и иногда даже достигает уровня более высокого, чем был до мышечной работы. Кроме того, регулярные тренировки снижают скорость мобилизации гликогена при повторной физической нагрузке, стимулируя миоциты использовать альтернативные источники энергии, в частности ВЖК. Как следствие, у регулярно тренирующихся спортсменов запас гликогена в мышцах в среднем выше, чем у здоровых, но физически нетренированных людей.

Регулярные умеренные тренировки могут улучшать мышечные функции у пациентов с гликоgenoзами, сопровождающимися поражением скелетных мышц, например, при болезни Помпе и болезни МакАрдля (гликоgenoзы II и V типов). Они повышают способность миоцитов окислять ВЖК и снижают зависимость клетки от процесса распада гликогена как источника энергии.

## Рекомендуемая литература

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt.* Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.

*David L. Nelson, Michael M. Cox.* Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

*Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer.* Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.

*Michael King.* Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.

*Кольман Я., Рём К.-Г.* Наглядная биохимия. 7-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2021, 509 с.

Биохимия. Под ред. Е.С. Северина. 5-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020, 768 с.

## Задания для обсуждения



25-летний мужчина в анамнезе отмечал слабость и мышечные боли, нарастающие при физической нагрузке. Футбольная игра спровоцировала острую мышечную боль, которая не давала ему уснуть ночью, наутро он заметил потемнение мочи. Врач заподозрил гликогеноз V типа (болезнь МакАрдла) и назначил для подтверждения диагноза тредмил-тест (интенсивный бег на беговой дорожке при дыхании газовой смесью со сниженным содержанием кислорода).

- А. Какие симптомы могут быть у пациента при проведении тредмил-теста? Как будет при этом изменяться уровень лактата в плазме крови?
- Б. Какие изменения количества или строения гликогена можно ожидать при биопсии мышцы и биопсии печени при гликогенозе V типа?
- В. С дефицитом какого фермента связан гликогеноз V типа?
- Г. Какие соединения могут использоваться в качестве альтернативных источников энергии при гликогенозе V типа мышечной ткани, и откуда мышечная ткань может их получить?



Родители привели к педиатру 6-летнюю девочку с жалобами на выраженные мышечные боли после физической нагрузки. Наряду с болью в мышцах после бега или активных командных игр у девочки появляется тошнота, а моча иногда окрашивается в красноватый цвет (из-за разрушения мышечной ткани и миоглобинурии). По данным биохимического анализа крови повышена активность креатинфосфокиназы (свидетельствует о патологии мышечной ткани). Врач предположил врождённый дефицит обмена гликогена и назначил дополнительное обследование.

- А. Между какими двумя типами гликогенозов следует проводить дифференциальную диагностику, учитывая симптомы у девочки?
- Б. Какие рекомендации следует дать родителям девочки по её питанию? Какие из этих рекомендаций будут общими для обоих типов гликогенозов, а какие будут отличаться?
- В. Какой из типов гликогенозов имеет лучший прогноз?



8-месячная девочка поступила в реанимационное отделение с прогрессирующей мышечной слабостью, гипотрофией (расстройство питания и нарушение набора массы тела). При обследовании были выявлены увеличение размеров печени и сердца, увеличение языка. На фоне прогрессирующей сердечно-лёгочной недостаточности была взята биопсия, выявлено накопление гликогена типичного строения в лизосомах клеток печени и скелетных мышц.

- А. Какой диагноз можно поставить ребёнку по данным клинического осмотра, биохимических анализов и биопсии?
- Б. Дефицит какого фермента наиболее вероятен у девочки?
- В. Какие связи в молекуле гликогена расщепляет этот фермент?
- Г. Какие варианты лечения можно предложить? Каков прогноз заболевания?



На профилактический осмотр педиатра родители привели 6-летнюю девочку. Она немного отстаёт в росте и наборе массы тела по сравнению со сверстниками, при осмотре выявлена гепатомегалия. Биохимический анализ крови показал гипогликемию, незначительное повышение активности АЛТ и АСТ, а также незначительную гиперлипидемию (последние три факта свидетельствуют о патологии печени). Врач предположил у девочки болезнь Херса (гликогеноз VI типа), рекомендовал увеличить количество углеводов в рационе и увеличить число приёмов пищи в сутки.

- А. С дефицитом какого фермента связана типичная форма гликогеноза VI типа?
- Б. Какой тип связей в молекуле гликогена расщепляет этот фермент?
- В. Корректны ли рекомендации врача? Поясните ответ.
- Г. Какой прогноз имеет этот тип гликогеноза?



Родители привезли к врачу 2-летнюю девочку с задержкой роста и замедленной прибавкой массы тела. При физикальном обследовании выявлена гепатомегалия, в биохимическом анализе крови — гипогликемия натощак. Внутривенное введение фруктозы повысило концентрацию глюкозы в плазме крови. Биопсия печени показала повышенное накопление гликогена с атипичной структурой: в местах ветвления вместо цепочки углеводов наблюдались единичные остатки глюкозы.

- А. Опишите строение гликогена: из каких мономеров он состоит, какими связями они соединены между собой, как часто на основной цепи могут появляться ответвления?
- Б. С дефицитом какого фермента может быть связано накопление аномального гликогена в печени у ребёнка? Какому типу гликогеноза это соответствует?
- В. Какие связи в молекуле гликогена расщепляет этот фермент?



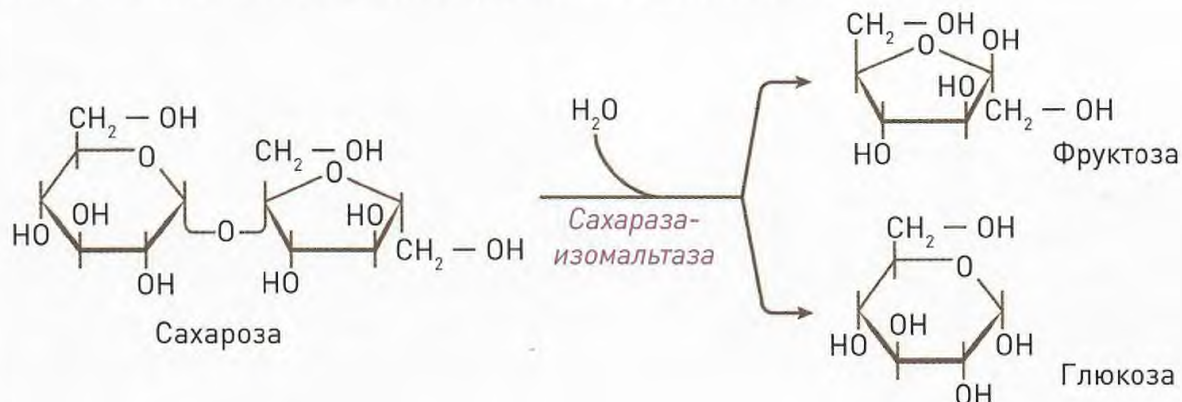
Упитанная учительница физики Авдотья Арамовна и стройная подкачанная учительница химии Аграфена Аскольдовна повстречали злую голодную собаку Баскервилей. За счёт учительниц собака хотела бы пополнить запасы гликогена. Собака рассчитала, что шансов догнать Авдотью Арамовну у неё больше, но усомнилась в том, что Авдотья Арамовна содержит достаточное количество гликогена. С другой стороны, Аграфена Аскольдовна содержит больше гликогена, но в процессе погони за ней может его весь растерять. Вам известно, что за 1 ч до встречи с собакой Авдотья Арамовна плотно позавтракала, а Аграфена Аскольдовна пришла на встречу натощак. Вам нужно помочь собаке сделать правильный выбор.

- А. Какие процессы обмена гликогена преобладают в организме Авдотьи Арамовны и Аграфены Аскольдовны перед встречей с собакой?
- Б. В каких частях тела Авдотьи Арамовны и Аграфены Аскольдовны содержится гликоген?
- В. Почему собака предполагает, что в процессе погони запасы гликогена Аграфены Аскольдовны иссякнут? Как долго голодной собаке нужно бегать за Аграфеной Аскольдовной, чтобы запасы гликогена у неё полностью иссякли?

# 9

Обмен фруктозы

**Фруктоза** — второй по значимости после глюкозы моносахарид, который человек усваивает с пищей. В среднем с едой человек получает около 55 г фруктозы в сутки, преимущественно в виде сахарозы, которая гидролизуется в тонкой кишке при участии сахаразы-изомальтазы. Фруктоза попадает в энтероциты при участии специфического транспортёра GLUT-5 и может использоваться организмом человека, как и глюкоза, для окисления с целью получения энергии. При избытке фруктозы в рационе она всасывается не полностью и выделяется с каловыми массами.



В отличие от глюкозы, которая используется всеми клетками организма человека, пищевая фруктоза метаболизируется почти исключительно в печени, а продукты её метаболизма используются для синтеза глюкозы (и затем гликогена) и ТАГ. Часть фруктозы включается в реакции гликолиза с образованием пирувата и лактата. Фруктоза, в отличие от глюкозы, не стимулирует секрецию инсулина, и захват фруктозы клетками от инсулина не зависит.

## Образование фруктозо-1-фосфата

Среди имеющихся у человека изоформ гексокиназ в клетках печени экспрессируется преимущественно глюкокиназа (гексокиназа IV типа), которая практически не способна фосфорилировать фруктозу ( $K_m=12$  мМ). Однако в гепатоцитах существует также специфический фермент фруктокиназа (кетогексокиназа, КФ 2.7.1.4), который кодируется геном *КНК*. Фруктокиназа обладает высоким сродством к фруктозе ( $K_m=0,5$  мМ) и катализирует фосфорилирование фруктозы при участии АТФ с образованием фруктозо-1-фосфата. Как и в случае с глюкозой, образование фосфорилированной формы фруктозы «запирает» её в клетке и позволяет использовать только для дальнейших внутриклеточных превращений.



### Эссенциальная фруктозурия

Наследственное заболевание, обусловленное мутациями гена *КНК*, приводит к дефициту фруктокиназы, встречается с частотой не менее 1:30 тыс. новорождённых. Ожидаемая распространённость может быть существенно выше, поскольку заболевание протекает бессимптомно и может оставаться недиагностированным.

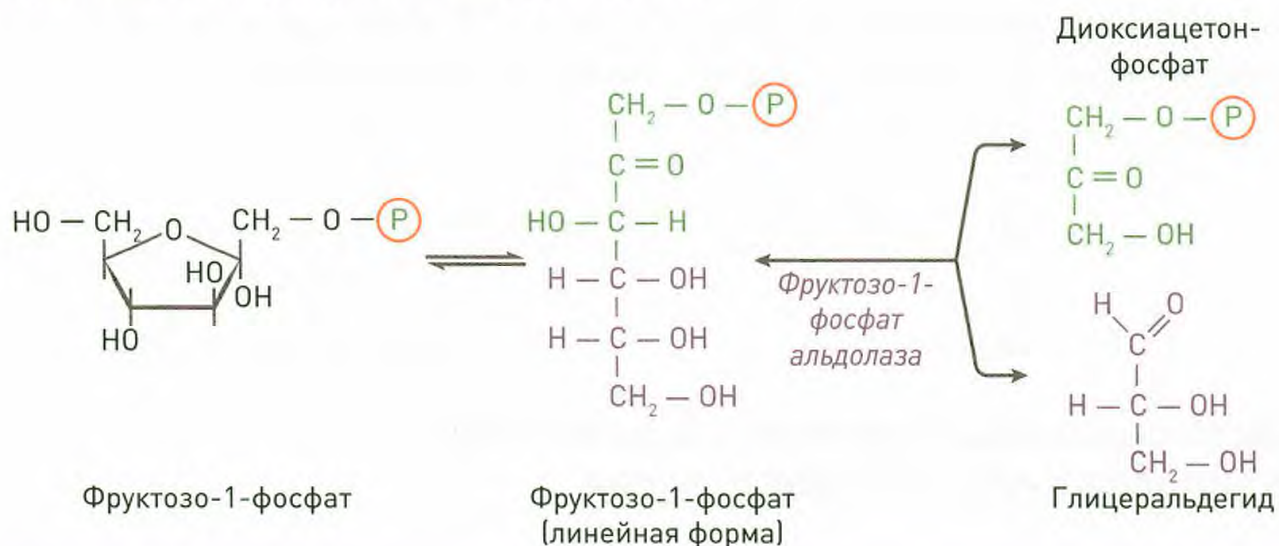
Отсутствие фруктокиназы приводит к неспособности гепатоцитов фосфорилировать фруктозу. Как следствие, фруктоза может свободно выходить через мембрану гепатоцита наружу и не может использоваться в метаболических превращениях. У таких пациентов после приёма с пищей фруктосодержащих продуктов (фруктоза, сорбитол, сахароза) отмечается выраженное повышение концентрации фруктозы в плазме крови. Незначительная часть фруктозы может утилизироваться в клетках мышечной или жировой ткани при участии гексокиназы. Избыток фруктозы удаляется с мочой (фруктозурия). Диагноз обычно устанавливается случайно — после обнаружения сахаров в моче в ходе диспансеризации. Дифференциальную диагностику проводят с сахарным диабетом. Клинических проявлений, как правило, нет, прогноз благоприятный.

Ввиду низкой  $K_m$  фруктокиназы образование фруктозо-1-фосфата в гепатоцитах происходит существенно быстрее, чем он может расщепляться альдолазой на триозы. Как следствие, избыток фруктозы и затем фруктозо-1-фосфата создаёт дефицит свободных фосфатов в гепатоците. Это, в свою очередь, замедляет внутриклеточные процессы, требующие

участия фосфатов в качестве субстратов (например, процесс распада гликогена). По этой причине фруктозу нельзя использовать для внутривенного введения с целью восполнения дефицита углеводов.

## Альдолаза В

Альдолаза (КФ 4.1.2.13) — фермент, катализирующий четвёртую реакцию гликолиза с образованием из фруктозо-1,6-бисфосфата двух фосфорилированных триоз. В гепатоцитах, клетках почек и тонкой кишки преобладает изофермент альдолаза В (фруктозо-1-фосфатальдоза), который может использовать в качестве субстрата как фруктозо-1,6-бисфосфат (в гликолизе), так и фруктозо-1-фосфат (в процессе метаболизма фруктозы). Фруктозо-1-фосфат при участии альдолазы В превращается в диоксиацетонфосфат и глицеральдегид.



### Врождённое нарушение толерантности к фруктозе

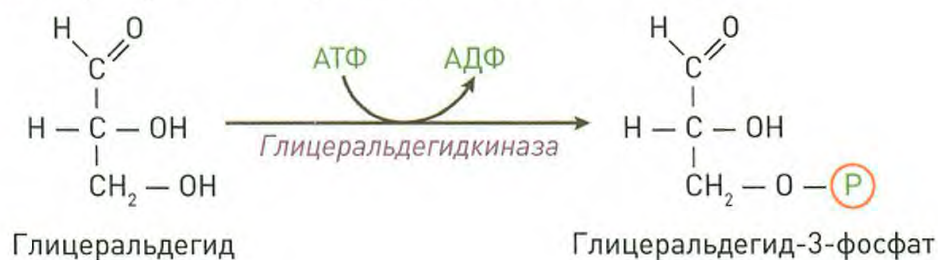
Наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловлено мутациями в гене альдолазы В (ALDOB). Встречается с частотой 1:20–30 тыс. новорождённых. При дефиците альдолазы В клетка не может использовать фруктозо-1-фосфат, накопление которого истощает запасы внутриклеточных свободных фосфатов, что приводит в конечном итоге к истощению запаса АТФ. Одновременное замедление распада гликогена, а также глюконеогенеза (на этапе конденсации диоксиацетонфосфата и глицеральдегид-3-фосфата) приводит к гипогликемии.

Дефект альдолазы В проявляется после введения в рацион ребёнка соков и фруктовых пюре. В биохимических анализах отмечается снижение концентрации фосфатов и повышение концентрации фруктозы в крови, тяжёлая гипогликемия после употребления в пищу продуктов, содержащих фруктозу, сахарозу и сорбитол. Клинически проявляется вялостью, нарушением

сознания, тошнотой. При продолжении кормления фруктозосодержащими продуктами развиваются гепатомегалия, желтуха, кровотечения, с исходом в печёночную недостаточность. При несвоевременной диагностике возможен летальный исход.

Диагноз можно установить на основании сочетания патологии печени с гипофосфатемией, гиперурикемией, гипогликемией и фруктозурией. Для подтверждения диагноза используют молекулярно-генетические методы или оценивают активность фермента в биоптате печени. Лечение включает диету с ограничением сладких продуктов, фруктов и овощей. При исключении фруктозы, сахарозы и сорбитола из рациона прогноз благоприятный. У взрослых пациентов часто формируется условная защитная реакция: фруктозосодержащие продукты вызывают у них отвращение, поэтому исключение их из рациона не стоит больших усилий.

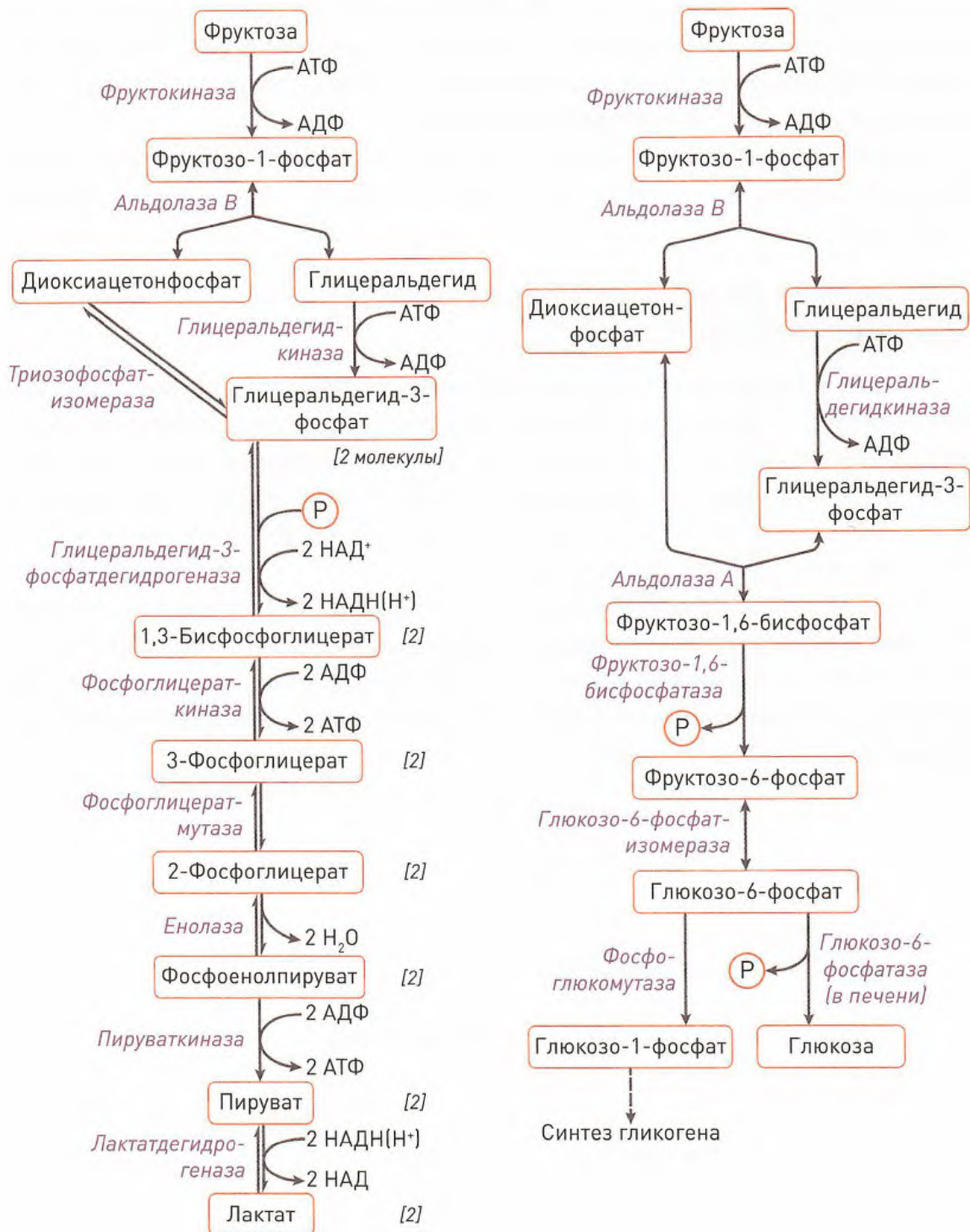
Прямое фосфорилирование глицеральдегида при участии глицеральдегидкиназы (триозокиназа, КФ 2.7.1.28) и АТФ приводит к образованию глицеральдегид-3-фосфата, который включается в гликолиз.



## Использование фруктозы в реакциях гликолиза или глюконеогенеза

При высокой концентрации фруктозы в плазме крови фруктозо-1-фосфат образуется быстрее, чем альдолаза В может его расщеплять. Накопление фруктозо-1-фосфата сопровождается снижением содержания фосфатов в гепатоцитах и концентрации АТФ, что приводит к активации гликолиза и избыточному образованию лактата. Это сопровождается лактат-ацидозом, иногда жизнеугрожающим. Если одновременно с фруктозой в пище присутствовало значительное количество глюкозы и острого дефицита АТФ нет, то избыток фруктозы будет расходоваться для синтеза глюкозы и затем гликогена.

Фруктокиназа является инсулин-независимым ферментом, поэтому превращение фруктозы в пируват и затем в ацетил-SКоА практически не зависит от влияния гормонов и происходит быстрее, чем окисление глюкозы. Это объясняется обходом скоростью-лимитирующей реакции гликолиза, катализируемой фосфофруктокиназой-1.



Диоксиацетонфосфат в реакции изомеризации превращается в глицеральдегид-3-фосфат (при участии фермента гликолиза триозофосфат-изомеразы). Альтернативный путь метаболизма диоксиацетонфосфата включает восстановление до глицерол-3-фосфата под действием глице-

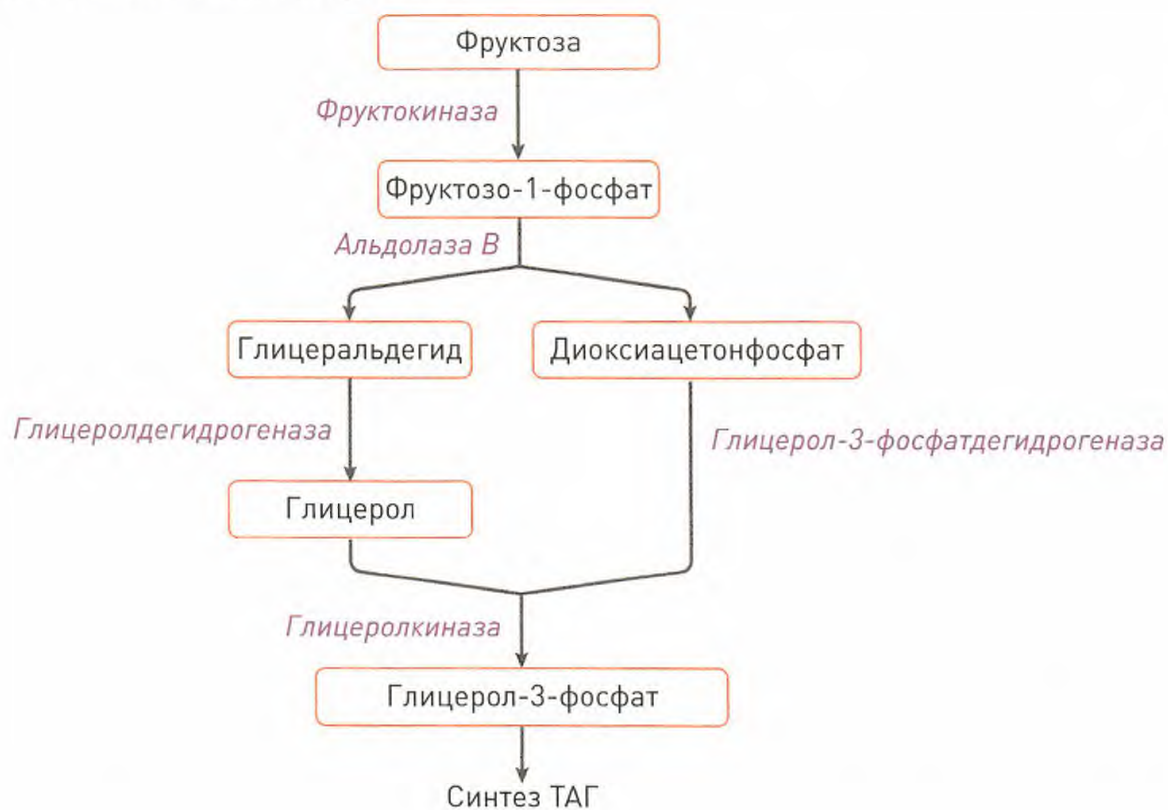
рол-3-фосфатдегидрогеназы. Образовавшийся глицеральдегид может превращаться в глицеральдегид-3-фосфат под действием глицеральдегидкиназы или же в диоксиацетонфосфат и затем в глицерол-3-фосфат при участии глицерол-3-фосфатдегидрогеназы.

Диоксиацетонфосфат и глицеральдегид-3-фосфат включаются в процесс глюконеогенеза и — часто, особенно в мышечной ткани, — синтеза гликогена.

## Включение фруктозы в процесс синтеза триацилглицеролов

При наличии достаточных запасов гликогена промежуточные продукты метаболизма фруктозы (глицеральдегид и диоксиацетонфосфат) используются для синтеза глицерола и ВЖК. Одновременная активация гликолиза приводит к образованию избыточного количества пирувата и ацетил-SКоА. Ацетил-SКоА, не востребованный для окисления в ЦТК, становится субстратом синтеза ВЖК.

Диоксиацетонфосфат превращается в глицерол-3-фосфат, обеспечивая синтез глицерола, который необходим для накопления ТАГ. Образовавшиеся в печени ТАГ включаются в состав липопротеинов очень низкой плотности, которые с током крови разносятся для депонирования в периферических тканях (мышечной и жировой).



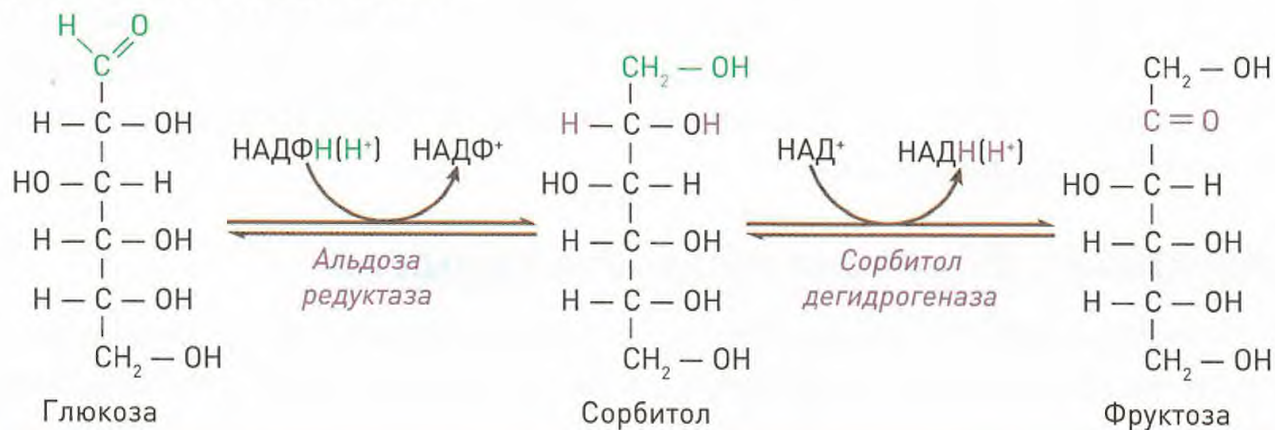
## Метаболизм фруктозы в мышцах

В мышечной ткани содержатся гексокиназы преимущественно I и II типов, способные фосфорилировать фруктозу наряду с глюкозой, однако со значительно меньшей скоростью. Следовательно, в миоцитах фруктоза при участии гексокиназы может превращаться во фруктозо-6-фосфат, который в дальнейшем включается в стандартные пути гликолиза или синтеза гликогена.



## Полиоловый путь

*Сорбитол* — многоатомный спирт, который присутствует в качестве сахарозаменителя в пищевых продуктах, может образовываться из глюкозы при участии альдоза редуктазы (альдегид редуктазы, КФ 1.1.1.21) или из фруктозы при участии сорбитолдегидрогеназы (КФ 1.1.1.14). Две последовательные обратимые реакции — превращения глюкозы в сорбитол и затем сорбитола во фруктозу — носят название *полиоловый путь метаболизма глюкозы*.



Особое значение полиоловый путь имеет в клетках семенных пузырьков, которые синтезируют фруктозу для семенной жидкости. Сперматозоиды используют фруктозу семенной жидкости в качестве основного энергетического субстрата, а дефицит фруктозы в сперме может приводить к преждевременному разрушению акросомы сперматозоида.

Поскольку сродство к глюкозе гексокиназ существенно выше, чем у альдоза редуктазы, при нормальном уровне глюкозы плазмы крови лишь незначительное количество глюкозы метаболизируется по этому пути. Активация полиолового пути характерна для состояний, сопровождающихся избытком глюкозы, например, для сахарного диабета. Особенно выраженные изменения наблюдаются в клетках, которые захватывают глюкозу из кровотока независимо от концентрации инсулина (клетки сетчатки, почек, нервной ткани). Концентрация глюкозы в этих клетках может бесконтрольно увеличиваться, и избыток глюкозы смещает баланс реакции, катализируемой альдоза редуктазой, в сторону сорбитола\*. Сорбитол не перемещается через клеточные мембраны и при накоплении в клетках повышает осмотическое давление, увеличивая приток воды в клетку и приводя к внутриклеточному отёку. Сорбитол также может активно участвовать в неферментативных реакциях гликирования белков, например коллагена.

Высокая активность полиолового пути приводит к перерасходу НАДФН, уменьшая возможности для образования восстановленного глутатиона, монооксида азота, миоинозитола и таурина. Таким образом, избыток глюкозы увеличивает концентрацию сорбитола, концентрацию активных форм кислорода и снижает — восстановленного глутатиона. Эти изменения приводят к свободнорадикальному повреждению клеточных мембран и белков, в первую очередь нервных клеток, капилляров и мелких сосудов. Это усугубляет осложнения сахарного диабета, связанные с поражением сетчатки (диабетическая ретинопатия), хрусталика (катаракта), почек (диабетическая нефропатия) и шванновских клеток периферических нервов (диабетическая нейропатия).

## **Фруктоза и регуляция пищевого поведения**

Поскольку метаболизм фруктозы в печени приводит к образованию фосфорилированных триоз в две реакции, он обходит основной регуляторный фермент гликолиза — фосфофруктокиназу-1. Следовательно, включение фруктозы в гликолиз не регулируется гормонами или аллостерическими эффектами, как это происходит на уровне фосфофруктокиназы-1 или гексокиназы.

---

\* В клетках сетчатки, хрусталика, почек и нейронах при этом наблюдается пониженная экспрессия сорбитолдегидрогеназы, что делает невозможным превращение избытка сорбитола во фруктозу и усугубляет метаболический сдвиг.

Метаболизм глюкозы в клетках гипоталамуса регулирует пищевое поведение. Этот эффект обусловлен дефосфорилированием (инактивацией) АМФ-зависимой протеинкиназы, которая регулирует активность ацетил-SКоА-карбоксилазы путём фосфорилирования. В процессе окисления глюкозы увеличивается содержание АТФ и снижается — АМФ. Последующее снижение активности АМФ-зависимой протеинкиназы уменьшает интенсивность фосфорилирования ацетил-SКоА-карбоксилазы, что увеличивает количество дефосфорилированной ацетил-SКоА-карбоксилазы, повышая её активность. В результате увеличивается содержание продукта реакции ацетил-SКоА-карбоксилазы — малонил-SКоА. Он, в свою очередь, подавляет экспрессию орексигенных пептидов нейропептида Y и AgRP (agouti-related peptide) и, напротив, стимулирует экспрессию анорексигенных пептидов  $\alpha$ -МСГ (меланоцит-стимулирующий гормон) и CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript\*). Следовательно, активация метаболизма глюкозы в клетках гипоталамуса приводит к уменьшению чувства голода и не стимулирует человека к поиску пищи.

Активация метаболизма фруктозы, напротив, повышает уровень АМФ в гипоталамусе, стимулируя АМФ-зависимую протеинкиназу. Это вызывает противоположный эффект — уровень малонил-SКоА снижается, вслед за ним подавляется экспрессия анорексигенных и стимулируется — орексигенных пептидов. Таким образом, фруктоза, в отличие от глюкозы, стимулирует аппетит.

## **Метаболические нарушения при избытке фруктозы в рационе**

Потребление фруктозы (особенно в виде сладких газированных напитков) коррелирует с развитием инсулин-резистентного сахарного диабета, ожирения и метаболического синдрома. В то же время по данным метаанализов недостаточно убедительных доказательств того, что клинически значимая дислипидемия связана с приёмом непосредственно фруктозы. Это обусловлено тем, что человек получает фруктозу не в виде моносахарида, а в виде сахарозы, и описанные эффекты обусловлены, как правило, избытком одновременно и фруктозы, и глюкозы. Очевидно, однако, что при значительном избытке фруктозы в рационе негативные биохимические изменения также вероятны.

\* Орексигенные пептиды — стимулирующие аппетит, анорексигенные — подавляющие аппетит.

Во второй половине XX в. было общепринятым мнение, что избыток фруктозы более безопасен, чем избыток глюкозы, поскольку вызывает менее выраженное повышение уровня глюкозы плазмы крови после приёма пищи. Более того, даже в современных рекомендациях ВОЗ указано, что умеренное использование фруктозы в качестве сахарозаменителя (для замены пищевого сахара — сахарозы) может быть оправдано у пациентов с сахарным диабетом. Гликемический индекс 50 г фруктозы составляет 23 (для сравнения — 100 для глюкозы и 60 — для сахарозы). При комнатной температуре раствор фруктозы почти в 2 раза более сладкий, чем раствор глюкозы, поэтому для достижения столь же сладкого вкуса её требуется меньше.

Однако, несмотря на это, фруктоза оказывает целый ряд негативных метаболических эффектов, в том числе усугбляя дислипидемию и инсулинорезистентность (которые описаны выше), а также гиперурикемию (увеличение уровня мочевой кислоты сыворотки крови). Фруктокиназа быстро фосфорилирует фруктозу, снижая уровень АТФ в клетке. Это, в свою очередь, снижает содержание в клетке фосфатов и увеличивает концентрацию АМФ. Оба этих фактора стимулируют активность АМФ-дезаминазы, ускоряя катаболизм пуриновых азотистых оснований с образованием мочевой кислоты. Следовательно, длительное употребление продуктов с высоким содержанием фруктозы в рационе может провоцировать развитие подагры или усугблять её симптомы. Кроме того, повышенный уровень мочевой кислоты считается достоверным прогностическим фактором развития ожирения и гипертензии.

## Рекомендуемая литература

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt. Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.*

*David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.*

*Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer. Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.*

*Michael King. Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.*

## Задания для обсуждения



У животных, впадающих в истинную (лягушки, некоторые грызуны) или псевдожироту (медведи), потребление фруктозосодержащих продуктов (как правило, ягод или корнеплодов) позволяет резко накопить жир. С помощью одних лишь глюкозосодержащих продуктов (например, на основе крахмала) добиться этого достаточно сложно.

- А. Почему при метаболизме глюкозы жир образуется менее интенсивно, чем при метаболизме фруктозы?
- Б. Как в случае метаболизма глюкозы «включается» механизм насыщения, и каким образом регулируется скорость её утилизации в гликолизе?
- В. Каким образом регулируется катаболизм фруктозы?
- Г. В чём заключается отличие метаболизма фруктозы в печени и во внепечёночных тканях?



Некоторые коренные народы Севера и островные племена исторически придерживались рациона с низким содержанием или практически полным отсутствием углеводов растительного происхождения. Такие народы особенно уязвимы к употреблению термически обработанной углеводной пищи, типичной для «западной» кухни. Так, на островах Тонга ожирением страдают более 95% населения, у аборигенов Австралии или инуитов при переходе на «европейский фаст-фуд» также существенно увеличивается масса тела. Диетологи связывают это с широким использованием обработанных продуктов, содержащих моносахариды, особенно обычного пищевого сахара и высокофруктозного кукурузного сиропа, к перевариванию которого представители этих народов эволюционно менее приспособлены.

- А. Избыток каких продуктов гликолиза образуется при катаболизме большого количества фруктозы?
- Б. Какие углеводы, помимо фруктозы, входят в состав пищевого сахара, и в чём заключается отличие их метаболизма от метаболизма фруктозы?
- В. Ингибирование какого фермента может снизить скорость превращения фруктозы в жиры?
- Г. Опишите процесс образования жиров из фруктозы.



Родители годовалой девочки обратились к врачу по поводу рвоты и замедленного набора массы тела, наблюдающихся в течение 3 мес. Указанные симптомы появились, когда ребёнка начали переводить с грудного вскармливания на фруктово-овощные пюре. При обследовании выявлены желтуха и гепатомегалия. Внутривенное введение фруктозы привело к гипогликемии и гипофосфатемии.

- А. С дефицитом какого фермента предположительно может быть связано заболевание у девочки? К какому классу ферментов относится этот фермент?
- Б. Почему внутривенное введение фруктозы привело к гипофосфатемии?
- В. Каким образом низкий уровень фосфатов может быть связан с гипогликемией?
- Г. Укажите, какие углеводы следует исключить из рациона девочки.



6-летний ребёнок, живущий в городе, поехал впервые на лето на дачный участок к бабушке и дедушке. В период сбора урожая помогал собирать фрукты и ягоды и съел значительное их количество. Спустя несколько дней после начала сбора урожая у ребёнка появились желтуха и недомогание. При проведении лабораторного исследования выявлены гипербилирубинемия, гипофосфатемия, гипогликемия, лактат-ацидоз и повышенный уровень фруктозы в плазме крови.

- А. С дефицитом какого фермента предположительно могут быть связаны данные симптомы?
- Б. К какому классу ферментов относится этот фермент?
- В. Каким образом низкий уровень фосфатов может быть связан с гипогликемией?
- Г. В какое соединение гликолиза может превращаться фруктоза под действием гексокиназы?



18-летний юноша проходит медосмотр по требованию военкомата. Жалоб не предъявляет, по данным анамнеза хронических заболеваний не имеет, однако в биохимическом анализе крови и мочи обнаружены сахара. Врач предположил, что эти изменения могут быть связаны с сахарным диабетом или с доброкачественной фруктозурией.

- А. Какие биохимические исследования следует назначить для дифференциальной диагностики сахарного диабета типа 1 и доброкачественной фруктозурии?
- Б. С дефицитом какого фермента связана доброкачественная фруктозурия? Назовите субстрат и продукт этой реакции.
- В. К какому классу ферментов относится этот фермент?
- Г. Какие рекомендации следует дать пациенту в случае, если подтвердится диагноз доброкачественной фруктозурии?

**10**

**Обмен галактозы**

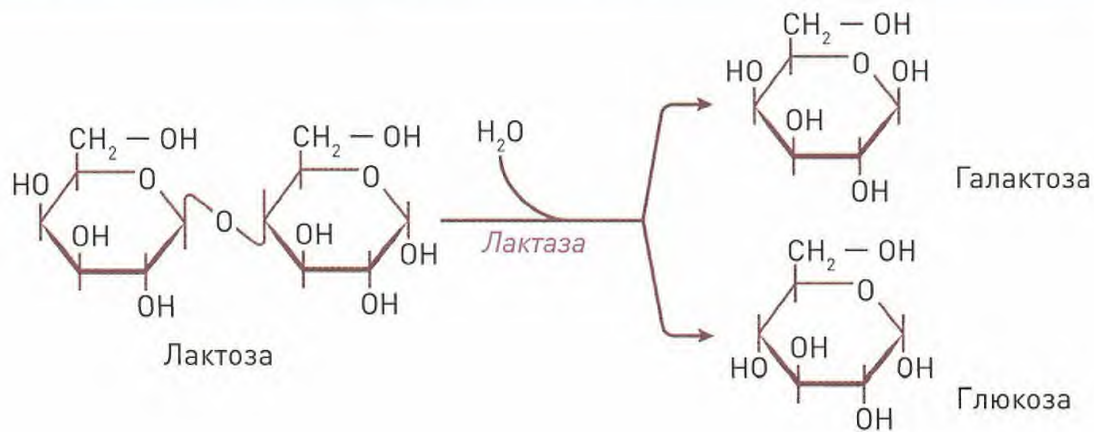
**Галактоза** — моносахарид из группы гексоз. Отличается от глюкозы пространственным расположением гидроксильной группы и атома Н у  $C_4$ . Человек получает галактозу в основном в составе дисахарида лактозы, который гидролизуется в тонкой кишке лактазой ( $\beta$ -галактозидазой). Свободная галактоза всасывается из просвета тонкой кишки так же, как и глюкоза — при участии транспортёров SGLT-1 (переносит галактозу через апикальную мембрану из просвета кишки в энтероцит) и GLUT-2 (переносит галактозу из энтероцита в кровоток).

---



Галактоза — моносахарид, играющий важную роль в образовании гликолипидов и гликопротеинов, присутствующих на поверхности клеточных мембран и участвующих в межклеточном взаимодействии и трансмембранной передаче сигнала. Основным источником галактозы является дисахарид лактоза

---



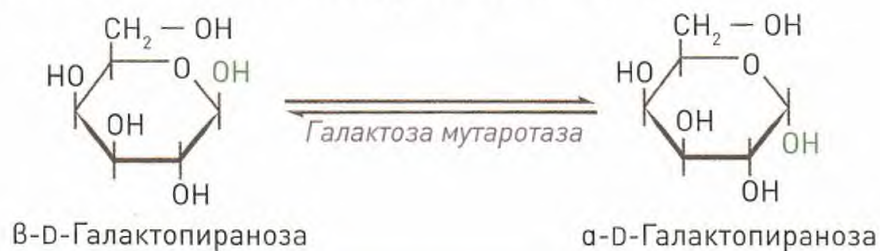
В организме человека галактоза присутствует преимущественно в составе полисахаридных молекул в виде N-ацетилгалактозамина (GalNAc). Она входит в состав гликопротеинов антигена H, определяющего принадлежность группы крови, цереброзидов, кератансульфата. В клетках лактирующей молочной железы используется для синтеза лактозы.

Помимо участия в синтезе гетерополисахаридов, существенная часть галактозы, которую человек получает с пищей, используется для синтеза гликогена или окисляется в процессе гликолиза. Поскольку ферменты гликолиза стереоспецифичны, галактоза не может включаться в реакции гликолиза непосредственно, как глюкоза, сначала она должна пройти реакцию эпимеризации, через образование промежуточного продукта — УДФ-галактозы. Последовательность реакций, позволяющих превратить галактозу в промежуточные продукты гликолиза, носит название пути Лелуа\* и состоит из четырёх реакций, катализируемых следующими ферментами:

- галактоза мутаротаза;
- галактокиназа;
- галактозо-1-фосфатуридилтрансфераза;
- УДФ-галактоза-4-эпимераза.

## Мутаротация галактозы

Из двух аномеров галактозы в биохимических превращениях в организме человека используется только  $\alpha$ -D-галактопираноза. В молекуле лактозы глюкоза может присутствовать как в  $\alpha$ -, так и в  $\beta$ -пиранозной форме, а галактоза — только в  $\beta$ -пиранозной форме, соответственно продуктом гидролиза лактозы при участии лактазы является  $\beta$ -D-галактопираноза.  $\alpha$ -D-Галактопиранозу можно получить из  $\beta$ -D-галактопиранозы, переместив аномерную —ОН-группу из экваториального в аксиальное положение. Эта реакция протекает спонтанно, но медленно. Ускорить взаимные превращения аномеров D-галактопиранозы можно при помощи галактоза мутаротазы (альдоза-1-эпимеразы, КФ 5.1.3.3, в геноме человека кодируется геном *GALM*).



\* Назван в честь впервые описавшего его аргентинского биохимика Луи Федерика Лелуа (1906–1987, в русскоязычной литературе также встречается транслитерация Лелуар). Лауреат Нобелевской премии по химии (1970).

## Образование галактозо-1-фосфата

$\alpha$ -D-Галактоза подвергается фосфорилированию по гидроксильной группе, расположенной у  $C_1$ , при участии галактокиназы (КФ 2.7.1.6, кодируется геном *GALK1*)\*.



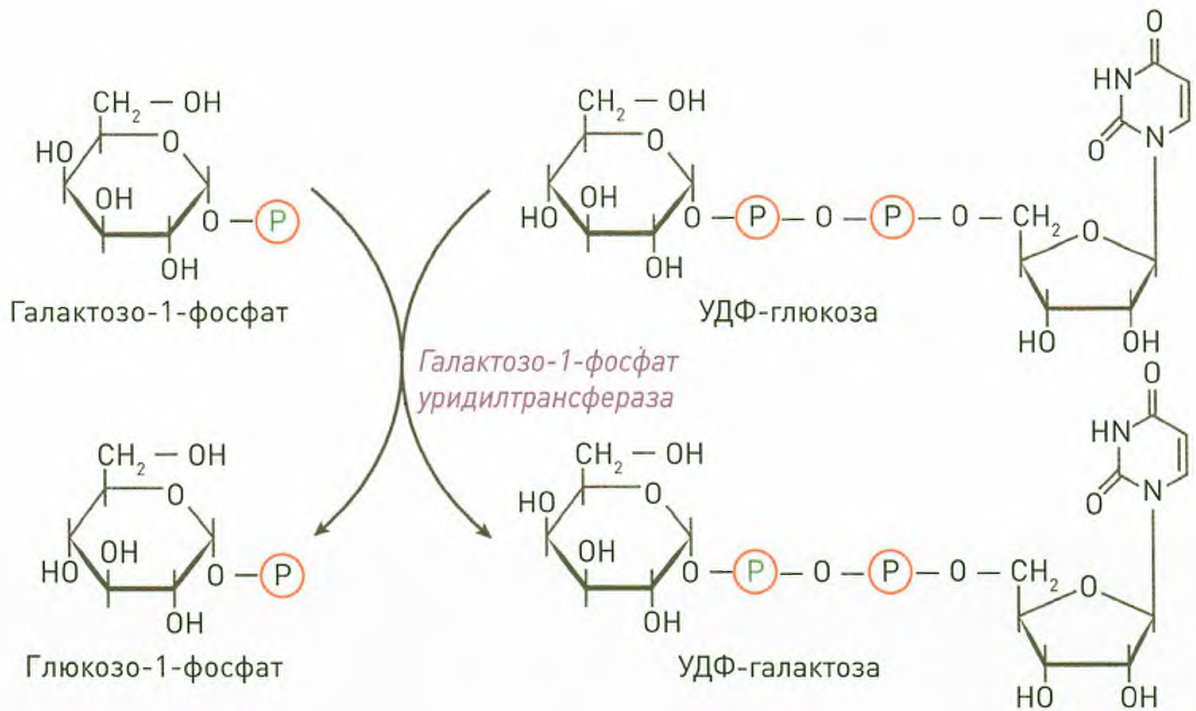
### Галактоземия II типа

Галактоземия II типа обусловлена дефицитом галактокиназы (мутация в гене *GALK1*, аутосомно-рецессивное наследование). Встречается с частотой менее 1:100 тыс. новорождённых. Манифестирует в младенчестве после начала грудного вскармливания. Основным, и часто единственным, клиническим проявлением является катаракта. Накапливаясь в хрусталике, галактоза превращается в галактитол при участии альдоза редуктазы. На диагноз галактоземии II типа указывают повышенный уровень галактозы плазмы крови в сочетании с сохранной активностью галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы и сниженной активностью галактокиназы в эритроцитах. Катаракта при галактоземии II типа может регрессировать при исключении лактозы из рациона. В отличие от классической галактоземии (галактоземия I типа), при галактоземии II типа отсутствуют серьёзные осложнения.

## Образование глюкозо-1-фосфата

Отличительной особенностью обмена галактозы является превращение в глюкозу не напрямую, а через синтез УДФ-галактозы из галактозо-1-фосфата. Галактозо-1-фосфат уридилтрансфераза (ген *GALT*, КФ 2.7.7.12) переносит уридилную группу с молекулы УДФ-глюкозы на галактозо-1-фосфат с образованием УДФ-галактозы и глюкозо-1-фосфата. Глюкозо-1-фосфат в последующем может участвовать в синтезе гликогена или превращаться в глюкозо-6-фосфат при участии фосфоглюкомутазы.

\* Ранее предполагалось, что существует ген *GALK2*, который кодирует другую форму галактокиназы, но впоследствии было уточнено, что продуктом его экспрессии является киназа, фосфорилирующая GalNAc.



### **Галактоземия I типа (классическая галактоземия)**

Классическая галактоземия, наиболее часто встречающийся вариант галактоземии, обусловлена дефицитом галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (дефект гена *GALT*, наследование аутосомно-рецессивное). Встречается с частотой 1:30–60 тыс. новорождённых. Идентифицировано более 230 различных мутаций гена *GALT*, которые сопровождаются снижением или потерей активности фермента. Наиболее распространённая мутация — замена остатка Арг (R) на Глн (Q) в непосредственной близости от активного центра фермента (Q188R). В клетках, гомозиготных по аллелю Q188R, активность галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы значительно снижена или полностью отсутствует. Описаны также и другие мутации, приводящие к менее значимому снижению активности фермента (в частности, K285N). У всех пациентов отмечается накопление галактозы, галактитола и галактозо-1-фосфата.

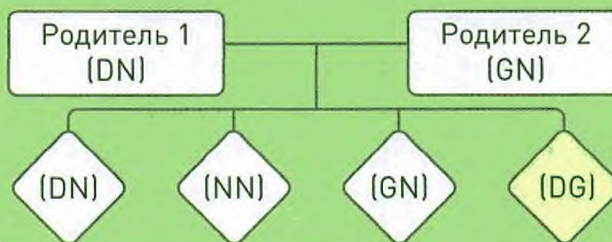
Классическая галактоземия манифестирует в первые недели жизни. После грудного вскармливания появляются тошнота и диарея, которые могут быть ошибочно диагностированы как дефицит лактазы. При лабораторном исследовании обнаруживается галактоземия, метаболический ацидоз, гипераминиацидурия, повышается экскреция галактитола с мочой. Первым клиническим проявлением может быть персистирующая желтуха. Вследствие накопления в хрусталике галактитола, который образуется из галактозы под действием НАДФН-зависимой альдоза редуктазы, развивается катаракта. С течением времени становится очевидной недостаточная прибавка массы тела ребёнка, присоединяются нарушения функции печени, которые в отсутствие лечения довольно быстро приводят к циррозу, гипераммониемии и сепсису. Вследствие

прогрессирующего нарушения белок-синтетической функции печени у детей наблюдается увеличение времени кровотечения. В случае несвоевременной диагностики быстро развиваются слепота и тотальное поражение печени с летальным исходом. Именно по этой причине диагностика классической галактоземии входит в национальные программы неонатального скрининга во многих странах.

Лечение предполагает исключение из рациона лактозы. Несмотря на ограничение потребления лактозы, галактоза может образовываться в организме человека из глюкозы или при катаболизме полисахаридов, и у пациентов сохраняется экскреция галактитола с мочой. Возможны отдалённые осложнения: когнитивные нарушения, атаксические расстройства, недостаточность яичников.

### Галактоземия Дуарте

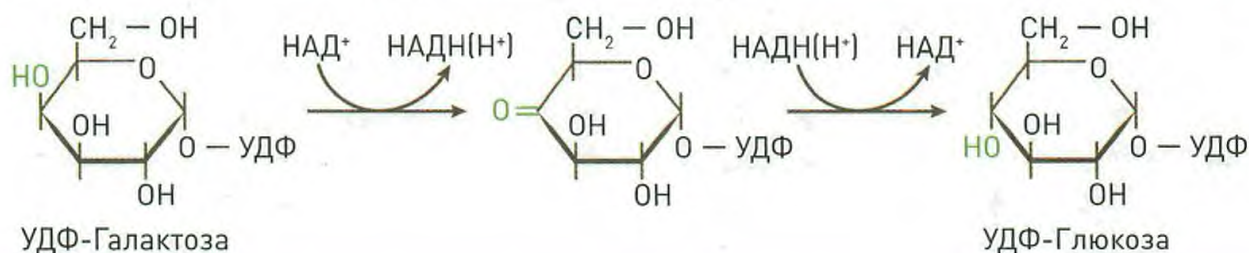
Мутации в гене *GALT* могут приводить или к полной (почти полной) потере активности галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы, или к менее выраженному снижению. Аллели с мутациями, приводящими к полной потере активности, обозначаются *G* (*galactosemia*), аллели с мутациями с частичной потерей активности — *D* (*Duarte*), аллели генов, кодирующих фермент с сохранённой активностью, — *N* (*normal*). Каждый человек наследует от своих родителей два гена (по одному в каждой копии хромосомы 9). Поскольку наследование происходит по аутосомно-рецессивному механизму, галактоземия Дуарте развивается в случае, если от двух родителей-носителей аллелей *DN* и *GN* ребёнок наследует комбинацию *DG* (все три остальных возможных варианта — *DN*, *NN* и *GN* — не приводят к патологическому фенотипу). При сочетании аллелей *DG* у пациента сохраняется примерно 25% активности фермента, то есть количество галактозы, которая может метаболизироваться в организме таких пациентов, примерно в 4 раза меньше, чем у здоровых. Встречается с частотой 1:4 тыс. новорождённых. Лечение не требуется, необходимость исключения галактозосодержащих продуктов из рациона является предметом дискуссии. Прогноз благоприятный.



Образованная УДФ-галактоза впоследствии изомеризуется в УДФ-глюкозу и может:

- либо участвовать в реакции переноса УМФ на галактозо-1-фосфат (повторно использоваться в реакции);
- либо превращаться в свободную глюкозу и выходить в кровь;
- либо использоваться для синтеза гликогена.

УДФ-галактоза-4-эпимераза (УДФ-глюкоза-4-эпимераза, ген *GALE*, КФ 5.1.3.2) катализирует обратимую реакцию эпимеризации УДФ-галактозы в УДФ-глюкозу\*. Этот фермент работает при участии НАД<sup>+</sup>, в процессе реакции происходят последовательное окисление и восстановление атома С<sub>4</sub>.



### Галактоземия III типа

Дефицит УДФ-галактоза-4-эпимеразы, обусловленный мутациями в гене *GALE*, наследуется аутосомно-рецессивно. Ультраредкое заболевание, с частотой менее 1:1000 тыс. новорождённых. Существенно варьирует по тяжести клинических проявлений, которые могут включать желтуху, замедление набора массы тела и роста, яичниковую недостаточность, почечную и печёночную недостаточность, катаракту. Фактором, определяющим тяжесть симптомов, является уровень галактозо-1-фосфата. Существует в двух клинических формах:

- ✦ с преимущественным поражением эритроцитов, с относительно доброкачественными проявлениями;
- ✦ с тяжёлой печёночной недостаточностью и симптомами, напоминающими классическую галактоземию.

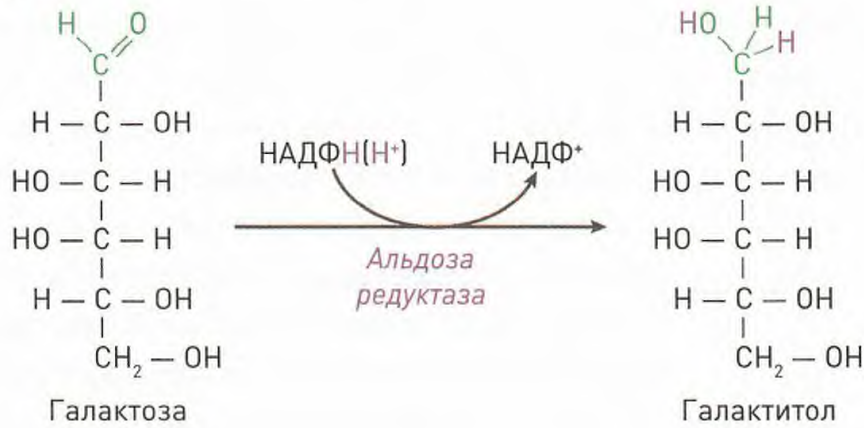
Рекомендуется исключение из рациона продуктов, содержащих галактозу. Однако, поскольку галактоза может образовываться при катаболизме гликопротеинов и гликолипидов, в случаях полной потери активности фермента заболевание может прогрессировать и без поступления галактозы с пищей.

## Галактитол

Галактоза может восстанавливаться в галактитол (галактиол) при участии НАДФН-зависимой альдоза редуктазы (которая также катализирует реакцию превращения глюкозы в сорбитол). При врождённых дефицитах ферментов обмена галактозы — галактоземиях эта реакция активируется, приводя к накоплению галактитола в различных органах, в том числе хрусталике и нервной ткани. Избыток галактитола повышает осмотическое давление в тканях хрусталика, создавая гипертоническую среду. Это способствует

\* Помимо этой реакции, УДФ-галактоза-4-эпимераза также может катализировать превращение УДФ-N-ацетилглюкозамина в УДФ-N-глюкозамин.

проникновению воды в волокна хрусталика по осмотическому механизму, их набуханию и последующему разрыву. В месте разрывов волокон образуются межфибрилярные щели, которые заполняются белками, предопределяя развитие катаракты.



## Синтез лактозы



В клетках молочной железы в период лактации галактоза используется для синтеза лактозы. Остаток галактозы при этом присоединяется на остаток глюкозы. Донором остатков галактозы является УДФ-галактоза, которая образуется в реакции эпимеризации УДФ-глюкозы. Эту реакцию катализирует фермент лактоза синтаза (КФ 2.4.1.22), который состоит из двух субъединиц:

- галактозилтрансфераза (КФ 2.4.1.90) — каталитическая субъединица, катализирует реакцию переноса УДФ-галактозы, например, на

N-ацетилглюкозамин с образованием N-ацетиллактозамина (реакция важна для образования гетерополисахаридов);

- $\alpha$ -лактальбумин — регуляторная субъединица,  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающий белок, специфичный для клеток молочных желёз, не имеющий ферментативной активности, который корректирует субстратную специфичность галактозилтрансферазы таким образом, что она начинает использовать в качестве субстрата не N-ацетилглюкозамин, а глюкозу. Экспрессия  $\alpha$ -лактальбумина увеличивается в ответ на действие пролактина.

Помимо лактозы, клетки лактирующей молочной железы синтезируют содержащие галактозу три- и тетрасахариды, которые играют важную пребиотическую роль, регулируя рост нормальной микрофлоры ЖКТ новорождённого в период грудного вскармливания. В процессе изомеризации из лактозы может образовываться лактулоза ( $\beta$ -D-галактозил-D-фруктоза). В свежем молоке она, как правило, не присутствует, но её содержание может увеличиваться при нагревании — в процессе стерилизации или пастеризации. Лактулоза не может расщепляться пищеварительными ферментами человека и служит субстратом для бактерий толстой кишки.



*Препараты лактулозы используются в клинической гастроэнтерологии в качестве средств регуляции физиологического ритма опорожнения толстой кишки; для размягчения стула в медицинских целях (при геморрое; в послеоперационном периоде хирургических вмешательств на толстой кишке или в области анального отверстия); для лечения печёночной энцефалопатии. Лактулоза оказывает гиперосмотическое слабительное действие, стимулирует перистальтику кишечника, улучшает всасывание фосфатов и солей кальция, способствует выведению ионов аммония.*

*Лактулоза как пребиотическое средство стимулирует рост бифидо- и лактобактерий, что, в свою очередь, способствует подавлению роста потенциально патогенных бактерий, таких как *Clostridium* и *E. coli*, и обеспечивает более благоприятный состав кишечной микрофлоры. Лактулоза расщепляется микрофлорой толстой кишки на низкомолекулярные органические кислоты, в первую очередь лактат и ацетат, что приводит к снижению pH, повышению осмотического давления и, как следствие, увеличению объёма кишечного содержимого и усилению перистальтики кишечника. При печёночной энцефалопатии эффект обусловлен связыванием аммиака за счёт закисления содержимого толстой кишки, а также усилением использования аммиака для синтеза белка кишечными бактериями.*



## Рекомендуемая литература

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt. Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.*

*David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.*

*Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer. Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.*

*Michael King. Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.*

## Задания для обсуждения



Родители двухнедельного ребёнка, находящегося на грудном вскармливании, обратились в больницу. У ребёнка наблюдаются частая рвота, постоянный жар, желтушность. Обнаружены гепатомегалия и катаракта. В анализах крови и мочи был выявлен повышенный уровень галактозы и в меньшей степени галактитола.

- А. Какое заболевание можно диагностировать у ребёнка?
- Б. С дефицитом какого фермента наиболее вероятно связано это заболевание?
- В. В состав какого дисахарида входит галактоза?
- Г. Дайте рекомендации по ограничениям рациона.



4-летнюю девочку родители привели на осмотр к педиатру. Девочка родилась здоровой, отклонений в развитии родители не наблюдали. Однако врач обнаружил у девочки двустороннюю катаракту (помутнение хрусталика) в начальной стадии и повышенный уровень галактозы в крови. Врач предположил врождённый дефицит галактокиназы и рекомендовал исключить продукты, содержащие галактозу, из рациона.

- А. Напишите реакцию, которую катализирует галактокиназа.
- Б. К какому классу ферментов относится галактокиназа?
- В. Почему при дефиците галактокиназы может появляться катаракта? Возможно ли обратное развитие катаракты при соблюдении рекомендаций врача?

Г. Катаракта также может развиваться при классической галактоземии (дефицит галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы), однако врач исключил её из круга диагностического поиска. Почему?



В женскую консультацию обратилась беременная с частичным дефицитом галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (галактоземия I типа, вариант Дуарте). Пациентка прочитала, что при её заболевании нарушена способность метаболизировать галактозу, которая необходима для синтеза лактозы. В связи с предстоящими родами пациентка беспокоится о возможном дефиците молока и последствиях грудного вскармливания. Врач успокоил пациентку, объяснив, что лактоза в её организме может синтезироваться и при дефекте галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы.

- А. Приведите схему синтеза лактозы, подтверждающую слова врача.
- Б. Как меняется специфичность галактозилтрансферазы в молочной железе в период лактации?
- В. Какие последствия для пациентки может иметь увеличение концентрации галактозы в плазме крови в период лактации?

11

Обмен  
гликозаминогликанов

**Гликозаминогликаны** (мукополисахариды, ГАГ) — полисахаридная часть протеогликанов, в состав которой входят аминоксахара — гексозамины. ГАГ построены из повторяющихся дисахаридных фрагментов, которые состоят из сульфатированных и ацетилированных гексозаминов (N-ацетилглюкозамина или N-ацетилгалактозамина) и остатков уроновых кислот (D-глюкуроновой или L-идуроновой кислот)\*. Кроме этого, в составе ГАГ встречаются минорные углеводные остатки — L-фукоза, сиаловые кислоты, D-манноза и D-ксилоза (табл. 11.1).



Благодаря наличию карбоксильных и сульфатных групп ГАГ несут выраженный отрицательный заряд. Это оказывает решающее влияние на их взаимодействие с другими молекулами, в частности, позволяет активно связывать катионы и молекулы воды. Гидратированные ГАГ образуют

\* Кроме кератана (кератансульфата), который вместо остатка уроновой кислоты содержит остаток галактозы. Подробнее см. главу 1.

вязкие гели, обеспечивающие высокую устойчивость соединительных тканей к сдавлению и другим механическим нагрузкам.

**Таблица 11.1.** Структура основных гликозаминогликанов

ГАГ	Повторяющиеся дисахаридные фрагменты	Среднее количество сульфатных групп в дисахаридном фрагменте
Гиалуроновая кислота*	D-Глюкуроновая кислота + N-ацетил-D-глюкозамин [GlcA $\beta$ (1→3) GlcNAc $\beta$ (1→4)]	Не содержит
Хондроитин-сульфат	D-Глюкуроновая кислота + N-ацетил-D-галактозамин [GlcA $\beta$ (1→3) GalNAc $\beta$ (1→4)]	0,1–1,3
Дерматан-сульфат	D-Глюкуроновая/L-идуруновая кислота + N-ацетил-D-галактозамин [GlcA/IdoA $\beta$ (1→3) GalNAc $\beta$ (1→4)]	1,0–2,5
Гепарансульфат (гепарин)	D-Глюкуроновая/L-идуруновая кислота + N-ацетил-D-глюкозамин [GlcA/IdoA $\beta$ (1→4) GlcNAc $\alpha$ (1→4)]	0,4–2,0, гепарин несёт больше сульфатных остатков, чем гепарансульфат**
Кератан-сульфат	D-Галактоза + N-ацетил-D-глюкозамин [Gal $\beta$ (1→4) GlcNAc $\beta$ (1→3)]	0,9–1,8

*Протеогликины* — сложные белки, состоящие из белковой части (корового или сердцевинного белка, англ. core protein), на которую приходится 5–10% общей массы, и углеводной части, представленной ГАГ, — 90–95% общей массы (рис. 11.1). С коровым белком связаны несколько длинных неразветвлённых полисахаридных цепей ГАГ (до 80 гликозидных звеньев), число которых может варьировать от 1 (декорин фибробластов) до 100 и выше (агрекан хрящевой ткани). При помощи связывающих белков протеогликины могут собираться в протеогликановые агрегаты. Протеогликины вместе с волокнами коллагена и эластина образуют основу внеклеточного матрикса (ВКМ). Мембранно-связанные протеогликины играют важную роль в обеспечении межклеточных взаимодействий, прикреплении клетки к субстрату, а также связывании сигнальных молекул, тем самым участвуя в регуляции деления клеток, их пролиферации и дифференцировки.

\* Формулы приведены в главе 1.

\*\* Гепарин синтезируется практически исключительно в тучных клетках соединительной ткани на основе корового белка серглицина, в то время как гепарансульфаты могут образовываться почти во всех типах клеток. В отличие от гепарансульфатов, гепарин содержит больше остатков IdoA (около 70%, остальные 30% — GlcA) и N-сульфатированных глюкозаминов.

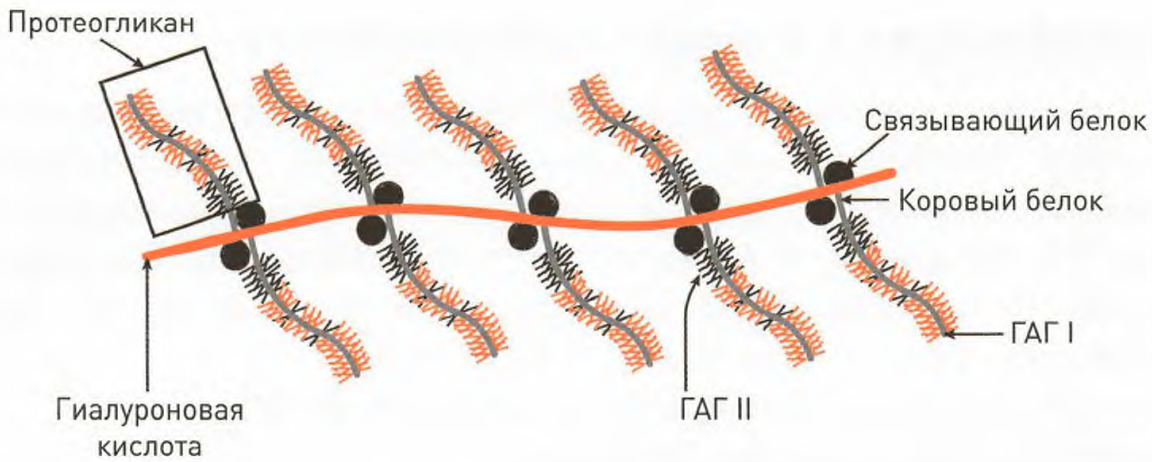


Рис. 11.1. Структура протеогликановых агрегатов.

## Строение протеогликанов

Гликозаминогликановый углеводный компонент представлен повторяющимися дисахаридными звеньями, специфичными для конкретного протеогликана. Углеводные фрагменты хондроитинсульфата/дерматансульфата и гепарансульфата/гепарина присоединяются к коровому белку посредством консервативного связующего тетрасахарида, который прикрепляется к аминокислотному остатку Сер или Тре O-гликозидной связью. Кератансульфат имеет несколько вариантов присоединения к коровому белку\*. Гиалуроновая кислота, в отличие от других ГАГ, с коровым белком ковалентных связей не образует.



\* ГАГ, состоящие из кератансульфата, могут присоединяться к коровому белку при помощи N-гликозидной связи с остатком Асн (кератансульфат типа I, KS I) либо O-гликозидной связи GalNAc (кератансульфат типа II, KS II) или маннозы (кератансульфат типа III, KS III) с остатками Сер или Тре. Линкерный участок кератансульфата вариативный и иногда даже может иметь разветвленное строение.

## Классификация и функции протеогликанов

В организме человека существует несколько десятков различных вариантов протеогликанов, которые отличаются аминокислотными последовательностями корового белка, количеством присоединённых цепей ГАГ, их длиной, а также количеством и положением сульфатных остатков. В зависимости от локализации и функции протеогликанов классифицируются на несколько групп (табл. 11.2):

- интерстициальные протеогликанов (находятся в ВКМ);
- протеогликанов базальных мембран;
- протеогликанов секреторных гранул;
- мембранно-связанные протеогликанов.

### **Синдром Симпсона-Голаби-Бемеля**

*Заблевание с X-сцепленным типом наследования, обусловлено мутациями гена GPC3, кодирующего глипикан-3. Дисморфические черты: гипертелоризм (широко посаженные глаза), необычно большой рот, макроглоссия (увеличенный язык), патология нёба, широкий вздёрнутый нос. Часто встречаются увеличение размеров внутренних органов (почек, печени, селезёнки), диастазы прямых мышц живота, пупочные и диафрагмальные грыжи, патология сердца, скелетные аномалии. Около 50% мальчиков погибают в периоде младенчества. У выживших детей повышен риск развития злокачественных опухолей (опухоль Вильмса, нейробластома).*

В зависимости от молекулярной массы выделяют малые и большие протеогликанов (табл. 11.3 и 11.4). Малые протеогликанов имеют небольшой коровый белок, к которому присоединена одна или две цепи ГАГ. К большим протеогликанам относят протеогликанов с большой молекулярной массой, содержащие свыше 100 цепей ГАГ. Большие протеогликанов могут связываться с гиалуроновой кислотой, образуя протеогликановые агрегаты.

### **Синдром Вагнера**

*Обусловлен мутацией в гене VCAN, наследуется по аутосомно-доминантно-му механизму. Образование мутантного версикана вызывает дегенерацию стекловидного тела и сетчатки.*

Таблица 11.2. Особенности строения отдельных групп протеогликанов

Группы протеогликанов	Особенности строения	Примеры
Интерстициальные протеогликаны	Протеогликаны, богатые лейцином, обладают способностью связывать коллаген и стабилизировать пространственное строение волокон коллагена. Содержат хондроитинсульфат, дерматансульфат, кератансульфат	Декорин, кератокан, бигликан, фибромодулин, люмикан, остео модулин, остеоглицин и др.
	Лектиканы содержат N-терминальный домен, связывающий гиалуронаны (полисахариды гиалуроновой кислоты), центральный домен (содержит сайты присоединения хондроитинсульфата и дерматансульфата), C-терминальный домен (лектиновый домен C-типа)	Агрекан, бревикан, нейрокан, версикан
Протеогликаны базальных мембран	Содержат гепарансульфат. Лепрекан и некоторые формы перлекана могут содержать хондроитинсульфат	Перлекан, агрин, коллаген XVIII типа, лепрекан
Протеогликаны секреторных гранул	Содержат переменное число сайтов присоединения ГАГ (гепарин или хондроитинсульфат). Гепарин, синтезируемый тучными клетками соединительных тканей, в качестве корового белка содержит исключительно серглицин	Серглицин, хромогранин А
Мембранно-связанные протеогликаны	Коровый белок имеет короткий гидрофобный трансмембранный домен, длинный домен, расположенный с внешней стороны мембраны, несущий сайты связывания ГАГ, а также короткий цитоплазматический домен. Содержат хондроитинсульфат и гепарансульфат. Синдеканы играют роль мембранных рецепторов, участвуют в регуляции передачи сигнала от внеклеточных сигнальных молекул в цитоплазму клетки	Синдеканы
	Коровый белок заякоривается в клеточной мембране при помощи гликозилфосфатидилинозитола. В отличие от синдеканов, не имеют внутриклеточного домена. Содержат гепарансульфат	Глипиканы

**Таблица 11.3.** Функции некоторых интерстициальных протеогликанов

Протеогликан (ген)	Функции
Декорин ( <i>DCN</i> )	Связывается с фибриллами коллагена I типа, участвует во взаимодействии эпителиальных и мезенхимальных тканей в периоде эмбриогенеза, обеспечивает взаимодействие клеток и эластина с адгезивными белками — фибронектином и ламинином
Кератокан ( <i>KERA</i> )	Играет важную роль в обеспечении прозрачности роговицы
Люмикан ( <i>LUM</i> )	Присутствует в строме роговицы, интерстициальном матриксе миокарда, аорты, скелетных мышц, кожи, межпозвонковых дисков. Стабилизирует пространственную организацию фибрилл коллагена, обеспечивает миграцию эпителиальных клеток, восстановление тканей и прозрачность роговицы
Остеомодулин ( <i>OMD</i> )	Синтезируется зрелыми остеобластами и одонтобластами. Определяется в амелобластическом слое на стадии созревания эмали и участвует в процессах минерализации
Фибромодулин ( <i>FMOD</i> )	Участвует в сборке коллагеновых волокон в ВКМ. Присоединяется к фибриллам коллагена и ограничивает их диаметр

**Таблица 11.4.** Функции больших интерстициальных протеогликанов семейства лектиканов

Протеогликан (ген корового белка)	Функции
Агрекан ( <i>ACAN</i> )	Основной протеогликан хрящевой ткани. Содержит более 100 полисахаридных цепей хондроитинсульфата, в некоторых тканях может содержать также кератансульфат, образует комплексы с гиалуронанами
Бревикан ( <i>BCAN</i> )	Синтезируется в зрелой ЦНС
Версикан ( <i>VCAN</i> )	Содержится в стекловидном теле, цементе, пульпе зуба, слизистых оболочках, костной ткани. Регулирует адгезию и пролиферацию клеток, миграцию, ангиогенез
Нейрокан ( <i>NCAN</i> )	Активно синтезируется в ЦНС в периоде позднего эмбрионального развития и препятствует избыточному росту нейронов

## Синтез протеогликанов

Коровый белок синтезируется на рибосомах в течение нескольких минут, последующее наращивание углеводного фрагмента происходит значительно медленнее (в зависимости от длины и состава цепей) и может занимать несколько часов (табл. 11.5). Присоединение связующего тетрасахарида (тетрасахаридного линкера) и формирование полисахаридной цепи происходит при участии соответствующих гликозилтрансфераз. Созревание протеогликана (образование функционально полноценной молекулы) происходит уже после синтеза полисахаридной цепи и включает процессы сульфатирования, эимеризации и др.

**Таблица 11.5.** Этапы синтеза протеогликанов

Этап	Описание
Синтез корового белка	Коровый белок синтезируется на рибосомах и через ЭПР поступает в аппарат Гольджи для последующего гликозилирования
Присоединение тетрасахаридного линкера к коровому белку	Происходит в аппарате Гольджи при участии гликозилтрансфераз. Донорами моносахаридных остатков выступают соответствующие УДФ-производные. Цепи кератансульфата могут присоединяться к коровому белку без тетрасахаридного линкера — либо через остаток Асн (N-гликозилирование), либо через Сер или Тре (O-гликозилирование)
Наращивание полисахаридной цепи ГАГ	Происходит в аппарате Гольджи при участии гликозилтрансфераз, гиалуроновая кислота синтезируется непосредственно на плазматической мембране. Донорами моносахаридных остатков выступают соответствующие УДФ-производные: УДФ-глюкуроновая кислота, УДФ-N-ацетилглюкозамин, УДФ-N-ацетилгалактозамин, УДФ-галактоза
Сульфатирование	Моносахаридные остатки в составе ГАГ сульфатируются сульфотрансферазами, донором сульфатной группы выступает ФАФС (3'-фосфоаденозин-5'-фосфосерная кислота)

После синтеза в аппарате Гольджи протеогликанов концентрируются в секреторных гранулах, которые транспортируются к месту постоянного расположения. Секреторные гранулы, сливающиеся с цитоплазматической мембраной, отдают протеогликанов во внеклеточное пространство. Синтез корового белка и гиалуроновой кислоты тормозят глюкокортикоиды, половые гормоны и глюкокортикоиды ингибируют сульфатирование ГАГ.

## Коровый белок

Описано более 40 различных вариантов коровьих белков, отличающихся по массе (от 10 до >500 кДа). Такие белки, как правило, чаще, чем другие белки клетки, содержат сочетание остатков Сер и Гли. В коровьем белке хондроитинсульфата/дерматансульфата и гепарансульфата/гепарина содержатся консервативные мотивы –А–Сер–Гли/Ала–Х–Гли–, где А — отрицательно заряженный, Х — любой другой аминокислотный остаток. Последовательность остатков –Сер–Гли– распознаётся ксилозилтрансферазой, переносящей первый моносахаридный остаток ксилозы на –ОН-группу остатка Сер.

Некоторые белки организма человека могут существовать как в свободном, так и в связанном с ГАГ виде (например, инвариантная цепь МНС класса II, тромбомодулин и рецептор трансферрина). В ходе альтернативного сплайсинга таких белков могут образовываться варианты, несущие сайты присоединения ГАГ.

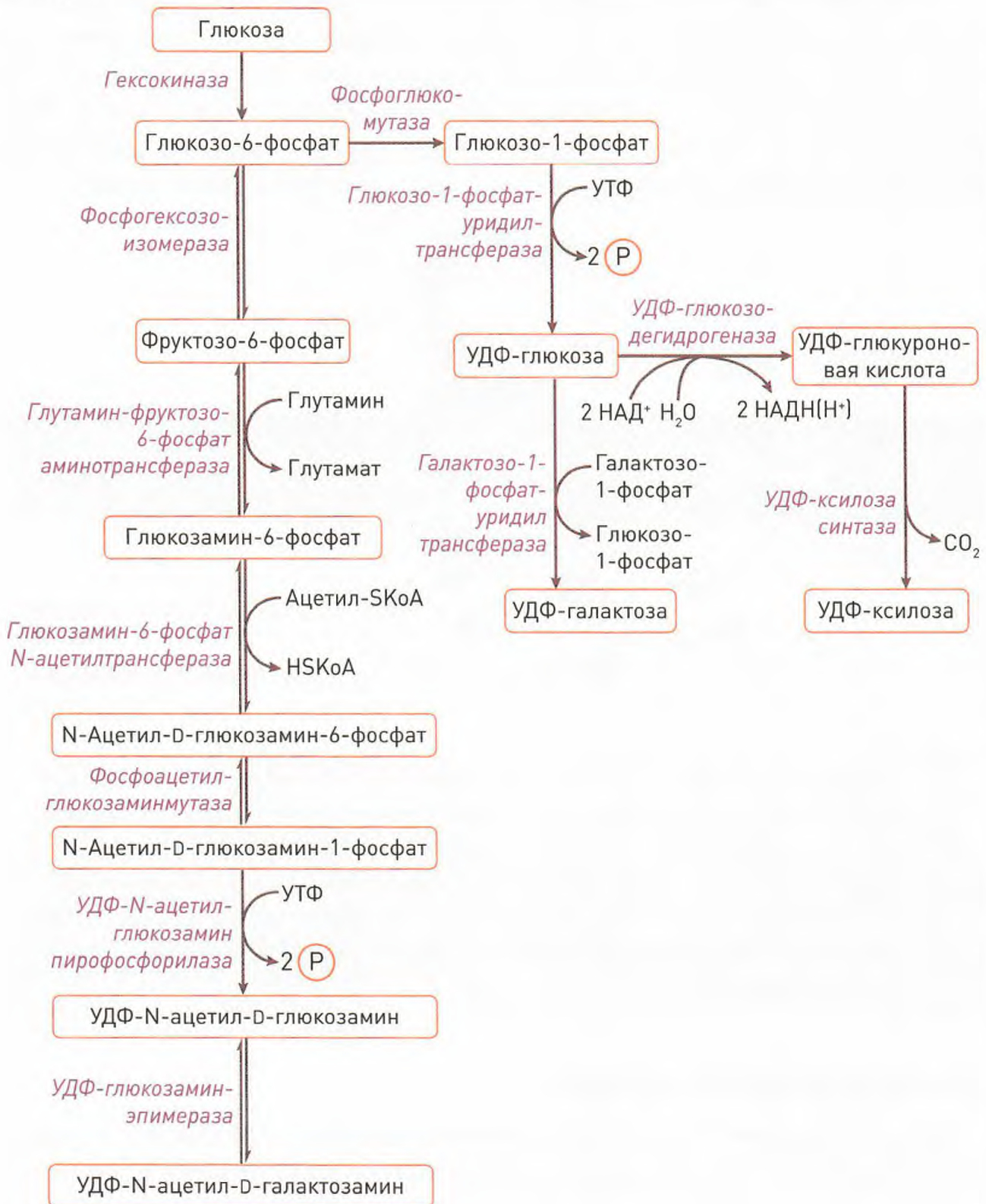
## Субстраты синтеза гликозаминогликанов

Моносахаридные остатки переносятся на растущую цепь ГАГ в виде УДФ-производных. Все основные компоненты для синтеза ГАГ можно получить из глюкозы в серии последовательных реакций трансминирования (переноса аминогруппы), ацетилирования (присоединения остатка уксусной кислоты — ацетильной группы), переноса остатков фосфорной кислоты и присоединения УДФ:

- глюкозамин в фосфорилированной форме (глюкозамин-6-фосфат) образуется из фруктозо-6-фосфата при участии глутамин-фруктозо-6-фосфатаминотрансферазы (КФ 2.6.1.16);
- глюкозамин-6-фосфат подвергается ацетилированию при помощи глюкозамин-6-фосфат N-ацетилтрансферазы (КФ 2.3.1.4);
- в молекуле N-ацетил-D-глюкозамин-6-фосфата остаток фосфорной кислоты переносится с гидроксильной группы у C<sub>6</sub> на C<sub>1</sub> с образованием N-ацетил-D-глюкозамин-1-фосфата, реакция катализируется фосфоацетилглюкозаминмутазой (КФ 5.4.2.3);
- N-ацетил-D-глюкозамин-1-фосфат вступает в реакцию с УТФ с образованием УДФ-N-ацетил-D-глюкозамина, реакция протекает при участии УДФ-N-ацетилглюкозамин пиррофосфорилазы (КФ 2.7.7.23).

УДФ-N-ацетил-D-галактозамин образуется в ходе эпимеризации УДФ-N-ацетил-D-глюкозамина. УДФ-галактоза, УДФ-глюкуронат и УДФ-ксилоза образуются из УДФ-глюкозы. Остаток идуроновой кислоты образуется

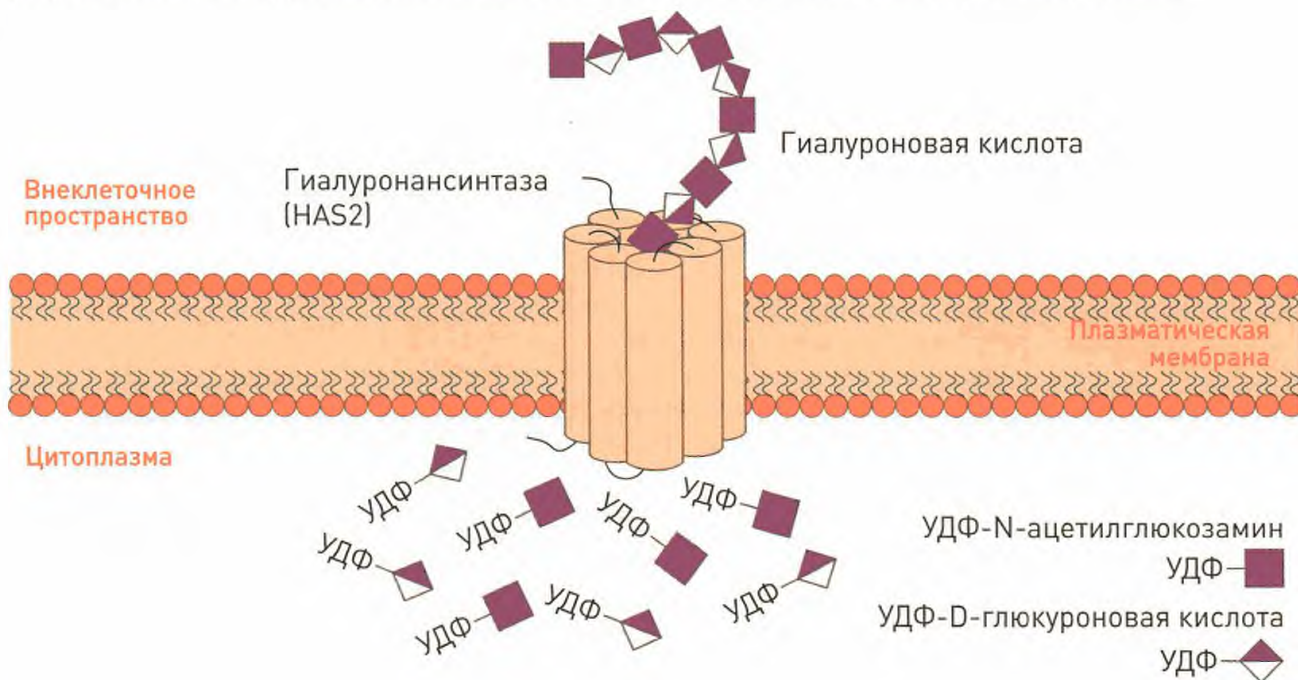
при эпимеризации глюкуроновой кислоты, когда остаток последней уже находится в составе ГАГ.



УДФ-N-ацетил-D-галактозамин и УДФ-N-ацетил-D-глюкозамин служат субстратами не только для синтеза ГАГ, но также для гликозилирования белков и синтеза ганглиозидов.

## Синтез гиалуроновой кислоты

В отличие от других ГАГ, гиалуроновая кислота не связывается с коровым белком и синтезируется не в аппарате Гольджи, а непосредственно на плазматической мембране. Субстратами для синтеза гиалуроновой кислоты служат находящиеся в цитоплазме УДФ-N-ацетил-D-глюкозамин и УДФ-D-глюкуроновая кислота. Реакцию катализируют мембранно-связанные ферменты гиалуронансинтазы (КФ 2.4.1.212, гены *HAS1*, *HAS2*, *HAS3*).



Гиалуронансинтазы играют важную роль в метастазировании опухолевой клетки: повышенная продукция злокачественными клетками гиалуроновой кислоты увеличивает способность клеток к миграции и тканевой инвазии. Взаимодействуя с рецепторами CD44 или RHAMM, гиалуроновая кислота активирует киназы, стимулирующие адгезию, а также сигнальный путь Akt, активирующий экспрессию остеопонтина, который, в свою очередь, облегчает миграцию клеток.

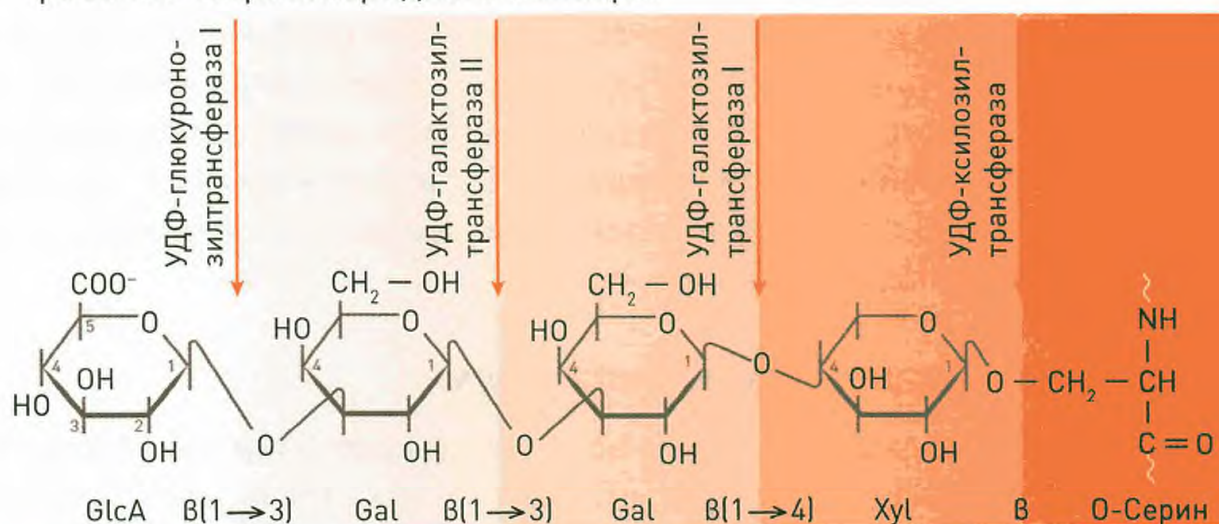
## Тетрасахаридный линкер

Тетрасахаридный линкер консервативен для всех ГАГ (кроме гиалуроновой кислоты и кератансульфата) и состоит из четырёх остатков моносахаридов, перечисленных в направлении от углеводной части к коровому белку: (ГАГ)<sub>n</sub>-глюкуроновая кислота-галактоза-галактоза-ксилоза-белок [-GlcAB(1→3)GalB(1→3)GalB(1→4)XylB(1-O-Cep)]\*. Присоединение тетра-

\* Иногда также встречается трисахаридный линкер, не содержащий остатка GlcA.

сахаридного линкера к коровому белку происходит в аппарате Гольджи при последовательном участии четырёх основных ферментов:

- УДФ-ксилозилтрансфераза (КФ 2.4.2.26, гены *XYLT1* и *XYLT2*), переносит остаток ксилозы с УДФ-ксилозы на остаток серина;
- В4-галактозилтрансфераза (КФ 2.4.1.133, ген *B4GALT7*, УДФ-галактозилтрансфераза I), переносит остаток галактозы, присоединяя его к остатку ксилозы В1,4-гликозидной связью;
- В3-галактозилтрансфераза (КФ 2.4.1.134, ген *B3GALT6*, УДФ-галактозилтрансфераза II), переносит остаток галактозы, присоединяя его к предыдущему остатку галактозы В1,3-гликозидной связью;
- УДФ-глюкуронозилтрансфераза I (КФ 2.4.1.135, гены *B3GAT1*, *B3GAT2*, *B3GAT3*), переносит остаток глюкуроновой кислоты, завершая формирование тетрасахаридного линкера.



### Синдром Элерса–Данло, спондилодиспластический вариант\*

Наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене *B4GALT7* (возможно также развитие схожих симптомов при мутациях в гене *B3GALT6*), сопровождающимся снижением активности галактозилтрансфераз. Характеризуется низкорослостью (рост менее 152 см), мышечной слабостью, повышенной подвижностью суставов, особенно суставов рук, искривлением конечностей. Часто встречаются синостозы, остеопения, кифосколиоз, повышенная растяжимость кожи (*cutis laxa*), снижение двигательных или умственных функций. Возможны аномалии лицевого скелета: треугольное уплощённое лицо с маленьким ртом, широко расположенными глазами с эпикантом, широкой плоской переносицей, низко посаженными ушами. Часто у таких пациентов встречаются аневризмы аорты, аортальный стеноз, арахнодактилия (удлинённые пальцы). Лечение симптоматическое.

\* Ранее использовался термин «прогероидный тип».

Корректному последовательному присоединению остатков тетрасахаридного линкера способствует структурная организация цистерн аппарата Гольджи. Ферменты находятся в разных отделах аппарата Гольджи\* и расположены по ходу движения синтезируемого протеогликана в направлении от ЭПР к цитоплазматической мембране. Важное значение имеет также градиент pH, достаточное содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и субстратов для синтеза ГАГ — УДФ-производных моносахаридов, которые образуются в цитоплазме и переносятся через мембрану цистерн аппарата Гольджи при помощи специальных белков-транспортёров.

Образование тетрасахаридного линкера является первым этапом синтеза ГАГ, наиболее важным для настройки скорости всего процесса. Так, фосфорилирование остатка ксилозы по гидроксильной группе у  $\text{C}_2$  облегчает присоединение четвёртого остатка GlcA. В случае если остаток ксилозы остаётся нефосфорилированным, вместо второго остатка галактозы часто присоединяется остаток сиаловой кислоты, и полноценная цепь ГАГ не образуется. Активность гликозилтрансфераз также может регулироваться путём сульфатирования уже присоединённых моносахаридных остатков. Этот механизм характерен для хондроитинсульфата/дерматансульфата, но не для гепарина/гепарансульфата.

## **Наращивание полисахаридной цепи**

Выбор типа ГАГ для наращивания цепи определяется тем, какой остаток будет присоединён следующим (пятым) после остатка глюкуроновой кислоты. Если пятым присоединяется N-ацетилглюкозамин, образуется гепарин или гепарансульфат, если N-ацетилгалактозамин — то хондроитинсульфат или дерматансульфат.

Состав полисахаридных фрагментов и их последующая модификация во многом обусловлены строением корового белка: определённой аминокислотной последовательности, как правило, соответствует специфический консервативный набор ГАГ. Однако структура корового белка — не единственный определяющий фактор: в клетках разного типа

\* В аппарате Гольджи существуют несколько отделов (cis-Гольджи, medial-Гольджи и trans-Гольджи), отличающихся между собой набором ферментов. Cis-Гольджи расположен ближе всего к ядру и, следовательно, шероховатому ЭПР, на рибосомах которого происходит синтез белка, trans-Гольджи наиболее удалён от ядра и ЭПР и, следовательно, ближе всего к цитоплазматической мембране. Присоединение остатка ксилозы при участии ксилозилтрансферазы может начинаться в ЭПР и в cis-Гольджи, остатки галактозы присоединяются в cis-Гольджи или medial-Гольджи, остатки глюкуроновой кислоты — в medial-Гольджи. Последующее наращивание полисахаридной цепи осуществляется в trans-Гольджи.

один и тот же белок может нести разный набор углеводных компонентов, например, протеогликан серглицин в большинстве клеток содержит хондроитинсульфат, а в тучных клетках — сульфатированный гепарин. Существует предположение, что природа присоединяемого остатка зависит от фосфорилирования или сульфатирования моносахаридных остатков тетрасахаридного линкера.

Наращивание цепи ГАГ происходит непосредственно в аппарате Гольджи\* при участии различных гликозилтрансфераз, которые переносят моносахаридные остатки с УДФ-моносахаридов на невозстановливающий конец растущей цепи ГАГ. Гликозилтрансферазы обладают высокой субстратной специфичностью по отношению к донору моносахаридного остатка и к конфигурации образуемой гликозидной связи (табл. 11.6).

**Таблица 11.6.** Основные гликозилтрансферазы, участвующие в синтезе гликозаминогликанов

Фермент	Реакция	КФ	Гены
Хондроитинсульфат-N-ацетилгалактозаминилтрансфераза	Переносит остаток $\alpha$ 1,4-N-ацетилгалактозамина (GalNAc) с УДФ-N-ацетилгалактозамина на остаток D-глюкуроновой кислоты [хондроитинсульфат]	2.4.1.174	<i>CSGALNACT1, CSGALNACT2</i>
Хондроитинсульфат синтаза	Переносит как остатки $\alpha$ 1,4-N-ацетилгалактозамина (GalNAc), так и $\beta$ 1,3-глюкуроновой кислоты [хондроитинсульфат]	2.4.1.175	<i>CHSY1, CHSY3</i>
Экзостозин-гликозилтрансферазы и экзостозин-подобные гликозилтрансферазы	Переносят остатки $\alpha$ 1,4-N-ацетилглюкозамина (GlcNAc) и $\beta$ 1,4-глюкуроновой кислоты (GlcA) при наращивании цепи [гепарансульфат]	2.4.1.223, 2.4.1.225	<i>EXTL2, EXTL3, EXT1, EXT2</i>
$\beta$ 1,4-Галактозилтрансфераза	Переносит остаток галактозы с УДФ-галактозы на остаток $\beta$ -N-ацетилглюкозамина [кератансульфат]	2.4.1.90	<i>B4GALT1, B4GALT2, B4GALT3, B4GALT4</i>
$\beta$ 1,3-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза	Переносит остаток N-ацетилглюкозамина на остаток $\beta$ -галактозы [кератансульфат]	2.4.1.149	<i>B3GNT7, B3GNT2</i>
$\beta$ 1,2-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза 1	Переносит остаток N-ацетилглюкозамина на остаток маннозы, связанной с коровым белком [кератансульфат типа III]	2.4.1.312	<i>POMGNT1</i>

\* Кроме гиалуроновой кислоты, которая синтезируется непосредственно на цитоплазматической мембране.



### **Наследственные множественные остеохондромы**

Заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, обусловлено мутациями в генах *EXT1* или *EXT2*, приводит к образованию неполноценного экостозина (экостозин-гликозилтрансферазы) и нарушению образования гепарансульфата. Распространённость — 1:50 тыс. новорождённых. Характеризуется образованием экостозов (доброкачественные костные опухоли, покрытые хрящевой тканью) в области метафизов трубчатых костей (вблизи локтевых, коленных, плечевых, запястных и других суставов). Чаще всего поражаются коленные (около 70% случаев) и локтевые (около 50% случаев) суставы. Вследствие нарушения метафизарного роста трубчатые кости искривляются и не могут расти в длину, у пациентов отмечается низкий рост и диспропорциональное развитие костной системы. В зависимости от локализации остеохондромы могут сдавливать нервные пучки, сосуды или сухожилия, вызывая соответствующий спектр клинических симптомов. Внутрисуставные остеохондромы могут ограничивать движения в суставах и вызывать боль.

Для диагностики важен сбор семейного анамнеза — так как заболевание наследуется по аутосомно-доминантному механизму, в 90% случаев схожие симптомы наблюдаются у одного из родителей (в 10% случаев мутация возникает *de novo*). Поскольку гепарансульфат играет важную роль в эмбриональном развитии, гомозиготная форма (при наследовании мутаций *EXT2* от обоих родителей) приводит к гибели на стадии гастрюлы. Во взрослом возрасте повышен риск развития злокачественных опухолей — хондросарком.

## **Эпимеризация остатков глюкуроновой кислоты**

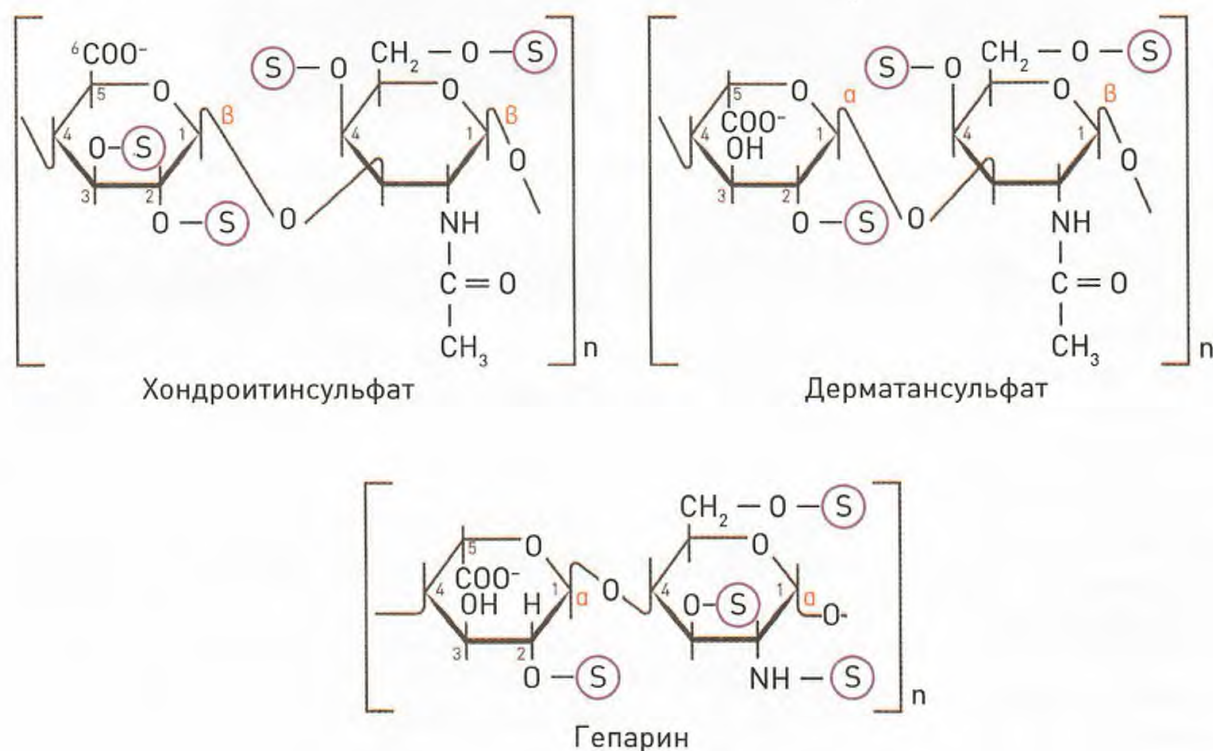
В составе дерматансульфата и гепарансульфата/гепарина вместо некоторых остатков D-глюкуроновой кислоты содержится остаток L-идуриновой кислоты, который образуется путём эпимеризации остатка D-глюкуроновой кислоты в уже синтезированной цепи ГАГ.

Дерматансульфат эпимераза (КФ 5.1.3.19, ген *DSE*) катализирует реакцию эпимеризации остатка D-глюкуроновой кислоты с образованием остатка L-идуриновой кислоты, требует участия ионов  $Mn^{2+}$  в качестве кофактора. Таким образом хондроитин-4-сульфат превращается в дерматан-4-сульфат.

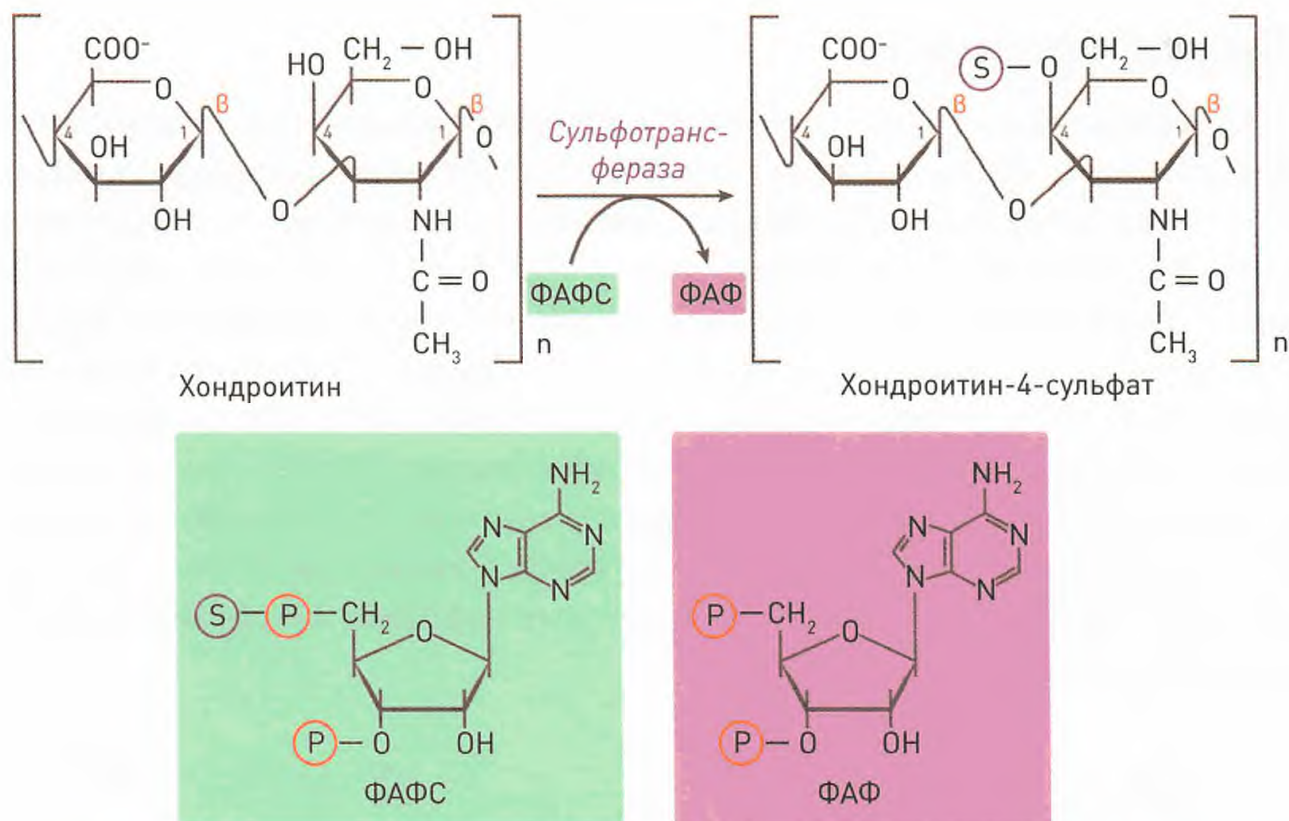
D-Глюкуронил- $C_5$ -эпимераза (КФ 5.1.3.17, ген *GLCE*) катализирует реакцию эпимеризации остатка D-глюкуроновой кислоты в составе N-сульфатированного гепарозана с образованием гепарансульфата.

## Сульфатирование

Сульфатирование ГАГ происходит в аппарате Гольджи при участии сульфотрансфераз. Они обладают относительной субстратной специфичностью и, поскольку каждый ГАГ содержит несколько возможных сайтов присоединения сульфата ( $-OH$ -группы всех углеводных остатков и  $-NH_2$ -группы остатков глюкозамина или галактозамина), число сульфотрансфераз, участвующих в сульфатировании ГАГ, составляет несколько десятков (табл. 11.7). Универсальным донором сульфатных групп для сульфотрансфераз служит 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС). Он образуется из одного иона свободного сульфата с затратой энергии двух молекул АТФ. Количество сульфатированных остатков, а также конкретные положения ( $-OH$ -группы, или  $-NH_2$ -группы, которые подлежат сульфатированию) в разных типах клеток различны.



Например, хондроитин-4-сульфотрансфераза-1 (CHST11, CHST12, CHST13) и хондроитин-6-сульфотрансфераза-1 (CHST3, CHST7) переносят сульфат с ФАФС на  $-OH$ -группы в позициях  $C_4$  и  $C_6$  хондроитина соответственно.



**Таблица 11.7.** Основные сульфотрансферазы, участвующие в реакциях сульфатирования гликозаминогликанов

Фермент	Реакция	КФ	Ген
Углеводные сульфотрансферазы 11, 12, 13 (хондроитин-4-сульфотрансферазы)	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_4$ остатка GalNAc хондроитина	2.8.2.5	<i>CHST11</i> , <i>CHST12</i> , <i>CHST13</i>
Углеводные сульфотрансферазы 3, 7 (хондроитин-6-сульфотрансферазы)	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_6$ остатка GalNAc хондроитина	2.8.2.17	<i>CHST3</i> , <i>CHST7</i>
Углеводная сульфотрансфераза 15 (N-ацетилгалактозамин-4-сульфат 6-O-сульфотрансфераза)	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_6$ остатка 4-O-сульфо-N-ацетил-D-галактозамина дерматана или хондроитина с образованием 4,6-ди-O-сульфо-N-ацетил-D-галактозамина	2.8.2.33	<i>CHST15</i>
Углеводная сульфотрансфераза 14 (дерматан-4-сульфотрансфераза)	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_4$ остатка N-ацетил-D-галактозамина дерматана	2.8.2.35	<i>CHST14</i>

## Окончание таблицы 11.7

Фермент	Реакция	КФ	Ген
Бифункциональная гепарансульфат N-деацетилаза/N-сульфотрансфераза-1	Катализирует реакцию деацетилирования и одновременно сульфатирования $-NH_2$ -группы остатка GlcNAc в молекуле гепарансульфата с образованием N-сульфатированного гепарозана	2.8.2.8	<i>NDST1</i> , <i>NDST2</i> , <i>NDST3</i> , <i>NDST4</i>
Гепарансульфат-2-O-сульфотрансфераза 1	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_2$ остатка уроновой кислоты гепарансульфата	2.8.2.X	<i>HS2ST1</i>
Гепарансульфат глюкозамин-6-O-сульфотрансфераза	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_6$ остатка N-сульфоглюкозамина (GlcNS) гепарансульфата	2.8.2.X	<i>HS6ST1</i> , <i>HS6ST2</i> , <i>HS6ST3</i>
Гепарансульфат глюкозамин 3-O-сульфотрансфераза 1, 4, 5, 6	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_3$ остатка GlcN гепарана	2.8.2.23	<i>HS3ST1</i> , <i>HS3ST4</i> , <i>HS3ST5</i> , <i>HS3ST6</i>
Гепарансульфат глюкозамин 3-O-сульфотрансфераза 2	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_3$ остатка GlcN, связанного с 2-O-сульфо-IdoA или 2-O-сульфо-GlcA гепарансульфата	2.8.2.29	<i>HS3ST2</i>
Гепарансульфат глюкозамин 3-O-сульфотрансфераза 3	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_3$ остатка GlcN, связанного с 2-O-сульфо-IdoA гепарансульфата	2.8.2.30	<i>HS3ST3A1</i> , <i>HS3ST3B1</i>
Углеводная сульфотрансфераза 6	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_6$ остатка GlcNAc кератана	2.8.2.X	<i>CHST6</i>
Углеводная сульфотрансфераза 1	Присоединение сульфата на $-OH$ -группу $C_6$ остатка Gal кератана	2.8.2.21	<i>CHST1</i>

Реакции присоединения сульфатов к дисахаридным остаткам гепаринов и гепарансульфатов протекают по различным сайтам сульфатирования неравномерно. В результате получаются N-ацетилированные (NA), N-сульфатированные (NS) и смешанные (NA/NS) домены. Образующаяся в результате последовательность сульфатированных остатков GlcNAc и эпимеров уроновых кислот формирует участки, способные специфически взаимодействовать с лиганд-связывающими доменами сигнальных молекул, например фактора роста фибробластов или антитромбина III.

При этом важное значение имеет не только сайт присоединения остатка сульфата, но также и конфигурация соседних моносахаридных остатков. Так, сульфотрансферазы HS3ST1 и HS3ST5 катализируют скорость-лимитирующий этап синтеза гепарансульфата. Сульфатирование ими –ОН-группы C<sub>3</sub> остатка глюкозамина гепарана определяет антикоагулянтную функцию гепарансульфата, завершая формирование пентасахарида, связывающегося с активным центром антитромбина. В то же время сульфатирование той же –ОН-группы C<sub>3</sub> остатка глюкозамина при участии сульфотрансфераз HS3ST2, HS3ST3A1 и HS3ST3B1 не приводит к завершению формирования биологически активного гепарансульфата из-за другой конфигурации соседних моносахаридных остатков.

### **Макулярная дистрофия роговицы**

*Макулярная дистрофия роговицы (дистрофия Фера) — редкое заболевание роговицы, наследуется по аутосомно-рецессивному механизму, обусловлено мутациями в гене CHST6. Сопровождается снижением прозрачности и чувствительности роговицы. Патогенез обусловлен накоплением несulfатированного кератана как внутри клеток (кератоцитов и эндотелиальных клеток), так и в строме роговицы. Манифестирует в первые 10 лет жизни, с постепенным прогрессирующим течением. Возможны болезненные атаки со светобоязнью, ощущениями инородного тела в глазу, рецидивирующими эрозиями роговицы. Требуется пересадка роговицы.*

### **Синдром Элерса–Данло, мышечно-контрактурный вариант**

*Обусловлен мутациями в генах CHST14 или, реже, DSE, сопровождается нарушением образования дерматансульфата. Диагностировано всего около 40 пациентов из 27 семей. Наследуется по аутосомно-рецессивному механизму. Типичные клинические признаки включают нарушения развития (дефекты лицевого черепа), повышенную эластичность кожи в сочетании с ломкостью сосудов и повышенным риском образования кровоподтёков, множественные контрактуры, увеличенную подвижность суставов с риском дислокации и вывихов, пневмоторакс. Лечение симптоматическое.*

## **Распад гликозаминогликанов**

Из внеклеточного пространства ГАГ поступают в клетку по механизму эндоцитоза и заключаются в эндоцитозные пузырьки, которые затем сливаются с лизосомами. Разрушение ГАГ осуществляется сульфатазами и гликозидазами в лизосомах, обеспечивая полную деградацию до мономеров (табл. 11.8).

**Таблица 11.8.** Ферменты, участвующие в катаболизме гликозаминогликанов

Фермент	Реакция	КФ	Ген
<i>Сульфатазы (отщепляют сульфат от остатка моносахарида в составе ГАГ)</i>			
Идуронат-2-сульфатаза	Гидролиз сульфатных групп в положении C <sub>2</sub> остатка идуроновой кислоты в молекулах дерматансульфата, гепарансульфата, гепарина	3.1.6.13	<i>IDS</i>
Арилсульфатаза В (N-ацетилгалактозамин-4-сульфатаза)	Гидролиз сульфатных групп в положении C <sub>4</sub> остатка N-ацетил-D-галактозамина в молекулах хондроитинсульфата и дерматансульфата	3.1.6.12	<i>ARSB</i>
N-Сульфоглюкозамин сульфогидролаза (гепаран-N-сульфатаза)	Гидролиз сульфатных групп от -NH <sub>2</sub> -группы D-глюкозамина в молекулах гепарансульфата	3.10.1.1	<i>SGSH</i>
Арилсульфатаза К (глюкуронат-2-сульфатаза)	Гидролиз сульфатных групп в положении C <sub>2</sub> остатка глюкуроновой кислоты в молекулах хондроитинсульфата, гепарансульфата, гепарина	3.1.6.18	<i>ARSK</i>
N-Ацетилглюкозамин-6-сульфатаза	Гидролиз сульфатных групп в положении C <sub>6</sub> остатка N-ацетил-D-глюкозамина в молекулах гепарансульфата и кератансульфата	3.1.6.14	<i>GNS</i>
N-Ацетилгалактозамин-6-сульфатаза	Гидролиз сульфатных групп в положении C <sub>6</sub> остатка N-ацетил-D-галактозамина в молекулах хондроитинсульфата и D-галактозы в молекулах кератансульфата	3.1.6.4	<i>GALNS</i>
<i>Гликозидазы (катализируют гидролиз гликозидных связей между остатками моносахаридов в ГАГ)</i>			
α-L-Идуронидаза	Гидролиз гликозидной связи с несulfатированным остатком идуроновой кислоты в молекуле дерматансульфата	3.2.1.76	<i>IDUA</i>
β-Глюкуронидаза	Гидролиз гликозидной связи с остатком β-D-глюкуроновой кислоты с невозстановливающего конца молекул дерматансульфата и гепарансульфата	3.2.1.31	<i>GUSB</i>

## Окончание таблицы 11.8

Фермент	Реакция	КФ	Ген
$\beta$ -Гексозаминидазы А, В, S	Гидролиз гликозидной связи с остатком N-ацетил-D-гексозамина или сульфатированного N-ацетил-D-гексозамина с невосстанавливающего конца хондроитинсульфатов, дерматансульфатов и гликофинголипидов. Гексозаминидаза А состоит из двух субъединиц $\alpha/\beta$ , гексозаминидаза В — субъединицы $\beta/\beta$ , гексозаминидаза S — субъединицы $\alpha/\alpha$	3.2.1.52	<i>HEXA</i> (субъединица $\alpha$ ) и <i>HEXB</i> (субъединица $\beta$ )
$\alpha$ -N-Ацетилглюкозаминидаза	Гидролиз гликозидной связи с остатком N-ацетил-D-глюкозамина с невосстанавливающего конца молекул гепарансульфата	3.2.1.50	<i>NAGLU</i>
$\beta$ -Галактозидаза 1	Гидролиз гликозидной связи с остатком галактозы с невосстанавливающего конца молекул кератансульфата и других полисахаридов	3.2.1.23	<i>GLB1</i>

*Ацетилтрансферазы*

Гепаран- $\alpha$ -глюкозаминид-N-ацетилтрансфераза	Переносит ацетильную группу на $-\text{NH}_2$ -группу остатка D-глюкозамина гепарансульфата	2.3.1.78	<i>HGSNAT</i>
---	---	----------	---------------

**Мукополисахаридозы**

*Мукополисахаридозы* (МПС) — заболевания группы лизосомных болезней накопления, связанные с недостаточностью ферментов метаболизма ГАГ, характеризуются избыточным накоплением ГАГ в тканях (табл. 11.9). Все МПС наследуются аутосомно-рецессивно, за исключением МПС II типа, который наследуется X-сцепленно.

**Таблица 11.9.** Дефициты ферментов при различных типах мукополисахаридозов

Тип	Синдром	Дефицит фермента
МПС I (H, S, H/S)	Гурлер, Гурлер–Шейе, Шейе (ранее МПС V)	$\alpha$ -L-Идуронидаза
МПС II	Хантера	Идуронат-2-сульфатаза
МПС III (A, B, C, D)	Санфилиппо	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Гепаран-N-сульфатаза (тип A).</li> <li>• <math>\alpha</math>-N-Ацетилглюкозаминидаза (тип B).</li> <li>• Гепаран-<math>\alpha</math>-глюкозаминид-N-ацетилтрансфераза (тип C).</li> <li>• N-Ацетилглюкозамин-6-сульфатаза (тип D)</li> </ul>
МПС IV (A, B)	Моркио	<ul style="list-style-type: none"> <li>• N-Ацетилгалактозамин-6-сульфатаза (тип A).</li> <li>• <math>\beta</math>-Галактозидаза 1 (тип B).</li> </ul>
МПС VI	Марото–Лами	N-Ацетилгалактозамин-4-сульфатаза
МПС VII	Слая	$\beta$ -Глюкуронидаза
МПС IX	Натовица	Гиалуронидаза

Клинические проявления МПС существенно варьируют и определяются тяжестью поражения органов, обусловленного накоплением ГАГ:

- накопление ГАГ в костной и хрящевой ткани — низкий рост с диспропорциональным строением скелета, грубые черты лица, кифосколиоз, деформация грудной клетки, тугоподвижность и контрактуры суставов, деформация суставов;
- накопление ГАГ в паренхиматозных органах — гепатоспленомегалия, бронхопатии;
- накопление ГАГ в ЦНС — нарушение умственного развития, снижение интеллекта, неврологические дефициты [при МПС I (Гурлер), МПС II].

Лабораторная диагностика МПС включает:

- количественный и качественный анализ ГАГ в моче (табл. 11.10), как правило, не характеризует тяжесть заболевания\*;
- определение активности ферментов в крови;
- ДНК-диагностику (выявление мутации в гене).

\* При различных МПС накапливаются и выделяются с мочой разные ГАГ. Однако нормальный уровень ГАГ не даёт возможности однозначно исключить МПС. Нормальный спектр ГАГ может наблюдаться при МПС IV типа до 40% случаев. Кроме того, по анализу ГАГ невозможно дифференцировать МПС I, II и VII типов.



в катаболизме гиалуронанов в большинстве соматических клеток играют гиалуронидазы HYAL1 и HYAL2. HYAL2 заякорена в мембране и участвует в гидролизе высокомолекулярных гиалуронанов, в основном после их связывания с рецептором CD44. Образовавшиеся низкомолекулярные гиалуронаны в составе эндолизосом попадают внутрь клетки, где становятся субстратами для HYAL1.



Ускоряя катаболизм гиалуронанов соединительной ткани, гиалуронидазы уменьшают вязкость ВКМ, тем самым увеличивая диффузию жидкостей в тканях и уменьшая их объём. Гиалуронидаза снижает отёчность ткани, размягчает и уплощает рубцы, увеличивает объём движений в суставах, уменьшает контрактуры и предупреждает их формирование. Препараты гиалуронидазы (животного происхождения или рекомбинантные аналоги HYAL5) используются для лечения ожоговых, травматических, послеоперационных рубцов; длительно незаживающих язв (в том числе лучевых); контрактуры Дюпюитрена; тугоподвижности суставов, тяжёлых заболеваний поясничных дисков; хронического тендовагинита, кожных проявлений склеродермии, гематом мягких тканей поверхностной локализации.

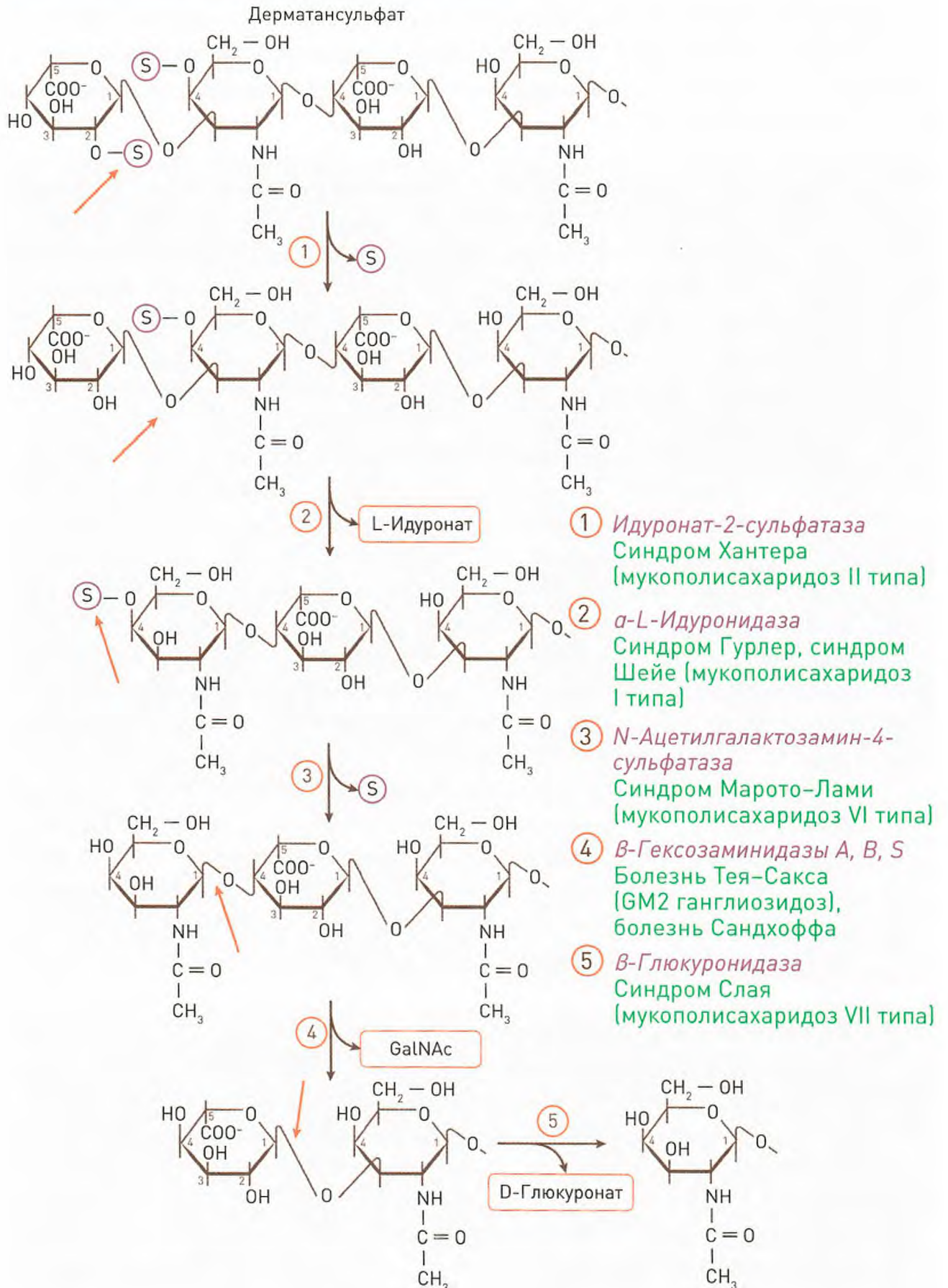
Использование гиалуронидаз облегчает проникновение лекарственных препаратов в ткани при местном применении (подкожно, внутримышечно, ингаляционно, в виде аппликаций на поверхность кожи и слизистых оболочек). Это их свойство используется, например, в офтальмохирургии — для повышения эффективности местных анестетиков, а также при туберкулёзе лёгких с продуктивным характером воспаления (в составе комплексной терапии для повышения концентрации антибактериальных средств в очагах поражения). Гиалуронидаза входит в состав белковых лекарственных препаратов для подкожного и внутримышечного введения (иммуноглобулинов, ритуксимаба, трастузумаба, даратумумаба и др.). Гиалуронидазы также широко используются в косметологии в качестве ферментов, разрушающих основной компонент филлеров — гиалуроновую кислоту, при необходимости уменьшить объём искусственно увеличенных тканей.

### **Синдром Натовица (мукополисахаридоз IX типа)**


Ультраредкое наследственное заболевание, обусловлено мутациями в гене HYAL1, сопровождается дефицитом гиалуронидазы и нарушением катаболизма гиалуроновой кислоты. Клинически проявляется увеличением в объёме мягких тканей, периодическими тотальными болезненными отёками, средним отитом, низкорослостью. Дисморфические черты включают уплощённую переносицу, «заячью губу», расщепление нёбного язычка. Лечение симптоматическое.



## Катаболизм дерматансульфата



### **Синдром Хантера (мукополисахаридоз II типа)**




Врождённое заболевание с X-сцепленным типом наследования, обусловлено мутациями в гене *IDS*, приводящими к снижению активности идуронат-2-сульфатазы. Встречается с частотой 1:100–150 тыс. новорождённых. Болеют преимущественно мальчики. Сопровождается накоплением и выделением с мочой гепарансульфата и дерматансульфата.

Первые симптомы включают грыжи, частые инфекционные заболевания верхних дыхательных путей и среднего уха. По мере накопления в тканях ГАГ симптомы становятся более явными: изменяются черты лица (гаргуилизм). Характерные дисморфические признаки включают уплощённую переносицу, большой, не помещающийся во рту язык, увеличение головы, вздёрнутый широкий нос, редкие зубы, короткую шею и низко посаженные уши. Накопление ГАГ в органах сопровождается прогрессирующей гепатомегалией, утолщением сердечных клапанов и стенок миокарда, бронхов и бронхиол, что приводит к кардиомиопатии и обструкции дыхательных путей. Накопление ГАГ в тканях суставов сопровождается нарушением их подвижности. На коже рук, ног и верхней части спины у детей могут наблюдаться участки светлой шероховатой кожи (цвета слоновой кости). Накопление ГАГ в ЦНС приводит к нарушению умственного развития, в некоторых случаях гиперактивности и агрессивности. Диагноз таким пациентам, как правило, устанавливают в возрасте от 18 до 36 мес, в лёгких формах — в позднем дошкольном возрасте.

Для диагностики используют определение ГАГ в моче, измерение активности идуронат-2-сульфатазы в плазме крови, а также определение мутаций гена *IDS*. Лечение включает ферментозаместительную терапию рекомбинантными препаратами идуронат-2-сульфатазы, в последние годы используется трансплантация гемопоэтических стволовых клеток и редактирование генома.

В тяжёлых случаях заболевание заканчивается летальным исходом в детском возрасте, иногда пациенты могут жить до 50–60 лет. Раннее появление симптомов коррелирует с негативным прогнозом. Причиной смерти пациентов, как правило, становится патология сердца или лёгких.



Рекомбинантные препараты идуронат-2-сульфатазы (идурсульфаза, идурсульфаза бета) используются для пожизненной ферментозаместительной терапии у пациентов с синдромом Хантера. Препараты вводят внутривенно 1 раз в неделю. Ферментозаместительная терапия может останавливать прогрессирование соматических симптомов, улучшать подвижность суставов, но, поскольку фермент не проникает через гематоэнцефалический барьер, такая терапия не влияет на тяжесть неврологических нарушений.



### **Синдром Гурлер (мукополисахаридоз I типа)**

Врождённое заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловлено мутациями в гене IDUA, приводящими к снижению активности  $\alpha$ -L-идуронидазы. Частота 1:100 тыс. новорождённых. Приводит к нарушению катаболизма и накоплению в организме дерматансульфата и гепарансульфата.

Манифестирует в первые годы жизни, выраженность симптомов переменна. Примерно в возрасте 10–14 мес проявляются характерные изменения черт лица (гаргуилизм): увеличение размеров головы, уплощение переносицы, широко посаженные глаза, крупные губы, постоянно открытый рот. Другие ранние симптомы включают паховые и пупочные грыжи, уменьшение прозрачности роговицы и дегенерацию сетчатки, возможна патология аортального клапана. Вследствие патологии костной системы у пациентов постепенно деформируются позвоночник и кости тазового пояса, нарушая подвижность суставов и приводя к сдавлению нервных стволов. Накопление ГАГ в печени и селезёнке обуславливает развитие гепатоспленомегалии. Характерно снижение умственного развития. Летальный исход наступает, как правило, в возрасте до 10–15 лет.

Диагноз устанавливают на основании обнаружения ГАГ в моче, снижения активности  $\alpha$ -L-идуронидазы в крови и выявления мутации в гене IDUA. В лечении используют ферментозаместительную терапию препаратом рекомбинантной идуронидазы (ларонидаза). Аномалии развития костной системы могут требовать хирургической или ортопедической коррекции. Исследуется возможность трансплантации костного мозга и генотерапии.


### **Синдром Шейе (мукополисахаридоз I типа)**

Мягкая форма мукополисахаридоза I типа, также обусловлена мутациями в гене IDUA, которые, в отличие от синдрома Гурлер, приводят к менее выраженному снижению активности  $\alpha$ -L-идуронидазы. Манифестирует в возрасте около 5 лет, но часто может оставаться недиагностированным до 10 лет. Проявляется патологией органа зрения (снижением прозрачности роговицы, глаукомой, дегенерацией сетчатки), возможен незначительный дизморфизм лица. У некоторых пациентов возможно нарушение умственного развития, встречается патология аортального клапана и регургитация аорты, синдром карпального канала, апноэ. Продолжительность жизни существенно не отличается от нормальной.



Препарат рекомбинантной  $\alpha$ -L-идуронидазы (ларонидаза) используется для ферментозаместительной терапии у пациентов с мукополисахаридозом I типа. Вводится внутривенно 1 раз в неделю пожизненно.


### **Синдром Марото–Лами (мукополисахаридоз VI типа)**



Наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным механизмом наследования, обусловлено мутациями в гене *ARSB*, сопровождается образованием дефектной арилсульфатазы В. Заболеваемость, по различным данным, существенно варьирует, от 1:43 тыс. до 1:1505 тыс. новорождённых. При синдроме Марото–Лами накапливаются дерматансульфат и хондроитинсульфат. В отличие от других типов МПС, пациенты с синдромом Марото–Лами, как правило, имеют нормальный уровень умственного развития. Фенотипически схож с синдромом Гурлер: снижение прозрачности роговицы, макроцефалия, дизморфизм лица, глухота, грыжи, патология сердечных клапанов, гепатомегалия, утолщение твёрдой мозговой оболочки, боль, обусловленная сдавлением и травматизацией нервов. До 8 лет дети растут нормально, но после 8 лет рост приостанавливается с исходом в диспропорциональную карликовость: короткое туловище, множественные патологии костной системы, часто с искривлением позвоночника и ограничением подвижности в суставах.


Для диагностики определяют содержание в моче дерматансульфата, активность арилсульфатазы В в крови или фибробластах, а также определение дефектов гена *ARSB*. В лечении используется препарат рекомбинантной арилсульфатазы В (галсульфаза). Синдром карпального канала, гидроцефалия, грыжи и костные аномалии требуют хирургического вмешательства.

Прогноз в значительной степени зависит от тяжести заболевания: в тяжёлых случаях продолжительность жизни редко превышает 15 лет, при мягкой форме заболевания пациенты доживают до зрелого возраста, однако общая продолжительность жизни у них часто бывает сниженной.



Препарат рекомбинантной N-ацетилгалактозамин-4-сульфатазы (галсульфаза) используется для ферментозаместительной терапии у пациентов с синдромом Марото–Лами. Вводится внутривенно 1 раз в неделю пожизненно.

### **Болезнь Тея–Сакса (GM2 ганглиозидоз)**



Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутацией в гене *HEXA*, приводящей к образованию дефектной гексозаминидазы А и S. Распространённость существенно варьирует, достигая 1:3,6 тыс. новорождённых в популяции евреев ашкенази, амишей или канадцев французского происхождения. Приводит к накоплению широкого спектра субстратов, в деградации которых участвуют гексозаминидазы: ГАГ и сфинголипидов (ганглиозидов).

В клинической картине преобладают неврологические симптомы: потеря слуха, слепота, спастичность и паралич. В зависимости от возраста появ-

ления симптомов выделяют несколько клинических форм: инфантильную (манифестирует в возрасте до 12 мес), ювенильную (манифестирует в возрасте от 2 до 10 лет), с поздним началом (манифестирует в возрасте 30–40 лет). В диагностике используют измерение активности гексозаминидазы А в сыворотке крови, лейкоцитах или фибробластах и молекулярно-генетические методы. При офтальмоскопическом обследовании характерным клиническим признаком служит симптом «вишнёвого пятна» — красное пятно в области фовеа (центральной ямки жёлтого пятна сетчатки), появляющееся вследствие накопления ганглиозидов в ганглионарных клетках.

Лечение симптоматическое. Летальный исход при инфантильной форме наступает в возрасте до 5 лет, в относительно лёгкой ювенильной форме — около 15 лет.

### **Болезнь Сандхоффа**

Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутацией в гене *HEXB*, приводящей к образованию дефектной гексозаминидазы А и В. Сопровождается накоплением гангликозидов GM2, GA2, ГАГ и олигосахаридов.

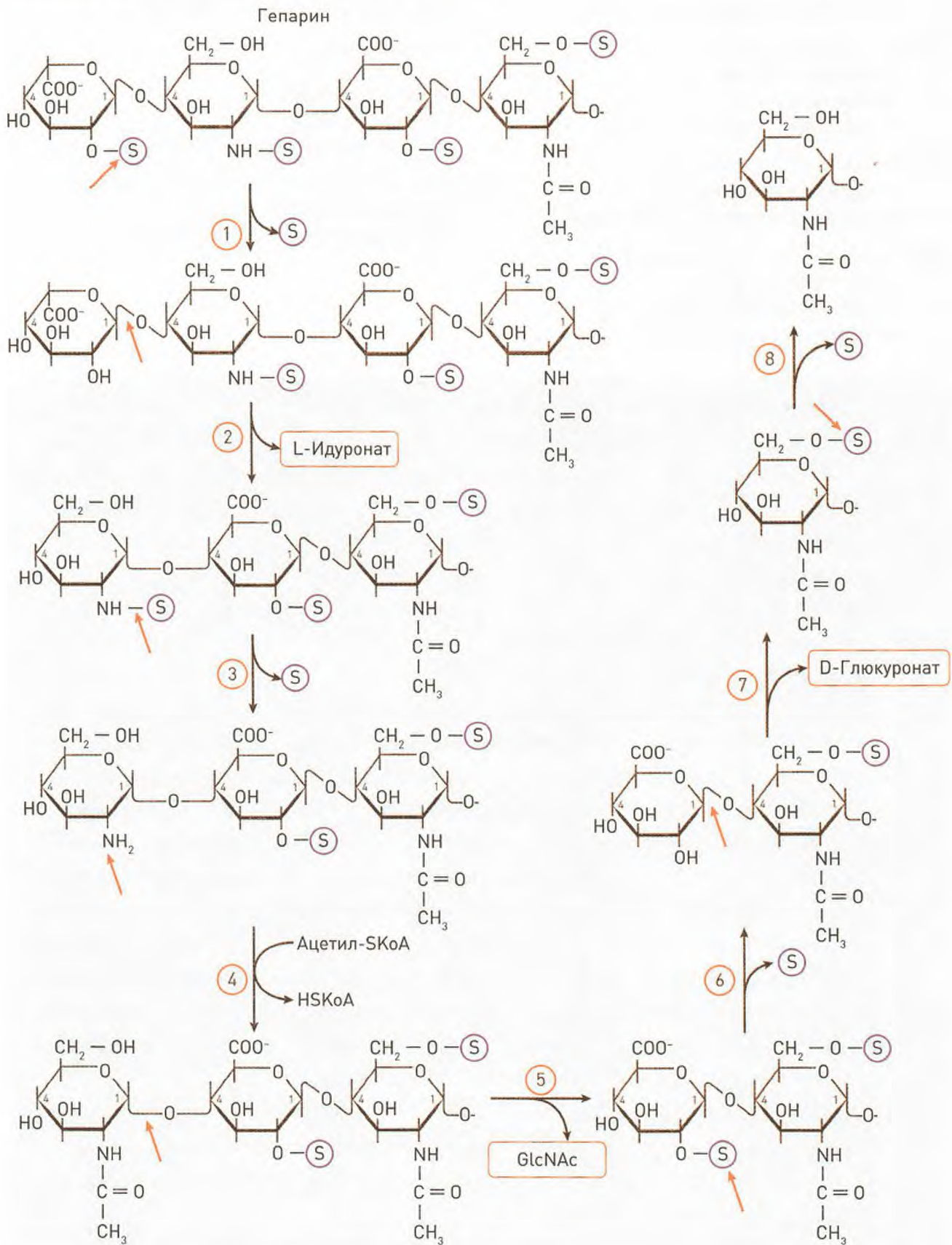
Инфантильная форма более злокачественная по сравнению с болезнью Тея–Сакса. Манифестирует в возрасте до 6 мес, проявляется тяжёлыми неврологическими нарушениями. Помимо неврологической патологии, у детей отмечаются гепатоспленомегалия, частые респираторные инфекции. Как и при болезни Тея–Сакса, существуют более редкие ювенильная форма и форма с поздним началом.

Лечение симптоматическое. Прогноз при инфантильной форме неблагоприятный, пациенты погибают в возрасте от 1 до 3 лет. При ювенильной форме продолжительность жизни около 15 лет.

### **Синдром Слая (мукополисахаридоз VII типа)**

Наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным механизмом наследования, обусловлено мутациями в гене *GUSB*, сопровождается образованием дефектной β-глюкуронидазы. Встречается с частотой 1:250 тыс. новорождённых. Клинические проявления включают увеличение размера головы (может сопровождаться гидроцефалией и отёком мозга), гепатоспленомегалию, аномалии костного скелета, увеличенный язык, патологию клапанов сердца, деформацию суставов, комплексные дизостозы, синдром карпального канала и различные грыжи. Пациенты с синдромом Слая часто страдают от лёгочных инфекций, нарушений зрения, обусловленных затуманиванием роговицы. Накопление ГАГ в головном мозге неизбежно приводит к ухудшению когнитивных функций, начиная с раннего детского возраста. Степень тяжести существенно варьирует. Часто приводит к летальному исходу непосредственно после рождения, иногда манифестирует в раннем детском возрасте и медленно прогрессирует. Для ферментозаместительной терапии используют препарат рекомбинантной β-глюкуронидазы вестронидаза альфа.

## Катаболизм гепарансульфата



- ① **Идуронат-2-сульфатаза**  
Синдром Хантера  
(мукополисахаридоз II типа)
- ②  **$\alpha$ -L-Идуронидаза**  
Синдром Гурлер,  
синдром Шейе  
(мукополисахаридоз I типа)
- ③ **Гепаран-N-сульфатаза**  
Синдром Санфилиппо  
(мукополисахаридоз IIIA типа)
- ④ **Гепаран- $\alpha$ -глюкозаминид-N-ацетилтрансфераза**  
Синдром Санфилиппо  
(мукополисахаридоз IIIC типа)
- ⑤  **$\alpha$ -N-Ацетилглюкозаминидаза**  
Синдром Санфилиппо  
(мукополисахаридоз IIIB типа)
- ⑥ **Глюкуронат-2-сульфатаза**
- ⑦  **$\beta$ -Глюкуронидаза**  
Синдром Слая  
(мукополисахаридоз VII типа)
- ⑧ **N-Ацетилглюкозамин-6-сульфатаза**  
Синдром Санфилиппо D  
(мукополисахаридоз IIID типа)

### **Синдром Санфилиппо (мукополисахаридоз III типа)**

Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное мутациями в различных генах, кодирующих ферменты катаболизма гепарансульфата. Сопровождается патологией головного и спинного мозга. Частота составляет 1:70 тыс. новорождённых.

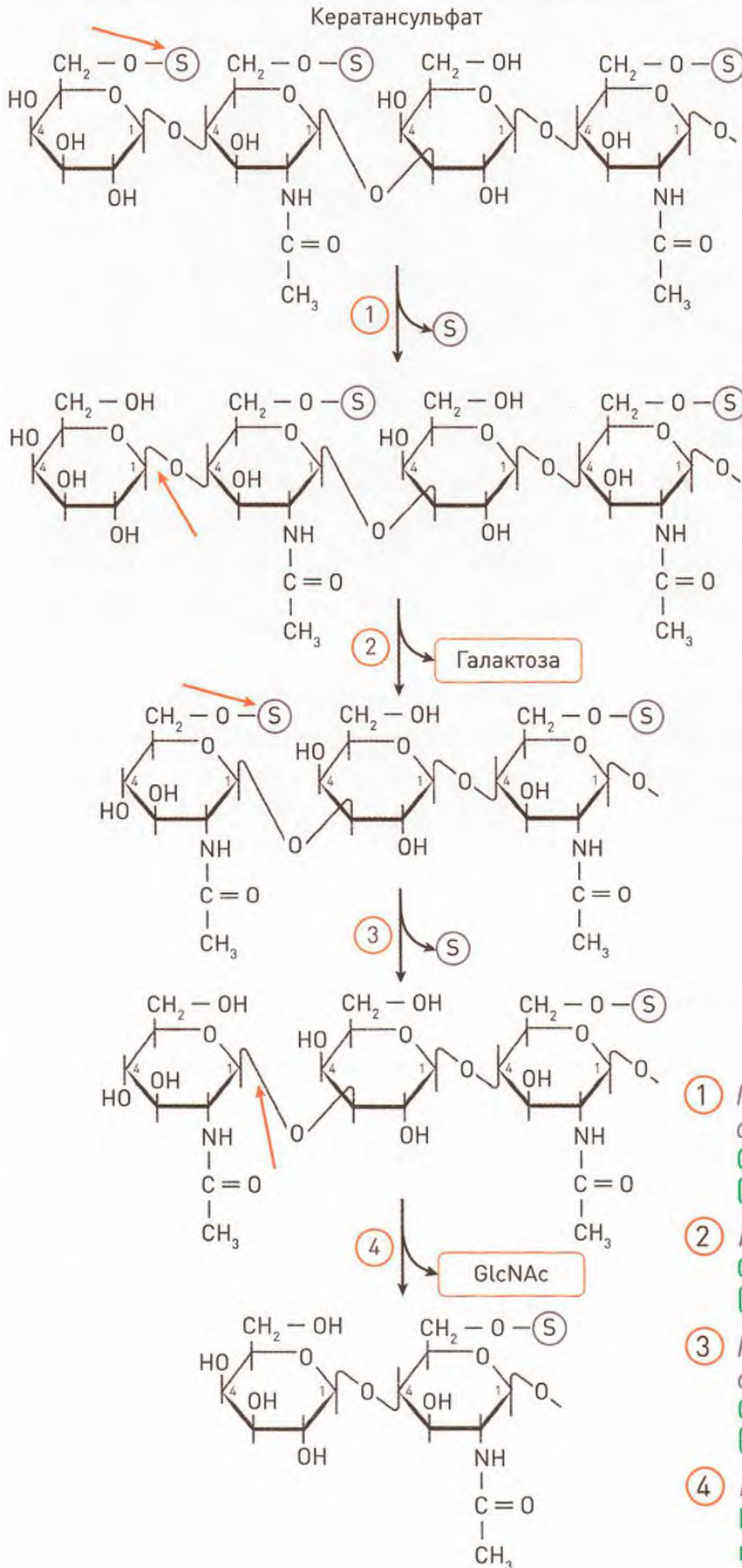
- ✦ Тип A — мутация в гене *SGSG* (около 60% всех случаев).
- ✦ Тип B — мутация в гене *NAGLU* (около 30% всех случаев).
- ✦ Тип C — мутация в гене *HGSNAT*.
- ✦ Тип D — мутация в гене *GNS*.

В первые 2 года дети развиваются, как правило, нормально. Симптомы появляются обычно в возрасте от 2 до 6 лет. Ранними признаками заболеваний у детей могут быть увеличение размеров головы и пупочные грыжи. По мере накопления гепарансульфата в ЦНС прогрессирует умственная недостаточность (освоенные в первые годы жизни навыки ребёнок теряет, вплоть до полной деменции), на поздних стадиях развития заболевания могут присоединяться двигательные неврологические нарушения. У детей отмечают повышенную раздражительность, иногда агрессивное поведение, нарушения сна. Среди всех МПС для синдрома Санфилиппо характерно минимальное количество фенотипических признаков заболевания. Возможны остеонекроз головки бедренной кости, атрофия зрительного нерва, отиты и глухота, тугоподвижность суставов.

Диагностику осуществляют на основании обнаружения повышенного уровня гепарансульфата в моче, изменения активности соответствующих ферментов в лейкоцитах и фибробластах, выявления мутаций в генах. Лечение в основном симптоматическое.

Большинство пациентов погибают в возрасте до 20 лет. Наихудший прогноз у синдрома Санфилиппо типа A.

## Катаболизм кератансульфата



- ① *N*-Ацетилгалактозамин-6-сульфатаза  
Синдром Моркио  
(мукополисахаридоз IVA типа)
- ② *β*-Галактозидаза 1  
Синдром Моркио  
(мукополисахаридоз IVB типа)
- ③ *N*-Ацетилглюкозамин-6-сульфатаза  
Синдром Санфилиппо  
(мукополисахаридоз IIID типа)
- ④ *β*-Гексозаминидаза A, B  
Болезнь Тея-Сакса  
и Сандхоффа



### **Синдром Моркио (мукополисахаридоз IV типа)**

Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное дефектами ферментов катаболизма кератансульфата. Частота 1:200–300 тыс. новорождённых.

Клинические признаки появляются в возрасте от 1 до 3 лет. Характерны прогрессирующие изменения костей грудной клетки, что может приводить к сдавлению нервов, потеря слуха и снижение прозрачности роговицы. Умственное развитие, как правило, сохраняется нормальным, за исключением случаев тяжёлой гидроцефалии. Рост замедлен и в возрасте примерно 8 лет останавливается. У взрослых костная патология включает искривление позвоночника, укорочение трубчатых костей, дисплазию бедренных, коленных, локтевых и запястных суставов.

Для диагностики используют определение кератансульфата в моче, активности ферментов и мутаций соответствующих генов. Лечение синдрома Моркио типа А может включать пожизненную ферментозаместительную терапию препаратом элосульфаза альфа. В тяжёлых случаях пациенты живут не более 20–30 лет.



Рекомбинантная человеческая N-ацетилгалактозамин-6-сульфатаза (элосульфаза альфа) используется для ферментозаместительной терапии у пациентов с синдромом Моркио типа А. Вводится внутривенно капельно 1 раз в неделю пожизненно.

## **Рекомендуемая литература**

*Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt. Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level, 5th Edition. 2016. Wiley, 1184 p.*

*David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.*

*Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Gregory J. Gatto Jr., Lubert Stryer. Biochemistry, 9th edition. 2019. W.H. Freeman and Company, 1208 p.*

*Michael King. Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014. McGraw Hill, 912 p.*

## Задания для обсуждения



Непосредственно после синтеза протеогликаны накапливаются в секреторных везикулах, из которых впоследствии выбрасываются в кровь. В этих везикулах, помимо протеогликанов, содержится большое количество ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которые также попадают во внеклеточную среду.

- Опишите локализацию ферментов и этапы синтеза протеогликанов в клетке.
- Почему ГАГ (и соответственно протеогликаны) в водном растворе занимают существенно больший объем, чем в дегидратированном виде?
- Какую роль выполняют ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в процессе высвобождения протеогликанов из клетки?
- Какие функции выполняют протеогликаны, секретируемые клеткой в ВКМ?



Родители 2-летнего ребёнка обратились к врачу. Поводом для беспокойства послужило следующее: у ребёнка постепенно (с рождения) увеличивался в размере живот, тело развивалось непропорционально, а черты лица начали приобретать «уродливый» вид. При осмотре: увеличенные нос, губы и язык, низко посаженные уши, гепатоспленомегалия, помутнение роговицы, укороченное туловище. Рентгенологическое исследование показало удлинение диафизов трубчатых костей в сочетании с недоразвитыми эпифизами, дизостоз. Врач предположил диагноз мукополисахаридоза I типа (синдром Гурлер).

- С врождённым дефицитом какого фермента связан мукополисахаридоз I типа?
- Накопление каких ГАГ в тканях у ребёнка можно ожидать при этом заболевании?
- С какими заболеваниями следует провести дифференциальную диагностику?
- Предложите план лабораторных исследований для подтверждения диагноза.



У мальчика, 10 мес, отмечается выраженная задержка развития. При осмотре: макроцефалия, грубые черты лица, гипотония, гепатоспленомегалия. На коже спины ребёнка — пятно светлой шероховатой кожи (цвета слоновой кости). Активность идуронат-2-сульфатазы в плазме крови не определяется.

- Какой тип мукополисахаридоза следует предположить у ребёнка?
- Накопление каких ГАГ в тканях можно ожидать при этом заболевании?
- Какие способы лечения этого заболевания вам известны?
- Предположите прогноз течения заболевания. Каких осложнений следует опасаться?



У девочки, 9 лет, отмечается выраженная задержка физического развития. При осмотре: задержка роста (карликовость), гепатоспленомегалия, помутнение роговицы. Врач заподозрил врождённое нарушение метаболизма (мукополисахаридоз) и назначил дополнительные исследования, по результатам которых обнаружено снижение активности арилсульфатазы В (N-ацетилгалактозамин-4-сульфатаза) и накопление дерматансульфата в фибробластах кожи.

- Какой тип мукополисахаридоза следует предположить у ребёнка?

- Б. Какую реакцию катализирует этот фермент?
- В. Какие способы лечения этого заболевания вам известны?



Юноша, 16 лет, с дошкольного возраста наблюдается у генетика, диагностирован синдром Хантера (мукополисахаридоз II типа). В течение последних 10 лет заболевание медленно прогрессирует, последние 7 лет получает ферментозаместительную терапию препаратом идурсульфаза (рекомбинантная идуронат-2-сульфатаза). На фоне терапии снизилась тяжесть проявлений со стороны опорно-двигательного аппарата (уменьшилась тугоподвижность суставов), улучшилась функция миокарда, однако неврологические симптомы и умственная отсталость продолжают усугубляться.

- А. Какую реакцию катализирует дефектный фермент, и накопление каких ГАГ обуславливает имеющиеся у пациента клинические проявления?
- Б. Почему тяжесть клинических проявлений мукополисахаридоза II типа может существенно варьировать, учитывая, что все случаи обусловлены дефектом одного фермента?
- В. Почему ферментозаместительная терапия не снизила тяжесть неврологических проявлений?
- Г. Какие альтернативные варианты лечения мукополисахаридоза II типа вам известны?



Ребёнок в возрасте 5 лет был направлен педиатром на консультацию генетика. При осмотре отмечаются характерные изменения черт лица (гипертелоризм, низко посаженные ушные раковины, крупный нос, крупный язык, едва помещающийся в полости рта), диспропорциональная карликовость. При анализе ГАГ мочи выявлены дерматансульфат и гепарансульфат, которые обнаруживаются при мукополисахаридозах I типа (синдром Гурлер/Шейе), II типа (синдром Хантер) и VII типа (синдром Слая).

- А. Перечислите ферменты, дефицит которых соответствует указанным трём типам мукополисахаридоза. Почему анализ ГАГ не позволил установить диагноз однозначно?
- Б. Какой анализ нужно провести для уточнения типа мукополисахаридоза?
- В. Мукополисахаридоз I типа существует в трёх клинических вариантах: синдром Гурлер, Гурлер/Шейе и Шейе. Чем отличается синдром Гурлер от синдрома Шейе? Какой из них более вероятен с учётом имеющейся клинической картины?

# 12

**Гликозилирование  
белков**

Гликопротеинами называются смешанные биополимеры, в которых молекула белка содержит ковалентно присоединённые олигосахаридные цепи. В отличие от протеогликанов, они содержат существенно более разнообразные углеводные фрагменты, которые, как правило, занимают меньшую долю от общей массы молекулы. Длина олигосахаридных цепей и их количество в гликопротеинах варьируют в широких пределах. Молекула белка может содержать одну (например, интерлейкин-2) или несколько сотен (например, муцины подчелюстных желёз) углеводных цепей. В свою очередь, в состав углеводной цепи входит, как правило, от 2 до 20 моносахаридных звеньев.

---



Гликом клетки — совокупность гликанов клетки, как свободных полисахаридов, так и присоединённых к белкам или липидам углеводных фрагментов. Гликом — предмет изучения гликомики

---

Совокупность гликанов\* клетки, в том числе ковалентно связанных с белковыми или липидными молекулами, называется *гликом*. Процесс присоединения углеводных фрагментов к белкам может быть как ферментативным — *гликозилирование*, так и неферментативным — *гликирование*. При неферментативном гликировании глюкоза и другие

---

\* С точки зрения химической номенклатуры (IUPAC) понятия «гликан» и «полисахарид» равнозначны. В практической терминологии гликанами обычно называют углеводные фрагменты гликопротеинов, гликолипидов или протеогликанов, состоящие из любого количества моносахаридных остатков.

альдогексозы могут присоединяться к остаткам лизина и аргинина белков, формирования длинных цепочек углеводов при этом не происходит.

**Гликозилирование** — один из наиболее частых вариантов посттрансляционной модификации белковых молекул, сопровождающийся присоединением углеводных фрагментов, часто протяжённых, к полипептидной цепи при участии ферментов — гликозилтрансфераз. Присоединение углеводных фрагментов к белкам может существенно изменять их функции, что позволяет рассматривать гликозилирование как важный аспект регуляции активности белков и фокус внимания функциональных исследований протеома. Гликозилирование — динамический процесс; оно зависит от типа клетки, экспрессии конкретных ферментов и их локализации в клетке, доступности субстратов для синтеза полисахаридной цепи (в частности, УДФ-производных моносахаридов), внешних сигналов, которые получает клетка, и ряда других факторов. В отличие от других полимеров — белков и нуклеиновых кислот — полисахариды в клетке синтезируются без матрицы, что повышает вариабельность результата и его чувствительность к многочисленным факторам.

Более 85% секретируемых клеткой во внешнюю среду белков подвергаются гликозилированию. Практически все поверхностные белки эукариотических клеток несут на себе углеводные фрагменты. Совокупность гликозилированных белков, расположенных на клеточной мембране, протеогликанов, гликосфинголипидов составляет *гликокаликс*. Гликокаликс защищает клетку от негативных внешних факторов и участвует в передаче сигнала и межклеточных взаимодействиях. Динамическому (непостоянному) гликозилированию подвергается большинство ядерных и цитоплазматических белков, регулирующих внутриклеточные процессы. Белки, имеющие много сайтов гликозилирования, могут иметь различные гликозилированные формы — *гликоформы*. Они могут появляться только в клетках определённого типа или на определённом этапе жизненного цикла клеток, определяя активность белков-носителей гликана.

Олигосахаридные фрагменты присоединяются к белкам, как правило, в области петель и занимают пространство вокруг компактно свёрнутых белковых доменов. Высокая гидрофильность гликанов повышает полярность и гидрофильность полимера, а заметный отрицательный заряд защищает поверхность белковой молекулы от протеолитических ферментов. Присоединённые к белку гликаны также ограничивают его конформационную свободу и во многом определяют корректный фолдинг. Многие белки синтезируются в виде неактивных предшественников, от которых затем

путём направленного протеолиза отделяются биологически активные полипептидные цепи. Зачастую правильное направление фрагментации диктуется строением олигосахаридных цепей. Например, ряд гормонов гипофиза образуется в результате направленного протеолиза единого предшественника, несущего углеводные цепи, — препроопиомеланокортина. Находящиеся на концах активных фрагментов пары основных аминокислот, очевидно, служат сигнальной последовательностью для трипсиноподобных пептидаз гипофиза, а олигосахаридные цепи контролируют доступность этих участков, определяя пространственную структуру белка.

## Углеводный код

Специфические полисахариды, находящиеся на поверхности белков, несут информацию, важную для межклеточных взаимодействий и ряда внутриклеточных процессов, в том числе механизмов регуляции роста и дифференцировки клеток. Многообразие гликанов клетки формирует так называемый углеводный код (sugar code), который может считываться другими белками в клетке или за её пределами.

*Лектины* — белки, расположенные на мембранах клеток и способные распознавать отдельные моносахариды в составе гликанов. Некоторые пептидные гормоны несут на поверхности олигосахаридные фрагменты, которые регулируют их время жизни в кровотоке. Так, лютеинизирующий гормон и тиреотропный гормон несут N-связанные дисахариды GalNAc4S(B1→4)GlcNAc\*, которые распознаются лектинами-рецепторами гепатоцитов. Взаимодействие гормона с таким рецептором приводит к его захвату гепатоцитом и последующему протеолизу. Аналогичным образом действуют лектины-рецепторы асиалогликопротеинов: они распознают углеводные фрагменты, лишённые остатков сиаловых кислот (Neu5Ac), и подвергают их протеолизу. Таким образом, наличие терминальных Neu5Ac защищает такие белки от преждевременной элиминации из кровотока гепатоцитами.

*Селектины* — обильно гликозилированные белки, расположенные на поверхности лейкоцитов и эндотелиальных клеток. На мембране лейкоцитов они экспрессируются постоянно, а на мембране эндотелиальных клеток появляются в ответ на механическое или инфекционное повреждение. Селектины, расположенные на лейкоцитах, способны распознавать олигосахаридные поверхности селектинов эндотелиальных клеток сосудов. Связываясь с ними, они способствуют проникновению лейкоцитов из кро-

\* GalNAc4S — N-ацетилгалактозамин, сульфатированный по -ОН-группе в положении C<sub>4</sub>.

вотока в окружающие ткани для борьбы с инфекцией или восстановления повреждённых тканей. Различные типы селектинов модулируют иммунный ответ при иммуновоспалительных заболеваниях — ревматоидном артрите, бронхиальной астме, рассеянном склерозе и реакциях отторжения трансплантата. Для опухолевых клеток селектины облегчают процесс экстравазации и формирования метастатического очага.

Распознавание углеводных фрагментов мембранных гликопротеинов является также важным условием инфицирования клеток вирусами. Лектины вируса гриппа (гемагглютинин) ответственны за взаимодействие вируса с клеточной поверхностью и проникновение его внутрь клетки. Аналогичным способом проникают внутрь клетки вирус иммунодефицита человека, поксвирусы, парвовирусы, риновирусы, герпесвирусы 6-го типа. Лектины *H. pylori* обеспечивают прикрепление бактерии к поверхностным клеткам эпителия желудка.

## Гликозилтрансферазы

Разнообразный состав гликанов обеспечивается тем, что в полисахаридные цепочки могут быть включены как минимум 17 различных остатков моносахаридов, а также их вариантов\*. Чаще всего для построения гликанов используются 10 моносахаридов: D-глюкоза (Glc), D-галактоза (Gal), N-ацетил-D-глюкозамин (GlcNAc), N-ацетил-D-галактозамин (GalNAc), L-фукоза (Fuc), D-глюкуроновая кислота (GlcA), D-манноза (Man), N-ацетилнейраминовая кислота (Neu5Ac), D-ксилоза (Xyl) и D-рибоза (Rib), которые переносятся на растущую цепь олигосахарида с молекулы-донора (УДФ/ГДФ/ЦМФ-производного или моносахарида, связанного с долихолом).

В зависимости от типа связи, которая соединяет белковый и гликановый фрагмент, выделяют два основных варианта гликозилирования:

- N-гликозилирование (связь с амидной группой остатка аспарагина);
- O-гликозилирование (связь с гидроксильной группой остатка серина, треонина или, реже, тирозина).

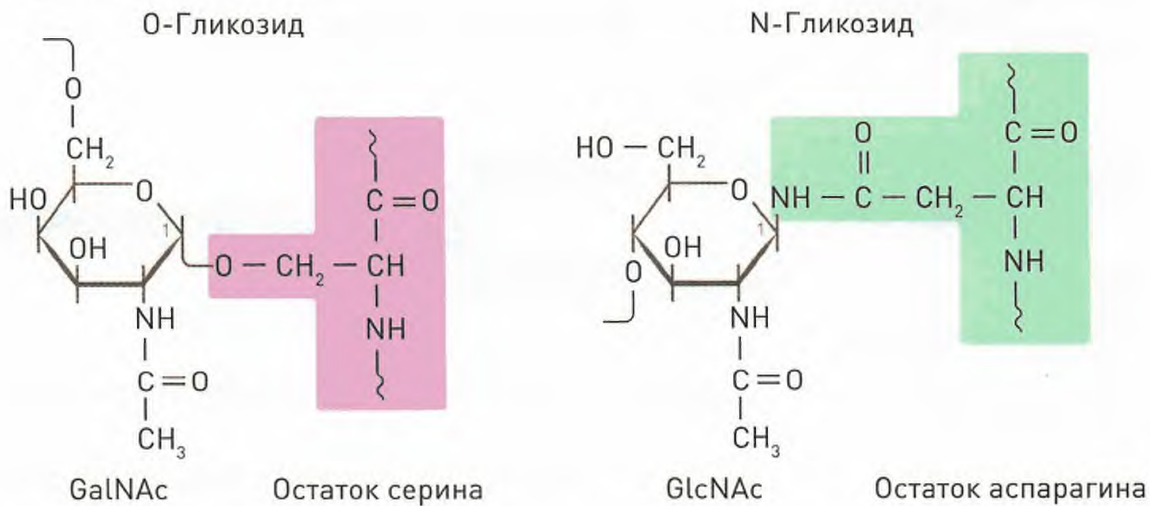
Существенно реже образуются другие типы связей\*\*.

\* Основные моносахаридные остатки, из которых формируются гликаны, приведены в главе 1, стр. 43, табл. 1.1.

\*\* В коллагенах, например, обнаружена связь, образованная остатками β-D-галактозы и гидроксисилизина, в растительных гликопротеинах — остатками L-арабинозы и гидроксипролина, а в гликопротеинах дрожжей — D-маннозы и серина или треонина. Остаток маннозы может образовывать C-гликозидную связь с аминокислотным остатком триптофана.

Гликаны классифицируются по типу гликозидной связи с белковой молекулой, первому присоединяемому к белку моносахаридному остатку, а для некоторых типов O-гликанов учитывается также и фермент, катализирующий первый этап гликозилирования. В процессе гликозилирования могут формироваться как линейные, так и разветвлённые цепочки олигосахаридов.

В геноме человека имеется примерно 700 генов, кодирующих ферменты, транспортёры и шапероны, необходимые для образования и деградации гликанов. Примерно 200 из этих генов кодируют гликозилтрансферазы, отличающиеся по специфичности, предпочтительному сайту гликозилирования и типу образуемой гликозидной связи. В зависимости от локализации и потребностей клетки сайты гликозилирования, структуры углеводных фрагментов могут существенно отличаться, расчётное количество теоретически возможных вариантов гликанов составляет примерно  $10^{12}$ .



Процессы гликозилирования протекают во всех эукариотических клетках, преимущественно в аппарате Гольджи и ЭПР, но в отдельных случаях могут происходить в цитоплазме и даже митохондриях. Большинство гликозилтрансфераз являются трансмембранными белками, каталитический домен которых находится в просвете ЭПР или аппарата Гольджи, некоторые гликозилтрансферазы находятся целиком в просвете ЭПР\*. Процесс N-гликозилирования белков начинается в ЭПР и завершается в аппарате Гольджи, O-гликозилирования — протекает преимущественно в аппарате Гольджи, а также в цитоплазме клеток, O-маннозилирования при участии маннозилтрансфераз (POMT) протекает в ЭПР.

\* Например, протеин O-фукозилтрансфераза 1/2 (POFUT1/2), протеин O-Glc трансфераза 1-3 (POGLUT1-3), коллаген O-Gal трансфераза 1/2 (COLGALT 1/2) и EGF-специфичная O-GlcNAc трансфераза (EOGT).

## N-Гликозилирование

Наиболее распространённым типом связи в животных гликопротеинах является β-1N-гликозидная связь, которую образуют остаток N-ацетилглюкозамина (GlcNAc) и амидная группа аспарагина. В состав N-гликанов входит консервативная коровая разветвлённая структура, состоящая из двух остатков GlcNAc и трёх остатков маннозы, к которым в дальнейшем присоединяются различные моносахаридные остатки в разной последовательности (рис. 12.1). В зависимости от типа присоединяемых остатков выделяют высокоманнозные N-гликаны (англ. high-mannose N-glycan), гибридные N-гликаны (англ. hybrid N-glycan) или комплексные N-гликаны (англ. complex N-glycan). N-Гликозидные олигосахаридные цепи присутствуют в таких гликопротеинах, как иммуноглобулины и антигены тканевой совместимости.

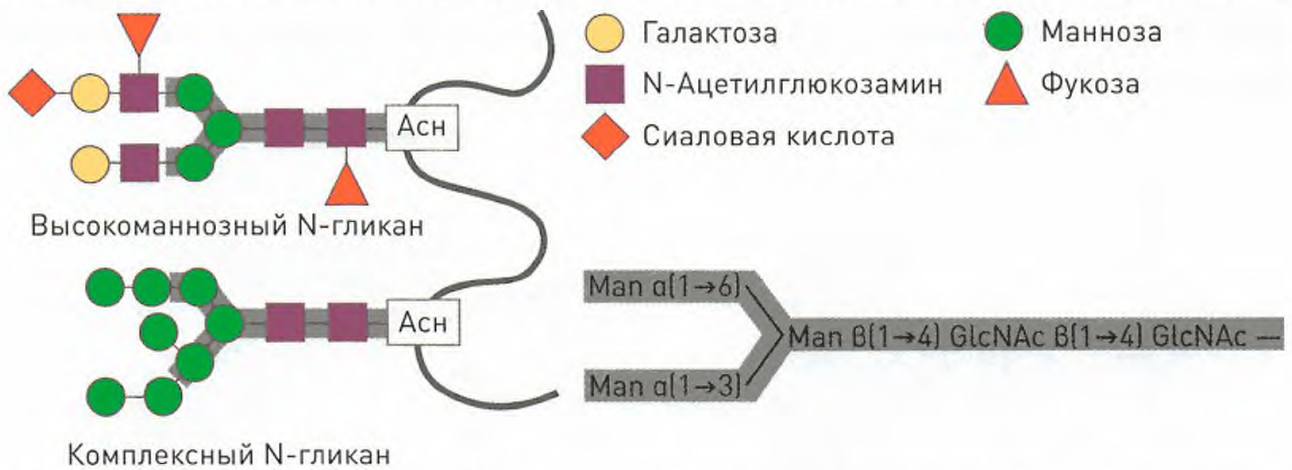
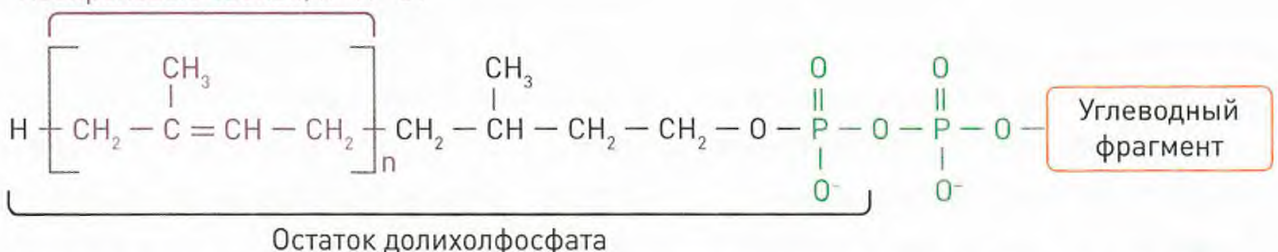


Рис. 12.1. Типичное строение N-гликанов. Выделен консервативный пентасахаридный коровый фрагмент.

При N-гликозилировании исходный олигосахаридный фрагмент синтезируется до присоединения к белку, а затем уже переносится на него. Формирование предшественника олигосахаридного фрагмента происходит в ЭПР при помощи долихолфосфата, который находится в мембране ЭПР.

Изопреновые звенья,  $n=17-21$



К остатку фосфорной кислоты в молекуле долихолфосфата последовательно присоединяются два остатка GlcNAc, девять остатков маннозы и три остатка глюкозы, с образованием так называемого гликана-предшественника (или гликана-прекурсора, lipid-glycan precursor).

Этот углеводный фрагмент (*en bloc oligosaccharide*), содержащий 14 остатков моносахаридов, переносится с долихолфосфата на остаток аспарагина в составе белка при участии олигосахарилтрансферазы. Углеводный фрагмент присоединяется к амидной группе остатка аспарагина в составе триплета аминокислот  $-Asn-X-Ser/Thr-$ , где X — любой аминокислотный остаток, кроме Про. Этот процесс протекает одновременно с наращиванием полипептидной цепи (рис. 12.2).

В дальнейшем от олигосахаридного фрагмента отщепляются остатки глюкозы, и гликозилированный белок переносится в аппарат Гольджи, проходя последовательно через цистерны *cis-*, *medial-* и *trans-*Гольджи. В *cis*-Гольджи от него отщепляются несколько остатков маннозы при участии маннозидаз, в *medial-* и *trans-*Гольджи присоединяются остатки GlcNAc, галактозы, сиаловой кислоты и фукозы, завершая формирование зрелого N-гликана. Состав образующихся N-гликанов определяется уровнем экспрессии гликозилтрансфераз, доступностью сайтов гликозилирования белка, а также продолжительностью времени, в течение которого N-гликан находится в ЭПР и различных цистернах аппарата Гольджи (рис. 12.3).

## О-Гликозилирование

При O-гликозилировании гликозильный углерод остатка олигосахарид присоединяется к гидроксильной группе серина или, реже, треонина. В отличие от N-гликозилирования, процесс O-гликозилирования не требует предварительного образования гликана-прекурсора на долихолфосфате. O-Гликаны классифицируют в зависимости от того, какой углеводный остаток присоединяется к белку первым (табл. 12.1)\*.

*Внутриклеточные O-гликаны*, как правило, содержат в качестве первого углеводного остатка N-ацетилглюкозамин (GlcNAc). Нарастивания цепи таких O-гликанов, как правило, не происходит, то есть первый остаток GlcNAc остаётся единственным. Присоединение GlcNAc осуществляется O-GlcNAc-трансферазами, отщепление — соответствующими гликозидазами. Гликозилирование/дегликозилирование являются динамическими процессами, сменяя друг друга и тем самым регулируя активность модифицируемых внутриклеточных белков и метаболизм клетки. Более того, сайты гликозилирования (остатки Ser и Thr) совпадают с сайтами фосфорилирования, поэтому процессы присоединения GlcNAc или остатка фосфорной кислоты можно отчасти считать конкурирующими. Присоединение и отщепление GlcNAc регулирует

\* Уникальным примером O-гликозилирования служит присоединение остатка глюкозы к аминокислотному остатку тирозина 194 в составе гликогена.

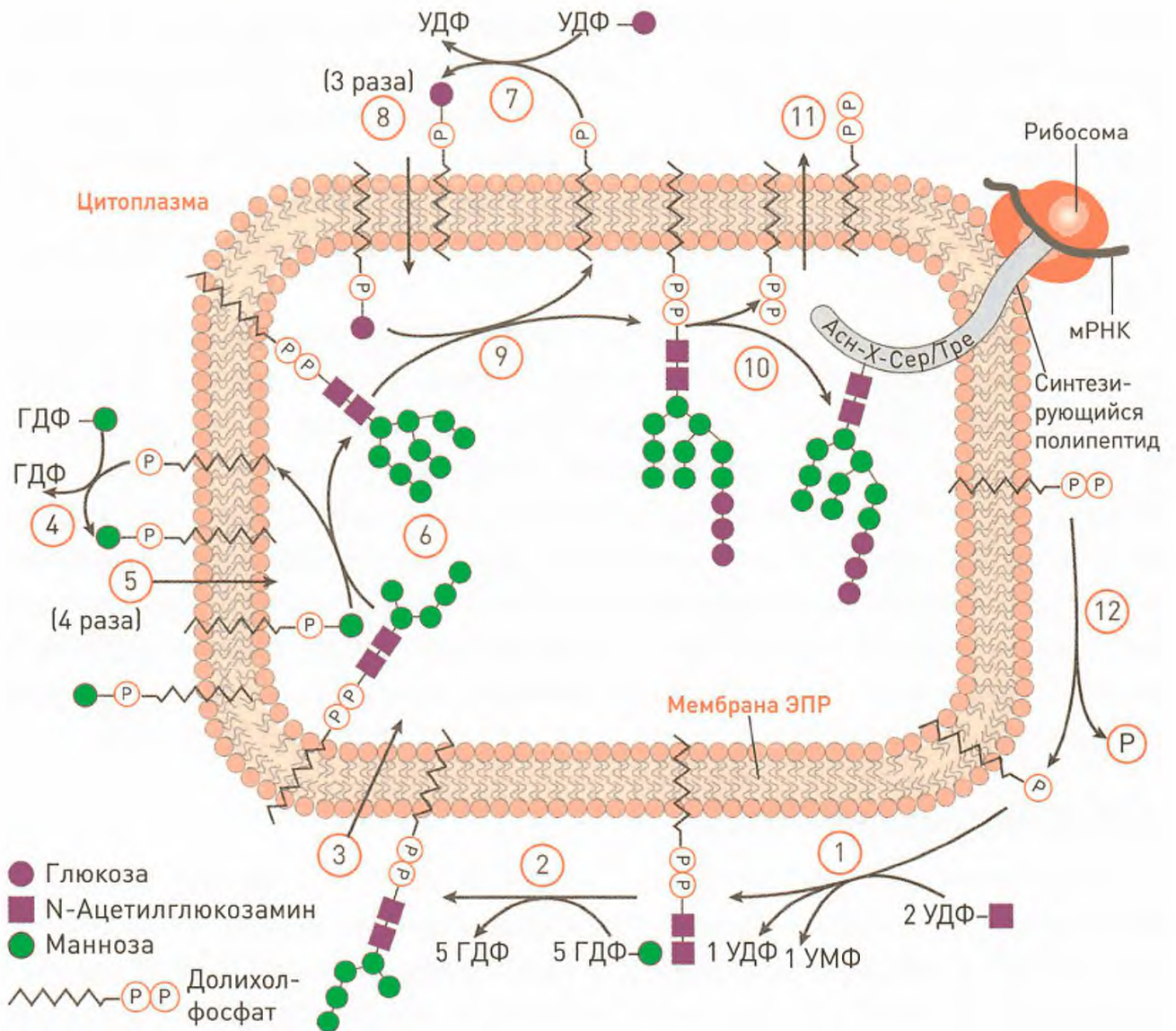


Рис. 12.2. Образование долихолфосфат гликозида в процессе синтеза N-гликанов.

- 1 Присоединение первого и второго остатка GlcNAc.
- 2 Присоединение пяти остатков маннозы при участии маннозилтрансфераз.
- 3 Перенос долихолдифосфат-(GlcNAc)<sub>2</sub>-(Man)<sub>5</sub> с цитоплазматической на внутреннюю сторону мембраны ЭПР.
- 4 Образование долихолфосфат маннозы из ГДФ-маннозы и долихолфосфата.
- 5 Перенос долихолфосфат маннозы с цитоплазматической на внутреннюю сторону мембраны ЭПР.
- 6 Нарастивание олигосахаридной цепи путём переноса четырёх остатков маннозы с долихолфосфат маннозы на растущую цепь при участии различных маннозилтрансфераз.
- 7 Образование долихолфосфат глюкозы из УДФ-глюкозы и долихолфосфата.
- 8 Перенос долихолфосфат глюкозы с цитоплазматической на внутреннюю сторону мембраны ЭПР.
- 9 Нарастивание олигосахаридной цепи путём переноса трёх остатков глюкозы с долихолфосфата глюкозы на растущую цепь.
- 10 Перенос олигосахаридной цепи с долихолфосфата на остаток аспарагина в составе полипептидной цепи с высвобождением долихолдифосфата.
- 11 Перенос долихолдифосфата с внутренней на цитоплазматическую сторону мембраны ЭПР.
- 12 Образование долихолфосфата и высвобождение одного остатка фосфорной кислоты.

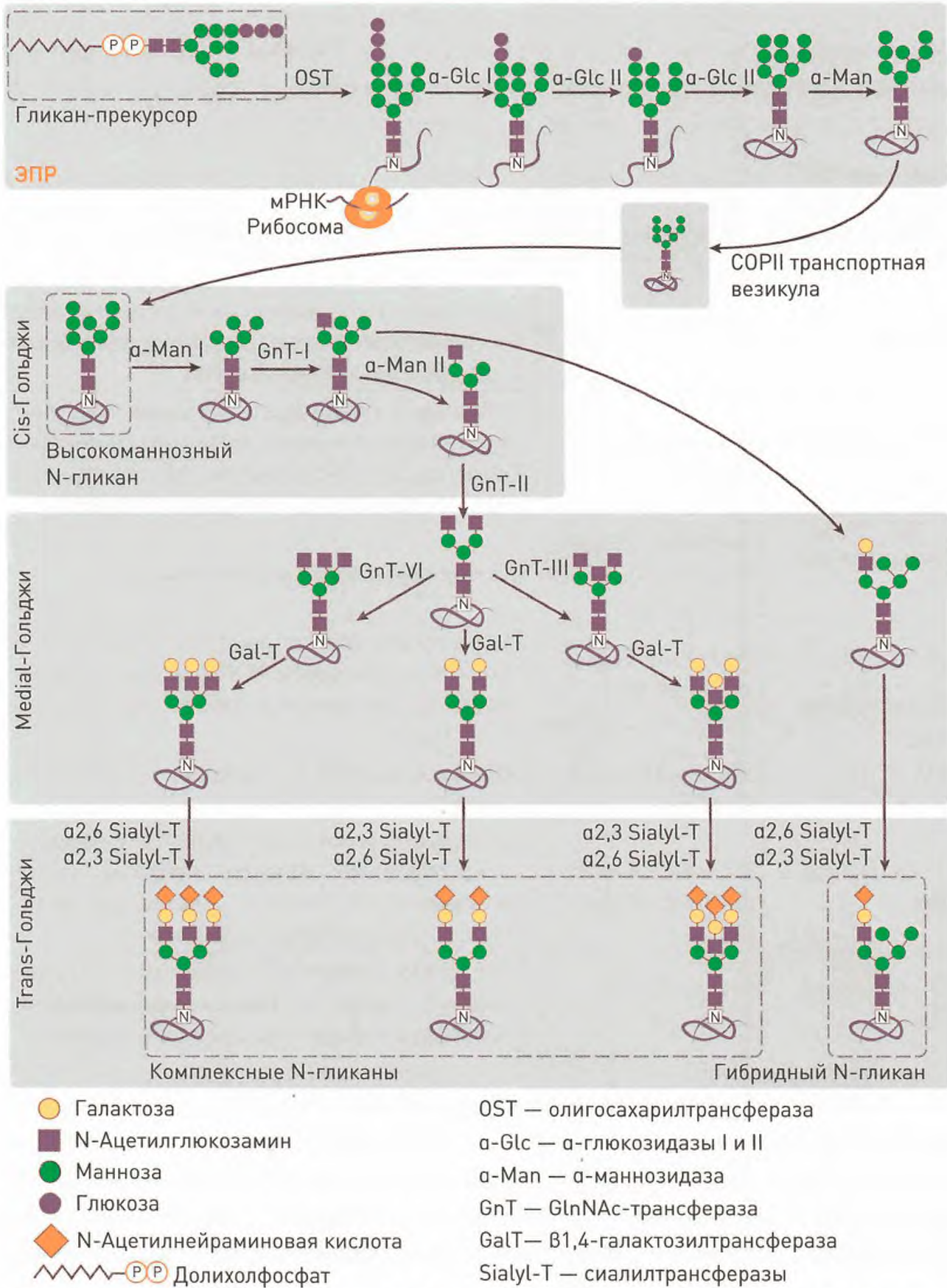


Рис. 12.3. Последовательность синтеза N-гликанов в ЭПР и цистернах аппарата Гольджи.

активность ряда транскрипционных факторов (например, FOXO1 и PGC-1 $\alpha$ ). Так, гликозилирование PGC-1 $\alpha$  (присоединение GlcNAc) предотвращает его убиквитинирование и усиливает опосредованную PGC-1 $\alpha$  транскрипцию ферментов глюконеогенеза в печени, усиливая синтез глюкозы.

**Таблица 12.1.** Основные типы O-гликанов

Тип O-гликана	Структура связи	Характеристика
O-связанный GlcNAc	GlcNAc- $\beta_1$ -Ser/Тре	Присоединение или отщепление GlcNAc происходит непосредственно в цитоплазме и играет важную роль в регуляции функции цитоплазматических белков
Муцин-подобные	(R)-GalNAc- $\alpha_1$ -Ser/Тре	Образуются в аппарате Гольджи, содержат протяжённые и разветвлённые углеводные фрагменты. Как правило, секретируемые белки и белки плазматических мембран
O-связанная Man	NANA- $\alpha_2$ -3Gal- $\beta_1$ -4GlcNAc- $\beta_1$ -2Man- $\alpha_1$ -Ser/Тре	Обнаруживается в дистрогликанах
O-связанная Fuc	NANA- $\alpha_2$ -6Gal- $\beta_1$ -4GlcNAc- $\beta_1$ -3 $\pm$ Fuc- $\alpha_1$ -Ser/Тре	Обнаруживается в доменах эпидермального фактора роста (EGF), играет важную роль в функционировании сигнального пути Notch
	Glc- $\beta_1$ -3Fuc- $\alpha_1$ -Ser/Тре	Обнаруживается в повторах тромбоспондина-1
O-связанная Glc	Xyl- $\alpha_1$ -3Xyl- $\alpha_1$ -3 $\pm$ Glc- $\beta_1$ -Ser	Обнаруживается в доменах EGF, немодифицированные остатки глюкозы редко встречаются в составе углеводных фрагментов зрелых гликопротеинов
O-связанная Gal	Glc- $\alpha_1$ -2 $\pm$ Gal- $\beta_1$ -O-Lys	Галактоза может образовывать O-гликозидные связи с гидроксильными остатками лизина в молекулах коллагена

*O-Гликаны муцинового типа\** (мукопротеины) в качестве первого углеводного остатка содержат N-ацетилгалактозамин (GalNAc). К таким гликопротеинам относятся муцин и целый ряд внеклеточных гликопротеинов, находящихся на поверхности слизистых оболочек. Синтез O-гликанов муцинового типа инициируется GalNAc трансферазами, которые способны

\* Иногда мукопротеины выделяют из группы гликопротеинов в третий класс (наряду с гликопротеинами и протеогликанами) полимерных соединений, содержащих как белковый, так и углеводный фрагмент. Как и у протеогликанов, их углеводный фрагмент составляет большую долю от массы молекулы.

распознавать конкретную последовательность аминокислот в составе корового белка. Последующее наращивание углеводной цепи происходит в различных цистернах аппарата Гольджи и зависит от экспрессии конкретных гликозилтрансфераз, а также доступности субстратов — УДФ-производных соответствующих моносахаридов. Чаще всего присоединяются остатки галактозы, GalNAc, сиаловых кислот и, реже, фукозы. Образовавшиеся в результате гликаны отличаются высокой вариабельностью

## Сортинг гликопротеинов аппаратом Гольджи

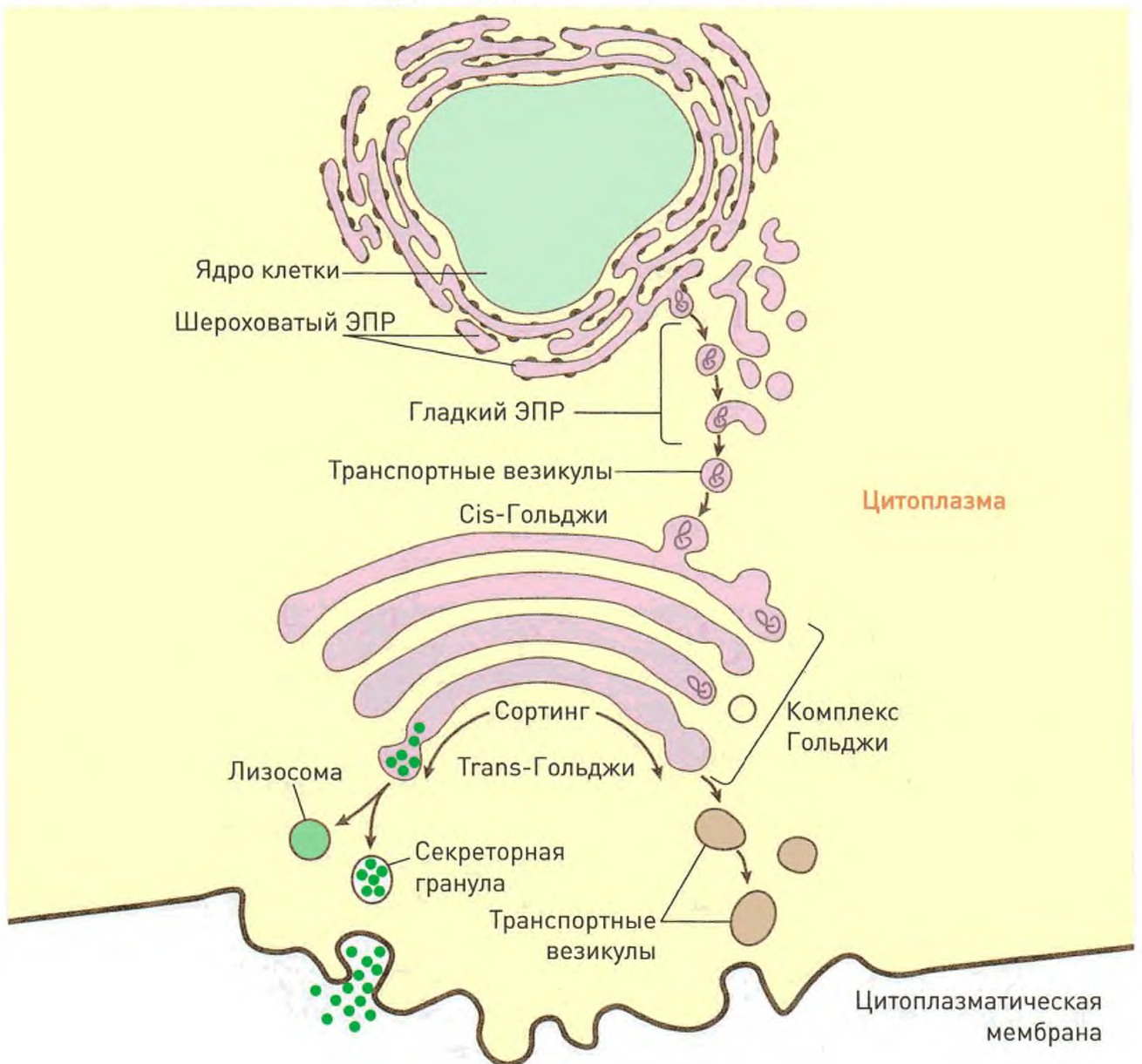
Белки, прошедшие посттрансляционное гликозилирование, сортируются аппаратом Гольджи и направляются в «места постоянной дислокации» — туда, где предполагается выполнение ими своих функций (в частности, в лизосомы, на цитоплазматическую мембрану или во внеклеточное пространство). Механизмы сортировки зрелых белков аппаратом Гольджи в значительной степени регулируются гликанами. Ярким примером такой регуляции является сортировка гидролаз, которые подготавливаются в аппарате Гольджи для отправки в лизосомы. Углеводные фрагменты гидролаз распознаются фосфотрансферазой (GlcNAc-фосфотрансфераза, КФ 2.7.8.17), которая фосфорилирует терминальные остатки маннозы. Наличие одного или нескольких фосфорилированных остатков маннозы (маннозо-6-фосфат) в углеводной части гидролазы служит сигналом для лектинового рецептора, который связывает такие углеводные участки и задерживает гидролазы, привязывая их к участку мембраны транс-Гольджи с внутренней стороны. Содержащий такие гидролазы участок аппарата Гольджи в дальнейшем «отпочковывается» в виде лизосомы (рис. 12.4).

### **I-клеточная болезнь**

*Заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловлено дефектами гена GNPTAB, который кодирует  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы GlcNAc-фосфотрансферазы. В результате такого дефекта не происходит фосфорилирование остатков маннозы, что сопровождается нарушением транспорта лизосомальных гидролаз в лизосомы. У детей отмечаются аномалии строения лицевого скелета и множественные костные мальформации (кифосколиоз, уплощение рёбер, неравномерная высота тел позвонков и др.). Возможны гепатомегалия, кардиомегалия, пупочные грыжи и рецидивирующие инфекции дыхательных путей. I-клеточная болезнь характеризуется тяжёлой задержкой психомоторного развития и приводит к летальному исходу, как правило, между пятым и восьмым годами жизни.*

## Внеклеточное гликозилирование

Внеклеточное гликозилирование — процесс присоединения моносахаридных остатков к субстрату при участии внеклеточных гликозилтрансфераз (например, циркулирующих в кровотоке). Гликозилтрансферазы попадают во внеклеточное пространство и в кровоток при отрыве ферментов клеточных мембран, главным образом гепатоцитов или тромбоцитов. В ходе внеклеточного гликозилирования могут образовываться антигены Льюиса (фукозилированные углеводные фрагменты), а также антигены Тп. Продукты внеклеточного гликозилирования играют важную роль в регуляции миграции лейкоцитов при воспалении, а также во взаимодействии гемопоэтических клеток друг с другом в костном мозге.



**Рис. 12.4.** Путь белка от места синтеза на рибосоме шероховатого ЭПР к месту выполнения функции (лизосома, плазматическая мембрана или внеклеточное пространство).

## Антигены групп крови

Внешняя поверхность мембраны эритроцита покрыта специфическими антигенами, большинство из которых являются полисахаридами. К настоящему времени известно более сорока систем групп крови, базирующихся на антигенных детерминантах. Наиболее широко изучены антигенные детерминанты системы групп крови АВО(Н). Помимо системы АВО(Н), известны групповые антигены крови системы Т. Льюиса (Le/Leb), Ii и др. Антигенные детерминанты групп крови могут присоединяться как к поверхностным белкам эритроцита, так и к гликолипидам (сфинголипидам). Хотя антигены группы крови АВО считаются антигенами эритроцитов, они на самом деле экспрессируются большинством эпителиальных и эндотелиальных клеток пациента.

Локус АВО имеет три альтернативные (аллельные) формы гликозилтрансферазы — А, В и О. Антиген О (также он называется антигеном Н) содержит последовательно присоединённые к белку остатки Gal, GlcNAc, Gal и Fuc (рис. 12.5). Аллель О кодирует неактивную гликозилтрансферазу, соответственно структура предшественника антигена АВО (антиген Н) остаётся без изменений. Аллели А и В кодируют гликозилтрансферазу, которая катализирует конечную стадию синтеза антигена А (присоединяет N-ацетилгалактозамин) или В (присоединяет D-галактозу) соответственно. Молекулярные различия А/В возникают из-за нескольких однонуклеотидных полиморфизмов в гене *ABO*, которые обуславливают отличие четырёх аминокислотных остатков и субстратной специфичности гликозилтрансфераз А и В.

**Таблица 12.2.** Наследование различных групп крови

Группа крови	Антигены	Антитела в сыворотке	Генотип
А	А	Анти-В	АА и АО
В	В	Анти-А	ВВ и ВО
АВ	А и В	—	АВ
О	—	Анти-А и анти-В	ОО

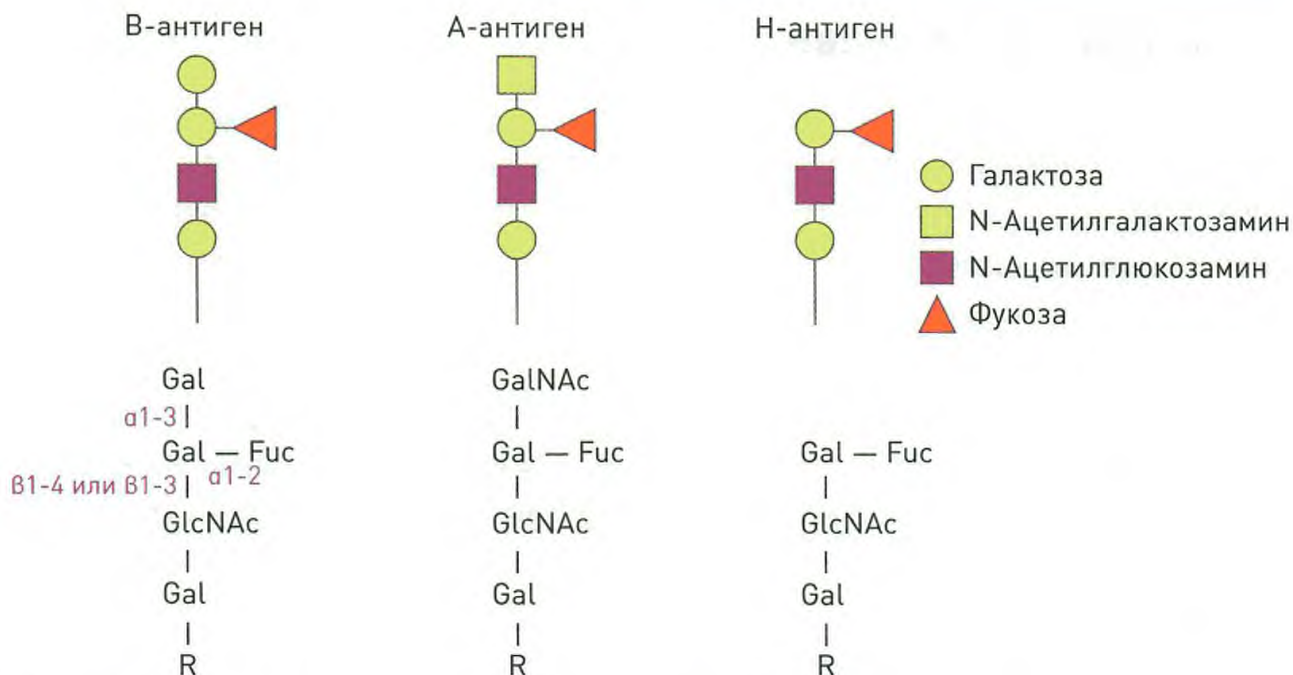


Рис. 12.5. Антигены системы НВО. R — якорный белок.

Ребёнок наследует один из трёх аллелей от каждого родителя, что даёт шесть возможных генотипов и четыре возможные группы крови (табл. 12.2). Антитела против антигенов АВО в сыворотке образуются, когда иммунная система сталкивается с «отсутствующими» антигенами группы крови АВО в пищевых продуктах или микроорганизмах. Это происходит в раннем возрасте как результат реакции на углеводы, идентичные или очень похожие на антигены группы крови АВО. В случае переливания крови, содержащей «чужие» антигены на эритроцитах, антитела начинают с ними реагировать, что приводит к гемолизу.

### Фенотип Бомбея

Индивиды, гомозиготные по нулевым аллелям локуса H, не продуцируют H-антиген, а поскольку H-антиген является предшественником антигенов группы крови АВО, они также не могут продуцировать антигены А и В. Следовательно, их сыворотка содержит анти-А и анти-В, в дополнение к сильному анти-Н. Этот редкий фенотип H-дефицитных эритроцитов называют «феноменом Бомбея» (Oh или Hh). Обнаруживается у 1 из 10 000 человек в Индии и у 1 на 1 млн человек в Европе. Люди с фенотипом Бомбея здоровы, но, если им когда-либо понадобится переливание крови, антитела в сыворотке будут подвергать их высокому риску возникновения острого гемолиза. Этого можно избежать, используя препараты крови от донора, который также имеет фенотип Бомбея (обычно родственник).

## Иммуноглобулины

Все пять классов иммуноглобулинов человека содержат углеводные фрагменты, причём IgG, IgM и IgE несут только N-гликозидные цепи, а IgA и IgD — также и O-гликозидные. Гликаны в значительной степени определяют свойства иммуноглобулинов. Например, N-гликаны присоединяются к Fc-фрагментам IgG и могут регулировать их связывание с рецепторами Fcγ.

В зависимости от профиля гликозилирования иммуноглобулины могут быть провоспалительными (например, IgG с N-гликанами без остатков галактозы) или противовоспалительными (например, IgG с сиалированными N-гликанами). Некоторые гликоформы IgG, например, не содержащие остатки галактозы или сиаловых кислот, в большом количестве определяются при хронических иммуновоспалительных заболеваниях, например, ревматоидном артрите, системной красной волчанке и микобактериальных инфекциях. Эти свойства гликанов IgG используются для конструирования лекарственных препаратов с противовоспалительными свойствами на основе сиалированных иммуноглобулинов.

Олигосахаридные цепи IgM и IgG обеспечивают рецепцию комплексов антиген-антитело соответственно макрофагами и клетками печени. Гликаны IgA участвуют в антиген-неспецифическом связывании IgA с бактериями. IgA как правило имеют коровые O-гликаны (GalNAc-β1,3-Gal), но при некоторых заболеваниях, например, IgA-нефропатии, у пациентов обнаруживаются IgA1 с O-гликанами, не содержащими галактозу.

## Муцины

*Муцины* — гликопротеины, секретлируемые различными клетками организма и образующие желеобразную субстанцию, защищающую поверхность клетки от бактериальной инфекции, механического воздействия и иммунных реакций. Для муцинов подчелюстных желёз характерно наличие большого числа O-гликозидных цепей, содержащих остатки Gal, GalNAc, Fuc и N-ацетилнейраминовой кислоты. Некоторые O-цепи обладают свойствами антигенов групп крови. В муцинах желудка и ЖКТ встречаются значительно более сложные углеводные структуры, причём некоторые также несут детерминанты групп крови системы ABO(H).

## **Катаболизм гликопротеинов**

Гликаны участвуют в регуляции катаболизма гликопротеинов. Так, де-сиалирированные гликопротеины быстро исчезают из кровотока животных, накапливаясь в клетках печени. Ответственным за процесс рецепции асиалогликопротеинов является находящийся в плазматической мембране гепатоцитов лектин, специфично связывающийся с терминальными остатками D-галактозы и N-ацетилгалактозамина. Купферовы клетки (макрофаги печени) также участвуют в удалении из кровотока гликопротеинов. На мембране купферовых клеток обнаруживается лектин, связывающийся с остатками D-маннозы и N-ацетилглюкозамина в составе N-гликозидных цепей. Таким образом, функция названных лектинов, очевидно, заключается в удалении частично деградированных гликопротеинов и лизосомальных гидролаз (последние несут экспонированные наружу остатки маннозы).



*Эритропоэтин — гормон пептидного строения, секретируемый клетками почек и стимулирующий эритропоэз. Препараты рекомбинантного эритропоэтина широко используются для лечения анемии, обусловленной почечной недостаточностью. Эритропоэтин состоит из 165 аминокислотных остатков и содержит четыре сайта гликозилирования: три остатка аспарагина и один остаток серина. Примерно 40% в массе зрелого эритропоэтина составляют углеводные компоненты. Гликозилирование существенно повышает стабильность белка в плазме крови: негликозилированный эритропоэтин выводится из крови более чем в 10 раз быстрее, чем гликозилированный.*

Внутриклеточная деградация гликанов протекает при участии лизосомальных гидролаз (гликозидаз). Экзогликозидазы отщепляют один углеводный остаток с невосстанавливающего конца и обладают высокой субстратной специфичностью. Эндогликозидазы расщепляют углеводную цепь на значительном расстоянии от концевой углеводного остатка и обладают относительно низкой субстратной специфичностью.

## **Нарушения гликозилирования и деградации гликанов**

Дефекты процесса гликозилирования могут существенно нарушать функции белков, что в ряде случаев приводит к заболеваниям. В частности, некорректное гликозилирование дистрогликана, мембранного белка, связывающего цитоскелет с ВКМ, может приводить к различным мышечным дистрофиям.

Генетические дефекты ферментов гликозилирования (congenital disorders of glycosylation, CDG) часто приводят к внутриутробной гибели плода, что свидетельствует об исключительно важной роли гликанов для жизнеспособности организма. В случае если ребёнок рождается живым, врождённые нарушения гликозилирования сопровождаются тяжёлой неврологической и мышечной патологией (табл. 12.3). Значительная доля врождённых мышечных дистрофий связана с нарушениями процесса O-маннозилирования  $\alpha$ -дистрогликана.

**Таблица 12.3.** Отдельные примеры врождённых дефектов ферментов гликозилирования

Дефектный ген	Дефектный фермент	Связанные биохимические реакции	Фенотип
<i>ALG1</i>	$\beta$ 1,4-Маннозилтрансфераза (КФ 2.4.1.142)	Катализирует реакцию присоединения остатка маннозы в процессе образования олигосахарида на долихолфосфате	Нарушения умственной функции, гипотония, микроцефалия, печёночная недостаточность, гипертрофическая кардиомиопатия, гипогонадизм, нефропатия, летальный исход в раннем возрасте
<i>ALG2</i>	$\alpha$ 1,3/1,6-Маннозилтрансфераза (КФ 2.4.1.132)		Задержка развития, нистагм, катаракта, колобома радужки, припадки
<i>ALG3</i>	$\alpha$ 1,3-Маннозилтрансфераза (КФ 2.4.1.258)		Задержка развития, нарушения зрения, микроцефалия, мышечная гипотония
<i>ALG6</i>	Глюкозилтрансфераза 1 (КФ 2.4.1.267)	Катализирует реакцию присоединения остатка глюкозы в процессе образования олигосахарида на долихолфосфате	Припадки, гипотония конечностей, страбизм, рецидивирующие вирусные инфекции
<i>ALG8</i>	$\alpha$ 1,3-Маннозилтрансфераза (КФ 2.4.1.265)	Катализирует реакцию присоединения остатка маннозы в процессе образования олигосахарида на долихолфосфате	Умеренная гепатоспленомегалия, гипотония, гипоплазия лёгких, анемия, тромбоцитопения
<i>ALG12</i>	$\alpha$ 1,6-Маннозилтрансфераза (КФ 2.4.1.260)		Задержка развития, аномалии лицевого скелета, гипотония, микроцефалия, конвульсии, частые инфекции дыхательных путей

Продолжение таблицы 12.3

<i>DPM1</i>	Каталитическая субъединица долихолфосфатманнозилтрансферазы (КФ 2.4.1.83)	Образует донор долихолфосфат маннозу из ГДФ-маннозы и долихолфосфата	Задержка психомоторного развития, патология зрения, гипотония
<i>DPAGT1</i>	УДФ-N-ацетилглюкозаминдолихилфосфат N-ацетилглюкозаминфосфотрансфераза (КФ 2.7.8.15)	Катализирует первую реакцию синтеза олигосахарида на долихолфосфате	Клинодактилия 5 пальца, задержка развития, микрогнатия, микроцефалия, мышечная гипотония, припадки
<i>MGAT2</i>	$\alpha$ 1,6-Маннозилгликопротеин 2B-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза (КФ 2.4.1.143)	Катализирует реакцию переноса остатка GlcNAc на свободный терминальный остаток маннозы N-гликана	Нарушения умственной функции, ускоренный рост, гипотония, повышенная восприимчивость к инфекциям
<i>MOGS</i>	Маннозил-олигосахарид глюкозидаза (КФ 3.2.1.106)	Отщепляет $\alpha$ 1,2-связанную глюкозу от $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$	Печеночная недостаточность, припадки, гипотония
<i>COG7</i>	Комплексная олигомерная субъединица Гольджи 7	Регулирует транспорт из аппарата Гольджи, вовлечена в различные процессы гликозилирования	Гипотония, микроцефалия, задержка роста, сращения пальцев, аномалии развития сердца и кожного покрова, эпизоды гипертермии, летальный исход в раннем возрасте
<i>PMM2</i>	Фосфоманномутаза-2 (КФ 5.4.2.8)	Катализирует реакцию превращения маннозо-6-фосфата в маннозо-1-фосфат	Нарушения умственных функций, гипотония, страбизм, гипоплазия мозжечка, атаксия, кардиомиопатия, аномалии скелета, вероятность летального исхода в первые 5 лет жизни составляет 20%

## Окончание таблицы 12.3

<i>B4GALT1</i>	В1,4-Галактозилтрансфераза 1 (КФ 2.4.1.22)	Ген образует два альтернативных транскрипта: первый кодирует trans-Гольджи резидентный фермент, участвующий в реакциях гликозилирования, а второй участвует в образовании лактоза синтазы	Нарушения умственной функции, задержка развития, спонтанные кровотечения, гипотония, макроцефалия, мальформация Данди-Уокера (внутриутробная аномалия развития мозжечка и IV желудочка), миопатия
<i>MPI</i>	Маннозо-6-фосфат изомеразы (КФ 5.3.1.8)	Катализирует реакцию превращения фруктозо-6-фосфата в маннозо-6-фосфат, в случае дефекта не образуется достаточное количество предшественников для маннозилирования	Фиброз печени, энтеропатия с потерей белка, диарея, коагулопатия, гипогликемия
<i>SRD5A3</i>	Полипренол редуктаза (КФ 1.3.1.94)	Катализирует реакцию превращения полипренола в долихол, который необходим для синтеза олигосахарида <i>en bloc</i>	Нарушения умственных функций, гипотония, патология головного мозга и органа зрения, нарушение функции печени, коагулопатия и ихтиоз
<i>GNE</i>	Бифункциональная УДФ-GlcNAc-2 эпимераза/ManNAc киназа (КФ 3.2.183/2.7.1.60)	Участвует в синтезе сиаловой кислоты	Мышечная дистрофия
<i>POMT1, POMT2</i>	О-Маннозилтрансфераза (КФ 2.4.1.109)	Ферменты участвуют в метаболизме $\alpha$ -дистрогликана	Патология развития мышц, головного мозга, гидроцефалия, гипоплазия мозжечка, органа зрения, мышечная дистрофия, дистрофия сетчатки. Повышена активность альдолазы, креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы. Дети обычно погибают в течение первого года жизни (синдром Уолкера-Варбурга)

Наследственные дефициты гликозидаз обуславливают развитие лизосомальных болезней накопления (табл. 12.4).

**Таблица 12.4.** Заболевания, связанные с дефектами ферментов разрушения гликанов

Заболевание	Дефектный фермент	Признаки
α-Маннозидоз	α-Маннозидаза (КФ 3.2.1.24)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I тип (более тяжёлый, проявляется в возрасте от 3 до 12 мес), нарушения умственного развития, гепатоспленомегалия, летальный исход в возрасте 3–8 лет;</li> <li>• II тип (ювенильная форма).</li> </ul> Оба типа характеризуются умственной отсталостью, грубыми чертами лица, нарушениями прозрачности роговицы, преждевременным закрытием швов черепа, передней гипоплазией поясничных позвонков, недоразвитием таза, укорочением ключиц. Выявляются лимфоциты с включениями
β-Маннозидоз	β-Маннозидаза (КФ 3.2.1.25)	Задержка умственного развития, потеря слуха, рецидивирующие инфекции дыхательных путей, гепатоспленомегалия, аномалии скелета. Для подтверждения диагноза определяют активность фермента в лейкоцитах или фибробластах
GM1 Ганглиозидоз	β-Галактозидаза (КФ 3.2.1.23)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I тип: задержка развития становится заметной в возрасте от 3 до 6 мес, отмечаются выраженные психомоторные нарушения, частые припадки, дисплазия скелета, большие низко посаженные уши, низкий лоб, летальный исход наступает в течение первых лет жизни.</li> <li>• II тип: симптомы становятся очевидными в возрасте между 12 и 18 мес, более мягкое течение по сравнению с I типом.</li> <li>• III тип: манифестирует в возрасте старше 3 лет (часто после 10 лет), наиболее частым клиническим признаком служит дистония</li> </ul>
Сиалидоз, дефект гена <i>NEU1</i>	Нейраминидаза (сиалидаза 1, КФ 3.2.1.18)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I тип: неспособность ходить, потеря остроты зрения.</li> <li>• II тип (более острый): врождённая, инфантильная и ювенильная формы. Выраженное нарушение умственного развития и множественные аномалии скелета</li> </ul>

## Окончание таблицы 12.4

Заболевание	Дефектный фермент	Признаки
Фукозидоз	α-Фукозидаза (КФ 3.2.1.41)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I тип: инфантильная форма, манифестирует между 3 и 8 мес жизни.</li> <li>• II тип: манифестирует в возрасте 1–2 года.</li> </ul> Обе формы проявляются задержкой умственного развития, грубыми чертами лица, при II типе обнаруживаются гиперкератомы (ороговевающие поражения кожи)
Врождённый дефект NGLY1	Пептид-N(4)-(N-ацетил-β-глюкозаминил)аспарагинамидаза (КФ 3.5.1.52)	Катализирует реакцию отщепления β-ацетилглюкозамина от остатка аспарагина. При дефекте нарушается катаболизм N-гликанов. Задержка развития, нарушение умственной функции, нарушения функции печени, нарушения слёзоотделения

## Рекомендуемая литература

David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of Biochemistry, 8th Edition. 2021. W.H. Freeman and Company, 1248 p.

Colin Reily, Tyler J. Stewart, Matthew B. Renfrow, Jan Novak. Glycosylation in health and disease / Nature Reviews Nephrology. 2019. Vol. 15. P. 346–366.

Katrine T. Schjoldager, Yoshiki Narimatsu, Hiren J. Joshi, Henrik Clausen. Global view of human protein glycosylation pathways and functions / Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2020. Vol. 21. P. 729–749.

## Задания для обсуждения



Гликановые (углеводные) фрагменты гликолипидов и гликопротеинов на поверхности клетки выполняют функции специфических сайтов связывания различных сигнальных молекул. Многообразие гликоформ позволяет регулировать способность белков распознавать лиганды.

- Сколько вариантов трипептидов можно составить из трёх аминокислот (L-фенилаланин, L-лизин и L-глицин) и сколько вариантов трисахаридов — из трёх моносахаридов (D-ксилоза, D-глюкоза и D-галактоза)? Моносахариды находятся в пиранозной форме.
- Какое из соединений — трипептид или трисахарид — обладает большей конформационной лабильностью?

- В. Предположите, что белок содержит пять сайтов O-гликозилирования. Сколько гликоформ белка можно получить, если использовать для гликозилирования один из трисахаридов?
- Г. Какие белки способны распознавать углеводные последовательности гликопротеинов, и какое значение они имеют для человека?



Открытие Карлом Ландштейнером в 1900 г. групповой системы АВО позволило понять, почему переливание крови иногда происходило удачно, а иногда вызывало тяжёлые осложнения. Было сформулировано понятие совместимости групп крови. Антигены тканевой совместимости АВО(Н) содержат один из трёх типов гликанов или смесь двух их вариантов.

- А. Опишите структурные отличия антигенов А, В, АВ и О. Где эти антигены экспрессируются?
- Б. Учитывая, что синтез гликанов, в отличие от белков и нуклеиновых кислот, протекает не на матрице, объясните молекулярную основу наследования типа антигенов крови.
- В. Плазма какой группы крови наиболее востребована в центрах переливания крови? Какая наиболее востребованная эритроцитарная масса? Поясните.
- Г. Как можно убедиться, что донорская кровь совместима с кровью реципиента?

# 13

**Клинико-  
биохимические  
аспекты патогенеза,  
диагностики  
и лечения сахарного  
диабета**

**Сахарный диабет** (лат. *diabetes mellitus*) — гетерогенная группа заболеваний, сопровождающихся хронической гипергликемией, нарушениями обмена углеводов, жиров и белков, возникающих в результате дефектов секреции инсулина, неэффективного действия инсулина на тканевом уровне или сочетания обоих этих факторов. Биохимические проявления сахарного диабета включают гипергликемию (повышенное содержание глюкозы в крови), глюкозурию (повышенное содержание глюкозы в моче), полидипсию (избыточное потребление воды вследствие усиления жажды), полиурию (повышенное выделение мочи) и дислипидемию. Американская диабетическая ассоциация и ВОЗ выделяют четыре основных варианта сахарного диабета:

- сахарный диабет типа 1 обусловлен деструкцией В-клеток поджелудочной железы, обычно приводящей к абсолютной инсулиновой недостаточности;
- сахарный диабет типа 2 обусловлен либо инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью, либо преимущественным нарушением секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без неё;
- другие специфические типы сахарного диабета представлены моногенными заболеваниями (генетические дефекты функции В-клеток, дефекты инсулина), вторичным сахарным диабетом (обусловленным заболеваниями поджелудочной железы, инфекциями, эндокринопатиями, например синдромом Кушинга или акромегалией), ятрогенным сахарным диабетом (индуцированным лекарственными препаратами);
- гестационный сахарный диабет, возникает во время беременности.

Все типы сахарного диабета сопровождаются относительной или абсолютной недостаточностью инсулина, обусловленной нарушением его синтеза или секреции либо различной степени инсулинорезистентностью клеток-мишеней.

---



Сахарный диабет — группа эндокринных заболеваний, связанных с нарушением усвоения глюкозы и развивающихся вследствие абсолютной или относительной (нарушение взаимодействия с клетками-мишенями) недостаточности инсулина, в результате чего содержание глюкозы в крови стойко повышается

---

## Инсулин

---

Инсулин секретируется В-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы. Физиологическая роль инсулина заключается в противодействии целому ряду гормонов, вызывающих гипергликемию, и поддержании низкого уровня глюкозы плазмы крови, в особенности в ответ на приём пищи. В дополнение к способности регулировать уровень глюкозы плазмы крови инсулин стимулирует синтез ТАГ и ингибирует их распад, а также увеличивает транспорт аминокислот внутрь клеток. Наряду с инсулиноподобными факторами роста (IGF-1 и IGF-2) и релаксином инсулин также выполняет функцию фактора роста, стимулируя транскрипцию ряда генов.

---



Инсулин — гормон белковой природы, образуется в В-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы и регулирует углеводный обмен, прежде всего утилизацию организмом глюкозы

---

Инсулин синтезируется в виде препрогормона, состоящего из 110 аминокислотных остатков (препроинсулин). Нативную конформацию молекула инсулина принимает в цистернах аппарата Гольджи, где из неё при помощи протеаз вырезается центральная часть (соединяющий пептид, С-пептид, 31 аминокислотный остаток), а оставшиеся пептиды А и В соединяются дисульфидными связями (рис. 13.1).



## Секреция инсулина

Секреция  $\beta$ -клетками поджелудочной железы инсулина осуществляется в две фазы:

- базальная секреция (не зависящая от уровня глюкозы плазмы крови), секретируется резервный пул гранул (reserve pool) с условной скоростью 6 гранул в минуту;
  - стимулированная глюкозой секреция (в ответ на повышение уровня глюкозы плазмы крови), секретируется готовый к высвобождению пул гранул (readily releasable pool) с условной скоростью 18 гранул в минуту (рис. 13.2). Стимулированная глюкозой секреция инсулина продолжается в течение около 10 мин.
- 1 Глюкоза захватывается из крови  $\beta$ -клетками при помощи транспортёров GLUT-2. GLUT-2 имеют относительно низкое сродство к глюкозе, что обеспечивает почти прямое соответствие скорости попадания глюкозы в клетку её внеклеточной концентрации.
  - 2 Попадающая в клетку глюкоза сразу фосфорилируется при участии глюкокиназы (гексокиназы IV), которая, в отличие от других типов гексокиназ, не ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Следовательно, концентрация глюкозо-6-фосфата внутри  $\beta$ -клетки изменяется пропорционально уровню глюкозы плазмы крови.
  - 3 Глюкозо-6-фосфат вступает в реакции гликолиза и затем ЦТК, что повышает в клетке соотношение АТФ/АДФ.
  - 4 Избыток АТФ в клетках закрывает АТФ-зависимые  $K^+$ -каналы (SUR1/Kir6.2), предотвращая утечку ионов  $K^+$  из клетки и повышая внутриклеточную концентрацию  $K^+$  с последующей деполяризацией мембраны.
  - 5 Деполяризация мембраны открывает потенциал-зависимые  $Ca^{2+}$ -каналы, усиливая ток  $Ca^{2+}$  внутрь клетки.
  - 6 Ионы  $Ca^{2+}$  облегчают встраивание внутриклеточных везикул, содержащих гранулы инсулина, в клеточную мембрану, с последующим высвобождением их содержимого во внеклеточную среду.

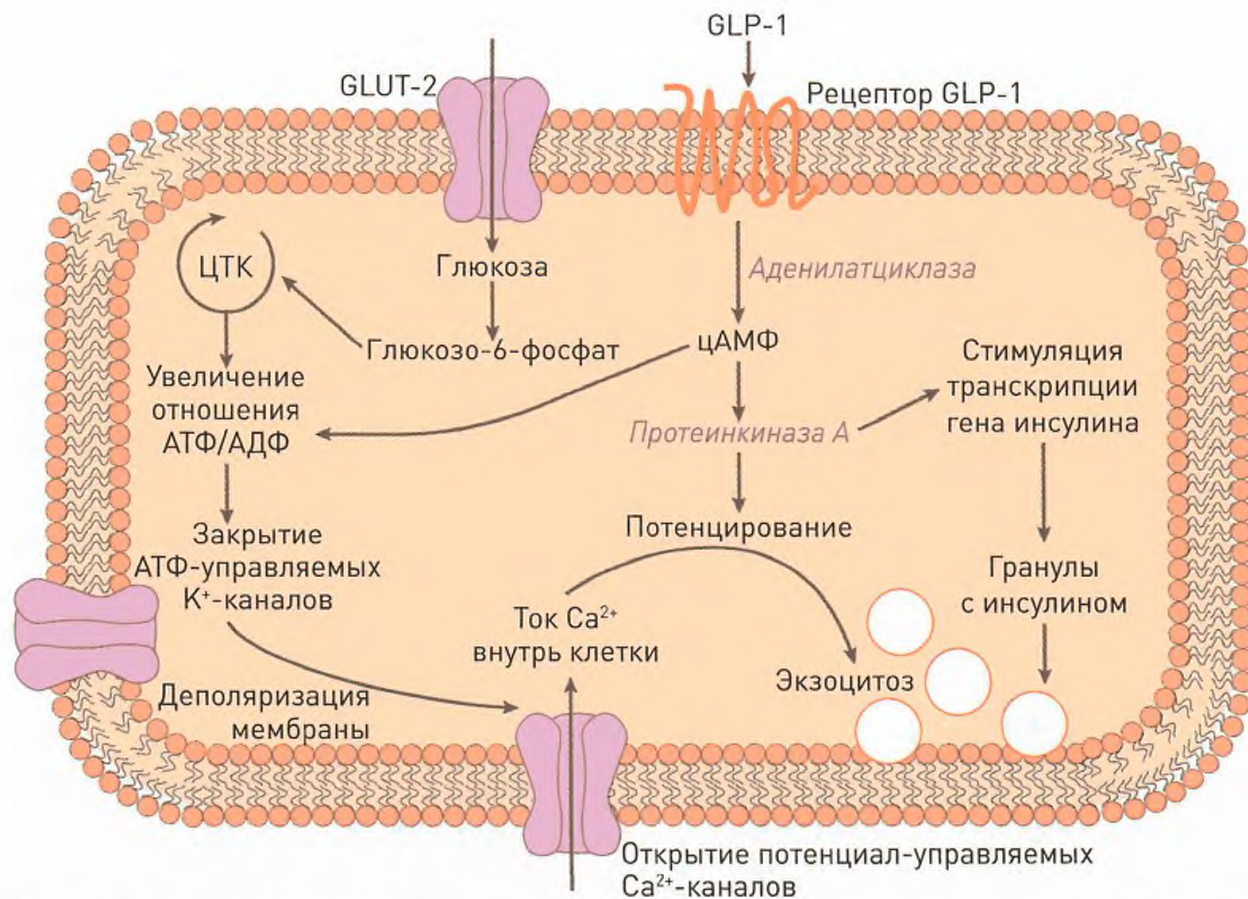


Рис. 13.2. Стимулированная глюкозой секреция инсулина В-клеткой поджелудочной железы.

Помимо повышения уровня глюкозы в плазме крови, секрецию инсулина В-клетками стимулируют также повышение уровня в крови аргинина и лейцина, выброс клетками парасимпатической нервной системы ацетилхолина, сульфонилмочевина, холецистокинин и инкретины (GLP-1 и GIP). Норадреналин ингибирует выброс В-клетками инсулина.

## Рецептор инсулина

Эффекты инсулина обусловлены его способностью взаимодействовать с инсулиновым рецептором, активация которого может запускать несколько сигнальных каскадов. Рецептор инсулина представляет собой гетеротетрамер, состоящий из двух внеклеточных  $\alpha$ -субъединиц, связанных дисульфидными связями с двумя трансмембранными  $\beta$ -субъединицами (рис. 13.3). Обе субъединицы кодируются одним геном — INSR и образуются из общего белка-предшественника за счёт

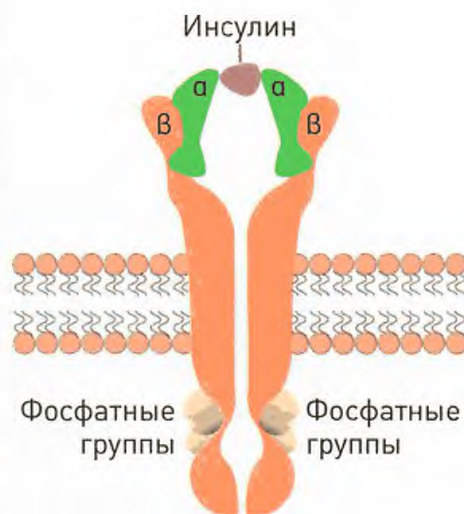


Рис. 13.3. Рецептор инсулина.

направленного протеолиза. Две  $\alpha$ -субъединицы формируют центр связывания гормона, а две  $\beta$ -субъединицы обладают тирозинкиназной активностью, обеспечивая передачу сигнала внутрь клетки.

## Сигнальные каскады рецептора инсулина

Центральную роль в передаче сигнала от рецептора инсулина играют белки IRS (субстраты инсулинового рецептора, IRS1–IRS6). Связывание инсулина с инсулиновым рецептором приводит к фосфорилированию белков IRS, а также адаптерного белка GRB2. Фосфорилирование IRS приводит к активации фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), которая, в свою очередь, фосфорилирует мембранные фосфолипиды с образованием фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата ( $PIP_3$ ).  $PIP_3$  активирует PDK1 (PIP<sub>3</sub>-dependent kinase 1), PDK1 активирует протеинкиназу PKB/Akt и протеинки-

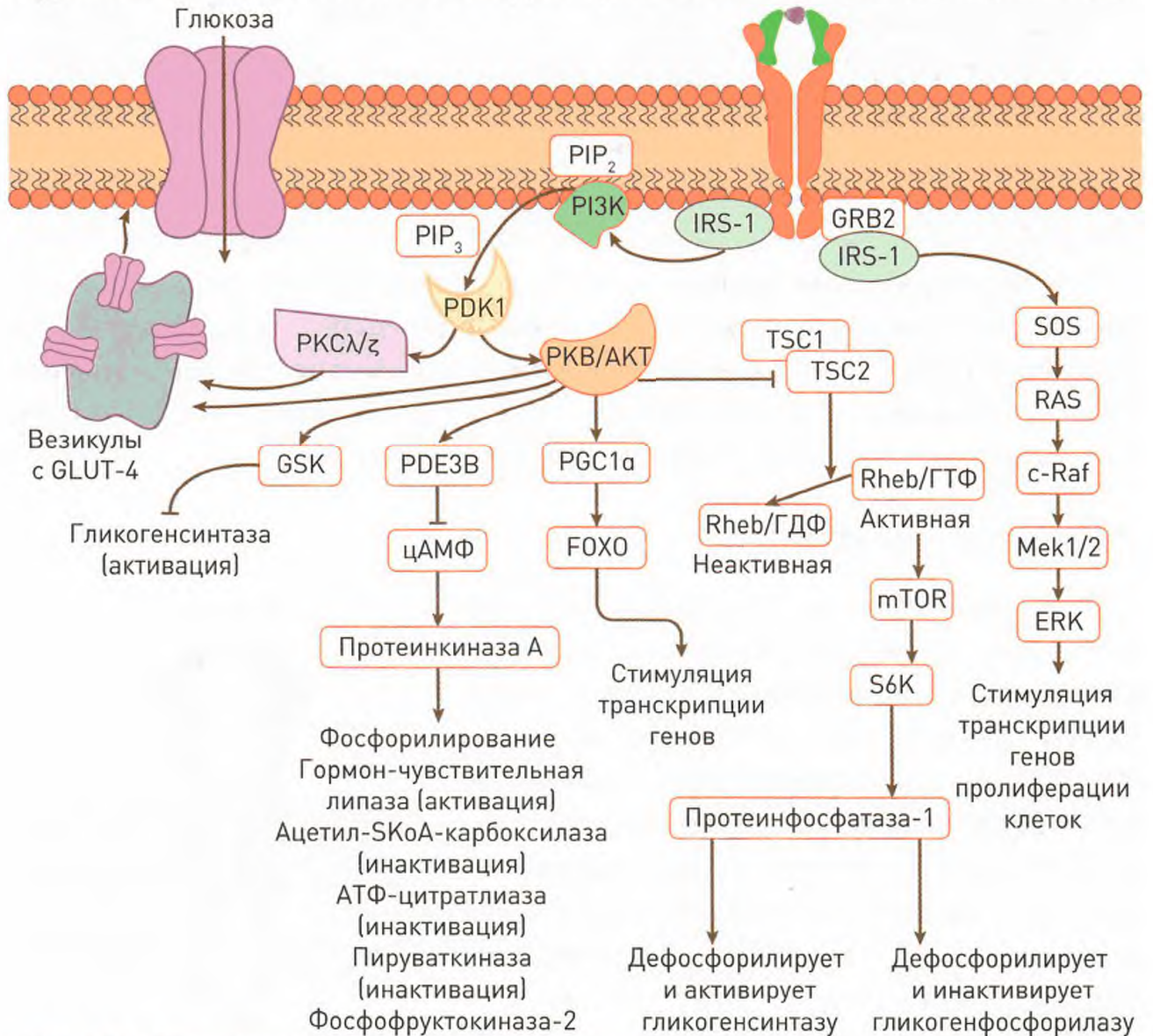


Рис. 13.4. Пути передачи сигнала внутрь клетки от рецепторов инсулина.

назу С (PKC $\lambda$ / $\zeta$ ). Активированная PKC $\lambda$ / $\zeta$  фосфорилирует внутриклеточные везикулы, содержащие транспортёры GLUT-4, облегчая их встраивание в плазматическую мембрану (рис. 13.4).

PKB/Akt также фосфорилирует киназу гликогенсинтазы, что приводит к её инактивации. Следовательно, гликогенсинтаза не может фосфорилироваться и остаётся в дефосфорилированном, то есть активном состоянии. В клетках печени инсулин повышает активность глюкокиназы, фосфофруктокиназы-1 и пируваткиназы, усиливая гликолиз. Эти эффекты обусловлены инсулин-зависимой активацией фосфодиэстеразы, снижающей уровень цАМФ. Уменьшение внутриклеточной концентрации цАМФ снижает активность протеинкиназы А и последующее фосфорилирование пируваткиназы и фосфофруктокиназы-2\*.

## **Эффекты взаимодействия инсулина с рецептором**

Действие инсулина направлено на снижение концентрации глюкозы плазмы крови.

- Усиление захвата глюкозы клетками мышечной и жировой ткани. Инсулин стимулирует экспозицию на мембране клеток транспортёров глюкозы GLUT-4. Мышечные клетки, захватывая глюкозу, фосфорилируют её и превращают в гликоген. Жировые клетки метаболизируют глюкозу до ацетил-SKoA и глицерола, из которых синтезируются ТАГ.
- Утилизация глюкозы клетками печени. Клетки печени, как и островковые клетки поджелудочной железы, захватывают глюкозу при помощи транспортёров GLUT-2. Их активность не регулируется инсулином, однако напрямую зависит от внутриклеточной и внеклеточной концентрации инсулина. Действие инсулина на клетки печени направлено на снижение внутриклеточного уровня свободной глюкозы. В клетках печени инсулин повышает активность глюкокиназы, фосфофруктокиназы-1 и пируваткиназы, усиливая гликолиз.
- Усиление депонирования глюкозы в виде гликогена. Снижение уровня цАМФ и повышение активности протеинфосфатаз поддерживает фосфоорилазу гликогена в неактивной, а гликогенсинтазу — в активной конформации, что стимулирует депонирование свободной глюкозы в виде гликогена и предотвращает гликогенолиз.

\* Пируваткиназа активна в дефосфорилированном состоянии, а фосфофруктокиназа-2 в дефосфорилированном состоянии смещает равновесие реакции фруктозо-6-фосфат  $\rightarrow$  фруктозо-2,6-бисфосфат в сторону фруктозо-2,6-бисфосфата. Фруктозо-2,6-бисфосфат, в свою очередь, активирует фосфофруктокиназу-1 и ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу.

В дополнение к непосредственному влиянию на метаболизм, инсулин также:

- активирует транскрипцию генов глюкокиназы, пируваткиназы, липопротеинлипазы, синтазы ВЖК, ацетил-SКоА-карбоксилазы;
- ингибирует транскрипцию генов ферментов глюконеогенеза (глюкозо-6-фосфатазы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы).

## Инкретины

*Инкретины* — группа гастроинтестинальных гормонов, стимулирующих высвобождение инсулина и снижающих уровень глюкозы плазмы крови. Наиболее значимое влияние на секрецию инсулина и пролиферацию  $\beta$ -клеток поджелудочной железы оказывают GLP-1 (glucagon-like peptide-1, глюкагоноподобный пептид 1) и GIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide\*, глюкозозависимый инсулиотропный полипептид).



*Глюкагоноподобный пептид 1 (GLP-1) образуется в ходе посттрансляционного процессинга проглюкагона и секретируется L-клетками тонкой и толстой кишки. В отличие от экспрессии в  $\alpha$ -клетках поджелудочной железы, экспрессия гена проглюкагона в L-клетках не зависит от инсулина и стимулируется приёмом пищи. В ходе направленного протеолиза проглюкагона в  $\alpha$ -клетках поджелудочной железы получается глюкагон, а в L-клетках — GLP-1. GLP-1 замедляет опорожнение желудка и стимулирует секрецию инсулина по глюкозозависимому механизму. GLP-1 активирует через аденилатциклазный механизм  $Ca^{2+}$ -каналы, облегчая встраивание везикул с инсулином в мембрану  $\beta$ -клеток и высвобождение инсулина во внеклеточное пространство. В отличие от GIP, GLP-1 также способен снижать секрецию глюкагона.*



*Агонисты рецепторов GLP-1: эксенатид, лираглутид, ликсисенатид, дулаглутид связываются с рецепторами GLP-1, стимулируя глюкозозависимую секрецию и подавляя секрецию глюкагона. Используются в терапии сахарного диабета типа 2.*



*Глюкозозависимый инсулиотропный полипептид (GIP) секретируется K-клетками слизистой оболочки двенадцатиперстной и тощей кишки в ответ на поступление в просвет двенадцатиперстной кишки химуса с высоким содержанием глюкозы. GIP индуцирует секрецию инсулина. Благодаря существованию такого механизма выброс инсулина в ответ на приём глюкозы внутри выше, чем после её введения внутривенно.*

\* Также можно встретить расшифровку *gastrointestinal inhibitory peptide*; ранее считалось, что GIP снижает выработку клетками желудка соляной кислоты.

GLP-1 и GIP быстро инактивируются дипептидилпептидазой-4 (DPP4) — сериновой экзопептидазой, которая отщепляет N-концевые дипептиды X-Про и X-Ала.

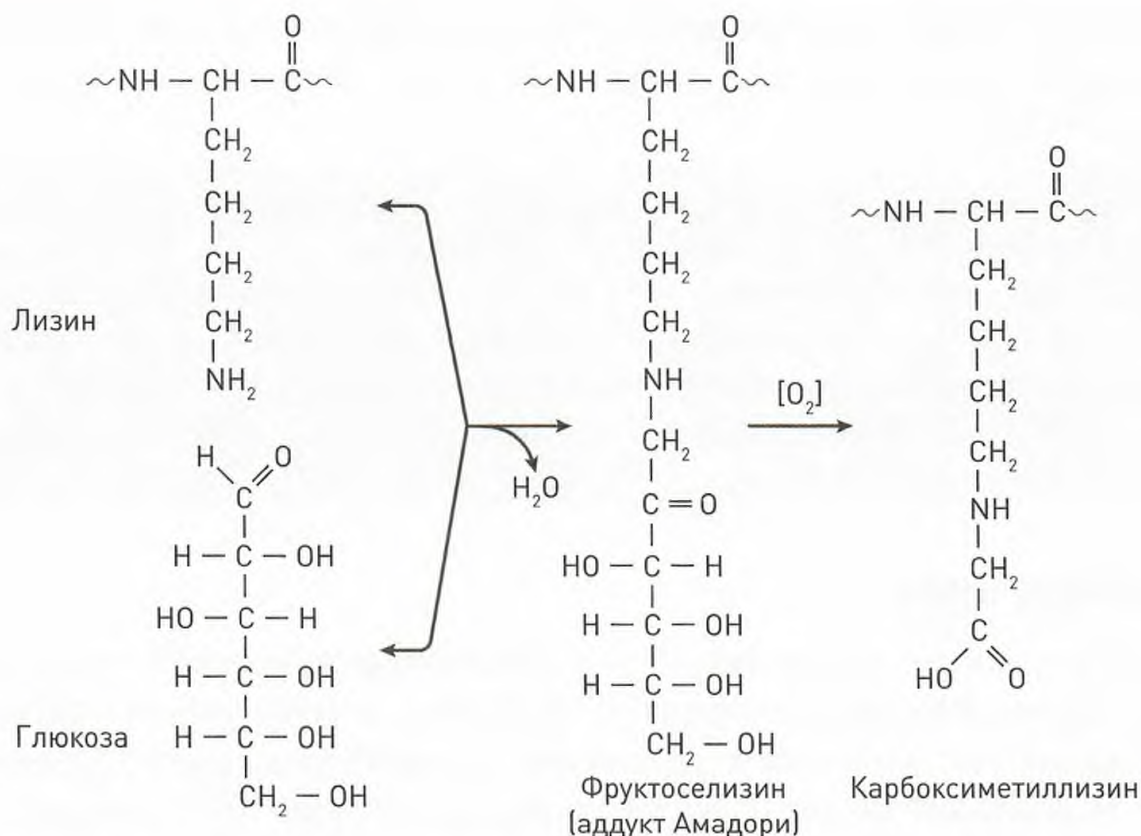


*Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (глиптины: ситаглиптин; вилдаглиптин; саксаглиптин; линаглиптин; алоглиптин; гозоглиптин) увеличивают длительность циркуляции GLP-1 и GIP за счёт ингибирования DPP4, что приводит к глюкозозависимой стимуляции секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы, подавлению секреции глюкагона и снижению активности глюконеогенеза в печени. Ингибиторы DPP4 используются для лечения сахарного диабета типа 2.*

## Гликирование

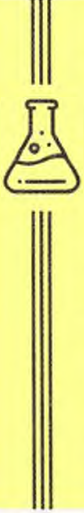
*Гликирование* — неферментативное ковалентное присоединение остатка моносахарида к белкам (как правило, свободным аминогруппам) и липидам. В реакциях гликирования в организме человека участвуют в основном глюкоза, фруктоза, галактоза и их производные. В результате гликирования образуются так называемые конечные продукты гликирования (англ. advanced glycation end-products, AGE). По способности гликировать белки фруктоза и галактоза примерно в десять раз более активны чем глюкоза. Относительно невысокая интенсивность гликирования белков, по-видимому, обусловлена большей стабильностью циклических форм глюкозы по сравнению с другими альдогексозами, которая, в свою очередь, определяется экваториальным расположением её гидроксильных групп в конформации «кресла». Однако, ввиду существенно более высокой концентрации глюкозы в плазме крови, реакции гликирования в организме человека с участием глюкозы протекают активно, особенно во время эпизодов гипергликемии.

Образование конечных продуктов гликирования проходит в несколько этапов (реакция Майяра). Сначала глюкоза связывается со свободными аминогруппами с формированием оснований Шиффа. Затем происходит перегруппировка Амандори с образованием более стабильных продуктов (например, изомеризация N-гликозидов альдоз в 1-амино-1-дезоксикетозы), и в конечном итоге образуются различные конечные продукты, типичным представителем которых является карбоксиметиллизин. Накопление конечных продуктов гликирования более характерно для белков с длительным периодом жизни. Гликированию подвергаются, как правило, остатки лизина, а также аргинина.



Конечные продукты гликирования появляются в организме человека при патологических состояниях, например, окислительном стрессе, который часто возникает у пациентов с сахарным диабетом из-за гипергликемии. С возрастом накопление конечных продуктов гликирования в организме повышается, что позволяет рассматривать их как один из возможных биомаркёров старения. Гликирование белков внеклеточного матрикса (ВКМ) — коллагена и эластина делает их более жёсткими и менее восприимчивыми к протеолитическому расщеплению. Это может способствовать увеличению жёсткости стенок сосудов, наблюдающемуся у пациентов с хронической гипергликемией.

Эндотелиальные клетки и макрофаги экспрессируют рецептор RAGE (англ. receptor for advanced glycation end-products), который может взаимодействовать с конечными продуктами гликирования и запускать экспрессию провоспалительных генов через сигнальный путь NF-κB. Рецепторы конечных продуктов гликирования играют важную роль в повреждении сосудистой стенки, прогрессировании нейродегенерации и амилоидоза. Активация рецепторов RAGE запускает активацию НАДФН-оксидазы, приводит к окислению митохондриальных белков и дисфункции митохондрий, что усугубляет окислительный стресс.



Гликирование\* гемоглобина происходит неферментативно путём присоединения остатков глюкозы к N-концевому валину или  $\xi$ -аминогруппам лизина. Интенсивность этого процесса прямо пропорциональна концентрации глюкозы плазмы крови. Благодаря относительно продолжительному времени жизни эритроцита (70–120 мес) определение содержания гликированного гемоглобина ( $HbA_{1c}$ ) позволяет ретроспективно оценить тяжесть и продолжительность эпизодов гипергликемии у пациента. Уровень  $HbA_{1c}$  является показателем компенсации углеводного обмена на протяжении этого периода времени и широко используется для оценки эффективности лечения. Нормализация уровня  $HbA_{1c}$  в крови происходит на 4–6-й неделе после достижения стабильного нормального уровня глюкозы.

## Сахарный диабет типа 1

Сахарный диабет типа 1 — полигенное многофакторное заболевание, в основе которого лежит иммуноопосредованная или идиопатическая деструкция  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, приводящая к абсолютной инсулиновой недостаточности. Сахарный диабет типа 1, как правило, манифестирует в детском возрасте, при наличии генетической предрасположенности, для реализации которой необходимы факторы внешней среды (инфекционные, диетические, психосоциальные), выступающие в роли триггера аутоиммунного поражения  $\beta$ -клеток. Основные механизмы действия триггерных факторов: активация поликлональных лимфоцитов; молекулярная мимикрия — идентичность участков белковых последовательностей инфекционного или химического агента и аутоантигенов; повышенная иммуногенность, индуцирующая иммунный ответ. Эти механизмы в конечном счёте запускают развитие аутоиммунных процессов, а также приводят к продукции различных аутоантител, наиболее значимыми из которых являются аутоантитела к инсулину (IAA), глутаматдекарбоксилазе (GADA), островковым клеткам (ICA), тирозинфосфатаза-подобному белку (IA-2A), транспортёру цинка (Zn-T8A).

Симптомы классического сахарного диабета типа 1 развиваются достаточно быстро и ярко. Заболевание обычно впервые проявляется у детей и подростков, как правило, появлению симптомов предшествует острое вирусное заболевание или стресс. Часто отмечается сочетание с другими аутоиммунными заболеваниями. В типичном случае заболевание манифе-

\* В ряде источников используется термин «гликозилированный гемоглобин», однако термин «гликированный гемоглобин» является более корректным, поскольку отражает неферментативную природу гликирования, в отличие от гликозилирования, которое протекает при участии ферментов и затрате энергии АТФ.

стирует через 2–4 нед после перенесённой инфекции, когда у пациентов появляется сухость во рту, жажда с потреблением жидкости до 3–5 л/сут, повышенный аппетит, полиурия. При обследовании выявляют гипергликемию и глюкозурию.

Гипергликемия обусловлена снижением утилизации глюкозы периферическими тканями вследствие недостатка инсулина. Сухость во рту и жажда связаны с обезвоживанием организма вследствие избыточного выделения жидкости через почки, а также с повышением содержания в крови глюкозы, мочевины, натрия. Степень выраженности полиурии может быть различной, однако редко превышает 3 л в сутки. Моча бесцветная, с высоким удельным весом. Полидипсия возникает в результате раздражения центра жажды в головном мозге вследствие гиперосмолярности крови и обезвоживания. Жажда более заметна в ночные часы и утром. Клиническая симптоматика сопровождается выраженной потерей массы тела.

Острая недостаточность инсулина приводит к гипераминоацидемии, гиперлипидемии и кетоацидозу. Дефицит инсулина стимулирует глюконеогенез и гликогенолиз, а также подавляет синтез гликогена в печени. Гиперлипидемия проявляется повышением содержания холестерина, триглицеридов (ТАГ) и липопротеинов. Повышенное поступление липидов в печень, где они усиленно окисляются, приводит к увеличению продукции кетоновых тел и гиперкетонемии. Накопление кетоновых тел вызывает диабетический кетоацидоз и развитие тканевой гипоксии. Прогрессирование метаболических нарушений, обусловленное дефицитом инсулина, усиливает тканевую дегидратацию, гиповолемию, гемоконцентрацию с тенденцией к развитию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания, гипоксии и отёку коры головного мозга и, в конечном итоге, к развитию диабетической комы.

## **Сахарный диабет типа 2**

Сахарный диабет типа 2 — заболевание, вызванное преимущественной инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью либо преимущественным нарушением секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без неё. К возможным патогенетическим механизмам сахарного диабета типа 2 относятся:

- нарушение секреции инсулина;
- инсулинорезистентность (наибольшее значение имеет инсулинорезистентность клеток печени, мышечной и жировой ткани);
- сниженный эффект инкретинов;

- нарушение секреции глюкагона;
- повышенная реабсорбция глюкозы в почках (вследствие повышенной активности SGLT-2).

Особенностью заболевания является длительное бессимптомное течение. К факторам риска развития сахарного диабета типа 2 относятся:

- возраст старше 45 лет;
- избыточная масса тела и ожирение (ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> для европеоидов или 23 кг/м<sup>2</sup> для азиатов);
- семейный анамнез сахарного диабета типа 2;
- привычно низкая физическая активность;
- нарушенная гликемия натощак или нарушенная толерантность к глюкозе в анамнезе;
- гестационный сахарный диабет или рождение крупного плода в анамнезе;
- артериальная гипертензия ( $\geq 140/90$  мм рт.ст. или медикаментозная антигипертензивная терапия);
- холестерин ЛПВП  $\leq 0,9$  ммоль/л и/или уровень триглицеридов  $\geq 2,82$  ммоль/л;
- синдром поликистозных яичников;
- наличие сердечно-сосудистых заболеваний.

Абдоминальное ожирение служит основным фактором риска сахарного диабета типа 2 и во многом причиной инсулинорезистентности. Как правило, у пациентов с сахарным диабетом типа 2 наряду с избыточной массой тела (или ожирением) имеются различные проявления так называемого метаболического синдрома: артериальная гипертензия, атерогенная дислипидемия, гиперурикемия, микроальбуминурия, нарушение свёртываемости крови. Эндогенный инсулин, как правило, вырабатывается в нормальном или повышенном количестве.

Сахарный диабет типа 2, как правило, длительно остаётся нераспознанным вследствие отсутствия каких-либо видимых проявлений. Могут быть неспецифические жалобы на слабость, быструю утомляемость. При хронической гипергликемии могут проявляться: жажда (приём жидкости до 3–5 л в сутки), кожный зуд, полиурия; никтурия, снижение массы тела, фурункулёз, грибковые инфекции, плохое заживление ран. Причиной первого обращения пациента к врачу могут стать различные проявления микро- и макроангиопатий, боли в ногах, эректильная дисфункция.

## Сахарный диабет типов MODY

MODY (maturity-onset type diabetes of the young) — группа наследственных моногенных вариантов сахарного диабета, манифестирующих в возрасте до 25 лет, и отчасти напоминающих по клиническому течению сахарный диабет типа 1, но не связанных с аутоиммунной деструкцией β-клеток. Наследуются в основном по аутосомно-доминантному механизму. Варианты MODY обусловлены мутацией различных генов, регулирующих стимулированную глюкозой секрецию инсулина β-клетками, в основном, транскрипционных факторов (табл. 13.1). По состоянию на начало 2022 г. в базе данных OMIM описано 14 вариантов MODY, из которых наиболее частыми являются MODY2 и MODY3. На долю MODY и другие моногенные варианты приходится в среднем около 1–2% всех случаев сахарного диабета.

**Таблица 13.1.** Варианты MODY

Тип	Дефектный ген	Дефектный белок	Функция дефектного белка
MODY1	<i>HNF4A</i>	Ядерный фактор гепатоцита, HNF-4α	HNF-4α — транскрипционный фактор, отвечает за рост и нормальное развитие β-клеток. Регулирует экспрессию генов <i>HNF1A</i> , <i>PPARA</i> , генов инсулина, глюкозо-6-фосфатазы, GLUT-2, пируваткиназы, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, альдолазы В
MODY2	<i>GCK</i>	Глюкокиназа	Активность глюкокиназы в β-клетках важна для корректной работы аппарата «сенсора глюкозы» и выброса β-клетками инсулина. У пациентов отмечается небольшая гипергликемия натощак и сниженный выброс инсулина в ответ на нагрузку глюкозой. Протекает доброкачественно и, как правило, не требует лечения
MODY3	<i>HNF1A</i>	Ядерный фактор гепатоцита, HNF-1α (TCF1)	Транскрипционный фактор, вовлечён в регуляцию экспрессии многих генов, в том числе GLUT-2 и пируваткиназы. У пациентов снижен почечный порог выведения глюкозы
MODY4	<i>PDX1</i>	Панкреато-дуденальный гомеобокс-1*	Транскрипционный фактор, IPF-1 (insulin promoter factor 1), активирует транскрипцию гена инсулина в клетках поджелудочной железы

## Окончание таблицы 13.1

Тип	Дефектный ген	Дефектный белок	Функция дефектного белка
MODY5	<i>HNF1B</i>	Ядерный фактор гепатоцита, HNF-1B (TCF2)	Транскрипционный фактор, регулирует рост и дифференцировку поджелудочной железы в эмбриогенезе, при мутациях гена обнаруживаются аномалии развития поджелудочной железы, почек и половых органов
MODY6	<i>NEU-ROD1</i>	Фактор нейрогенной дифференцировки, NeuroD1	Транскрипционный фактор, регулирует транскрипцию гена инсулина
MODY7	<i>KLF-11</i>	Kruppel-like фактор 11	Транскрипционный фактор, активирующий промотор гена инсулина, индуцируется под действием TGF $\beta$
MODY8	<i>CEL</i>	Липаза эфиров карбоновых кислот	Регулирует метаболизм липидов, делеции в различных tandemных повторах гена <i>CEL</i> связаны с нарушением функции поджелудочной железы
MODY9	<i>PAX4</i>	Paired box 4	Транскрипционный фактор, вовлечённый в процесс дифференцировки эндокринных клеток поджелудочной железы
MODY10	<i>INS</i>	Инсулин	Различные миссенс-мутации гена инсулина, как правило, проявляются в раннем младенческом возрасте
MODY11	<i>BLK</i>	Специфическая тирозинкиназа В-лимфоцитов	Полиморфизм гена <i>BLK</i> ассоциирован с высокой распространённостью ожирения и сахарного диабета
MODY12	<i>ABCC8</i>	АТФ-связывающий кассетный транспортёр С8	Регулирует активность АТФ-зависимых K <sup>+</sup> -каналов и секрецию инсулина
MODY13	<i>KCNJ11</i>	K <sub>ir</sub> 6.2	Субъединица АТФ-зависимого K <sup>+</sup> -канала, регулирует ток K <sup>+</sup> и глюкозо-зависимую секрецию инсулина
MODY14	<i>APPL1</i>	Адаптерный белок APPL1	Участвует в перемещении везикул и эндосомальном сигналинге

\* Гомеобокс — консервативная последовательность ДНК длиной около 180 пар оснований, локализованная в составе кодирующих областей некоторых генов, кодирующая ДНК-связывающий домен сайт-специфических ДНК-связывающих белков.

## Вторичный сахарный диабет

Вторичный сахарный диабет развивается как следствие другого заболевания (табл. 13.2).

**Таблица 13.2.** Заболевания/состояния, приводящие к развитию вторичного сахарного диабета

Заболевание	Механизм развития сахарного диабета
Острые и хронические панкреатиты	Деструкция островковых клеток поджелудочной железы, нарушение образования инсулина
Муковисцидоз	
Глюкагонома	Опухолевые клетки продуцируют избыточное количество глюкагона, который является антагонистом инсулина
Феохромоцитомы	Опухолевые клетки продуцируют избыточное количество адреналина, который является антагонистом инсулина
Синдром Кушинга	Клетки надпочечников продуцируют избыточное количество кортизола, который является антагонистом инсулина
Синдром Донахью	Сопровождается нарушением функции рецептора инсулина, гиперинсулинемией и гиперандрогенией
Синдром Робсона-Менденхолла	Мутации в гене рецептора инсулина

## Диагностика сахарного диабета

Рекомендуется проведение одного из следующих диагностических тестов:

- исследование уровня глюкозы плазмы крови натощак;
- случайное определение уровня глюкозы плазмы крови;
- оценка уровня гликированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) в крови.

Гипергликемия, выявленная при наличии острой инфекции, травмы или стресса, может быть транзиторной. Диагноз «сахарный диабет» у лиц без симптомов не должен ставиться на основании однократно определённого ненормального значения глюкозы. В этом случае необходимо повторное обнаружение концентрации глюкозы в диабетическом диапазоне либо натощак, либо случайно, либо при проведении перорального теста толерантности к глюкозе (табл. 13.3).

**Таблица 13.3.** Диагностические критерии сахарного диабета и других нарушений гликемии (ВОЗ, 1999–2013)

	Время взятия пробы	Концентрация глюкозы, ммоль/л	
		Центральная капиллярная кровь	Плазма или сыворотка венозной крови
Нормальные значения	Натошак*	<5,6	<6,1
	Через 2 ч после перорального теста толерантности к глюкозе	<7,8	<7,8
Сахарный диабет**	Натошак	≥6,1	≥7,0
	Через 2 ч после перорального теста толерантности к глюкозе	≥11,1	≥11,1
	Случайное определение (при наличии симптомов)	≥11,1	≥11,1
Нарушенная толерантность к глюкозе	Через 2 ч после перорального теста толерантности к глюкозе	7,8–11,1	7,8–11,1
Нарушенная гликемия	Натошак	5,6–6,1	6,1–7,0

Также для диагностики сахарного диабета может быть использовано определение  $HbA_{1c}$ . Уровень  $HbA_{1c} \geq 6,5\%$ \*\*\* у лиц с подозрением на сахарный диабет подтверждает диагноз. В случае отсутствия симптомов острой метаболической декомпенсации диагноз должен быть поставлен на основании двух значений, находящихся в диабетическом диапазоне, например, дважды определённый  $HbA_{1c}$  или однократное определение  $HbA_{1c}$  + однократное определение уровня глюкозы крови. Диагноз сахарного диабета типа 2 устанавливается только по уровню глюкозы крови или  $HbA_{1c}$ , превышающему границы диапазона референсных значений. Проведение дифференциальной диагностики при сахарном диабете типа 2 обычно не требуется.

\* Натошак — определение уровня глюкозы в крови утром после предварительного голодания в течение не менее 8 ч и не более 14 ч.

\*\* Диагноз «сахарный диабет» всегда следует подтверждать определением гликемии в последующие дни, за исключением случаев несомненной гипергликемии с острой метаболической декомпенсацией или с очевидными симптомами. Диагноз гестационного сахарного диабета может быть поставлен на основании однократного определения гликемии.

\*\*\* Нормальный уровень  $HbA_{1c}$  составляет <6,0%, уровень 6,0–6,4% не позволяет установить диагноз сахарного диабета, но не исключает возможности диагностики сахарного диабета по уровню глюкозы крови.

Определение кетоновых тел в крови или в моче показано пациентам с диагностированным сахарным диабетом типа 1 для определения степени метаболических нарушений, а также пациентам с диагностированным сахарным диабетом типа 2 для оценки её выраженности.

У пациентов с классическими симптомами гипергликемии (потребление до 3–5 л жидкости в сутки, запах ацетона в выдыхаемом воздухе, кожный зуд, полиурия, плохое заживление ран, фурункулёз, кандидоз, резкое и значительное снижение массы тела) измеренный уровень глюкозы плазмы достаточен для постановки диагноза сахарного диабета.

Проведение дифференциальной диагностики требуется при стёртой клинической симптоматике (в сомнительных случаях). Рекомендуется определение содержания антител к антигенам островковых клеток поджелудочной железы в крови (GADA, ICA, IAA, IA-2A, Zn-T8A). В некоторых случаях для дифференциальной диагностики типов сахарного диабета показано определение уровня С-пептида.



*Аутоантитела к антигенам В-клеток (ICA, GADA, IAA, IA-2A, Zn-T8A) — иммунологические маркёры аутоиммунного инсулита. Присутствие двух и более специфичных аутоантител характерно для сахарного диабета типа 1.*

## **Заместительная терапия инсулином**

Основной метод лечения сахарного диабета типа 1 — заместительная инсулинотерапия в виде базис-болюсного режима или постоянной подкожной инфузии (помповая терапия) в сочетании с изменением дозы прандиального инсулина в зависимости от планируемого к приёму с пищей количества углеводов (в России — по системе хлебных единиц, ХЕ), уровня гликемии перед едой, предполагаемой физической активности. В клинической практике применяются (табл. 13.4, рис. 13.5):

- рекомбинантные препараты инсулина человека (инсулины короткого действия);
- рекомбинантные препараты инсулина человека, содержащие ионы  $Zn^{2+}$  и протамина сульфат\* (инсулины средней продолжительности действия);

\* *Нейтральный протамин Хагедорна (изофан-инсулин, НПХ-инсулин) — группа препаратов инсулина, увеличение продолжительности действия которого достигнуто путём добавления цинка и белка протамина в изофаных, то есть равных количествах. Цинк и протамин стабилизируют кристаллическую структуру гексамеров инсулина и тем самым замедляют попадание активных мономеров в кровь из места введения. Протамины — небольшие, богатые аргинином, ядерные белки, которые заменяют гистоны на поздних стадиях гаплоидного сперматогенеза и считаются необходимыми для конденсации сперматозоидов и стабилизации ДНК.*

- препараты аналогов инсулина с точечными аминокислотными заменами (инсулины с уменьшенной или увеличенной продолжительностью действия)\*;
- препараты аналогов инсулина с присоединёнными остатками ВЖК\*\* (инсулины длительного и сверхдлительного действия).

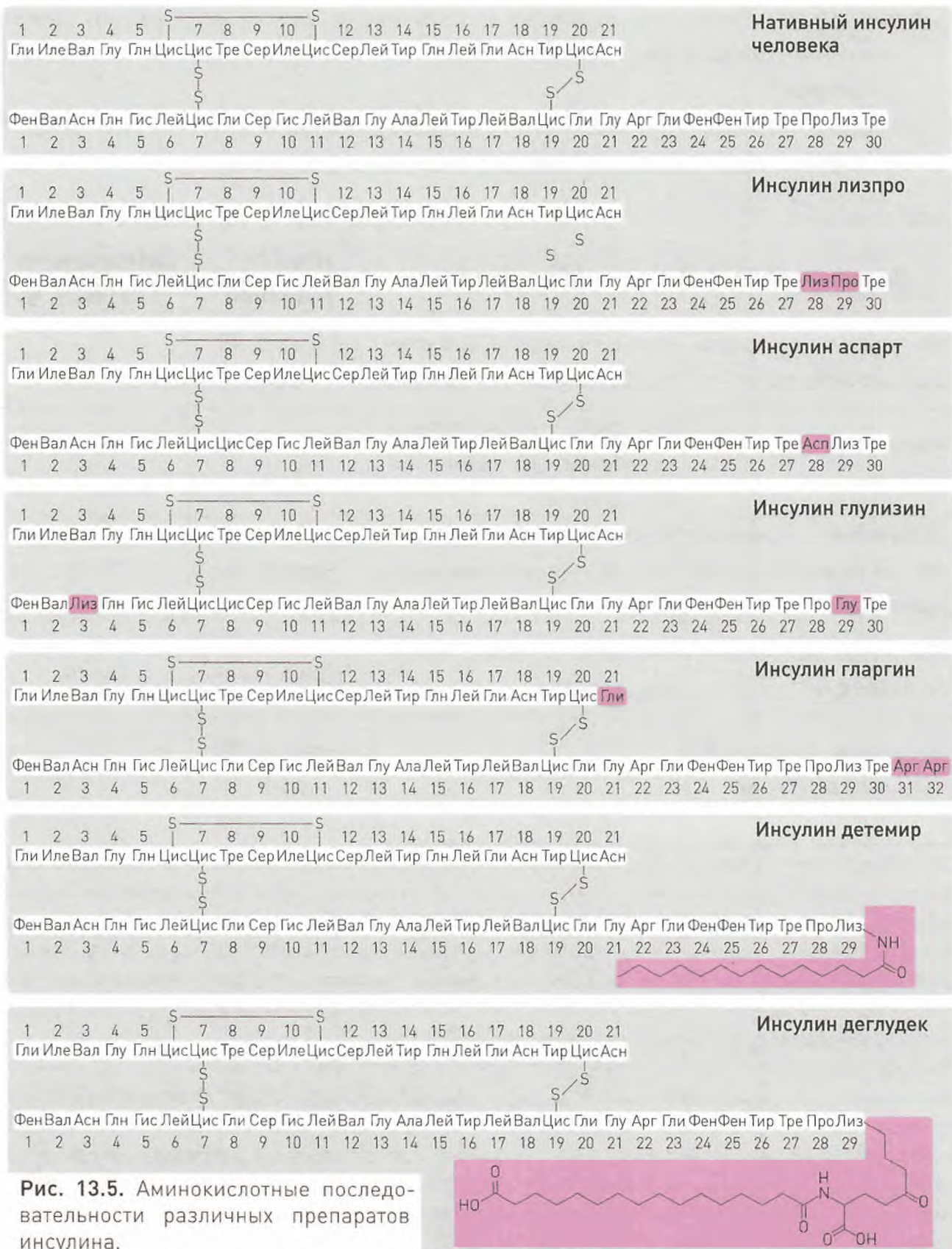
**Таблица 13.4.** Препараты инсулинов, разрешенные к применению в России

Виды инсулина	Препараты	Начало действия	Длительность действия, ч
Инсулины ультракороткого действия	Инсулин лизпро, инсулин аспарт, инсулин глулизин	Через 5–15 мин	4–5
Инсулины короткого действия	Инсулин растворимый человеческий генно-инженерный	Через 20–30 мин	5–6
Инсулины средней продолжительности действия	Инсулин-изофан человеческий генно-инженерный	Через 2 ч	12–16
Инсулины длительного действия	Инсулин гларгин, инсулин детемир	Через 1–2 ч	24–36
Инсулины сверхдлительного действия	Инсулин деглудек	Через 30–90 мин	Более 42

\* Инсулин аспарт — аналог человеческого инсулина, в котором аминокислота Про в положении В28 замещена на Асп. Инсулин лизпро отличается от инсулина человека обратной последовательностью аминокислот в положениях 28 и 29 В-цепи инсулина. В молекуле инсулина глулизина аминокислота Асн в положении В3 замещена на Лиз, а аминокислота Лиз в положении В29 замещена на Глу. Замена аминокислот снижает тенденцию молекул к образованию гексамеров. В связи с этим инсулины ультракороткого действия быстрее всасываются из подкожно-жировой клетчатки и начинают действовать быстрее, чем растворимый человеческий инсулин.

Инсулин гларгин синтезирован путём присоединения двух остатков Арг В31 и В32, что снижает растворимость в нейтральной среде подкожной жировой клетчатки. После подкожного введения препарат вступает в реакцию нейтрализации с образованием микропреципитатов, из которых в дальнейшем происходит высвобождение гексамеров и их диссоциация с образованием димеров и мономеров. Постепенное проникновение мономеров и димеров через мембрану капилляра обеспечивает постоянный и стабильный уровень инсулина в крови в течение 24 ч.

\*\* Инсулин детемир содержит остаток жирной (миристиновой) кислоты, присоединённый к Лиз в положении В29, обуславливающей высокую способность молекул к самоассоциации в гексамеры, а также обратимому связыванию инсулина с альбуминами в подкожной жировой клетчатке и в крови. Инсулин деглудек представляет собой рекомбинантный ацилированный DesВ30 человеческий инсулин, к которому в положении В29 через  $\gamma$ -L-глутаминовую кислоту (линкер) присоединён остаток гексадекандиовой жирной кислоты.



**Рис. 13.5.** Аминокислотные последовательности различных препаратов инсулина.

Сочетанное применение препаратов инсулина разной продолжительности действия в зависимости от приёма пищи и физической активности позволяет максимально аккуратно сглаживать периоды гипергликемии и не допускать гипогликемии.

## Диабетический кетоацидоз

*Диабетический кетоацидоз* — острая метаболическая декомпенсация сахарного диабета, для которой характерны гипергликемия более 13 ммоль/л (у детей — более 11 ммоль/л), гиперкетонемия (более 5 ммоль/л), кетонурия (не менее ++) и метаболический ацидоз (рН <7,3). Клиническая картина и данные лабораторных исследований включают глюкозурию и полиурию (осмотический диурез), жажду, признаки дегидратации и гиповолемии (снижение АД, сухость кожи и слизистых оболочек, снижение тургора кожи и тонуса глазных яблок, в тяжёлых случаях возможна олиго-и анурия), слабость, рвоту, запах кетоновых тел («ацетона») в выдыхаемом воздухе, головную боль, одышку, нарушения сознания, от сонливости или заторможенности до комы. Диабетический кетоацидоз развивается, как правило, постепенно, в течение нескольких суток.

Диабетический кетоацидоз чаще развивается при сахарном диабете типа 1. Более частое развитие кетоацидоза у пациентов с сахарным диабетом типа 1 обусловлено абсолютным дефицитом инсулина и соответственно относительным избытком глюкагона\*, активирующего глюконеогенез и липолиз.

Диагноз диабетического кетоацидоза ставится на основании характерных клинических проявлений и данных лабораторной диагностики. рН артериальной крови 7,25–7,29 соответствует лёгкой степени тяжести, рН 7,0–7,24 — средней степени тяжести, рН <7,0 — тяжёлой степени. Комплексное лечение включает инсулинотерапию внутривенно в режиме малых доз, борьбу с дегидратацией и гиповолемией, коррекцию электролитных нарушений и кислотно-щелочного равновесия.

## Гиперосмолярное гипергликемическое состояние

*Гиперосмолярное гипергликемическое состояние* — острая метаболическая декомпенсация сахарного диабета без кетоза и ацидоза, с резко выраженными дегидратацией и гипергликемией (как правило, выше 30 ммоль/л, возможно до 55,5 ммоль/л и более) и высокой осмолярностью плазмы. Гиперосмолярное гипергликемическое состояние встречается

\* При сахарном диабете типа 2 инсулин, как правило, в организме вырабатывается (даже в некоторых случаях возможна гиперинсулинемия) и ингибирует β-окисление жирных кислот, вследствие чего не образуется избыток ацетил-SКоА для синтеза кетоновых тел, а жирные кислоты включаются в состав ТАГ.

в 6–10 раз реже, чем диабетический кетоацидоз. Чаще всего оно возникает у пожилых больных сахарным диабетом типа 2.

Гиперосмолярное гипергликемическое состояние развивается при сочетании резкой дегидратации и инсулиновой недостаточности: при инфекционных заболеваниях, особенно с высокой лихорадкой, рвотой и диареей, других острых заболеваниях, таких как инфаркт миокарда, тромбоэмболия лёгочной артерии, острый панкреатит, кишечная непроходимость, инсульт, массивные кровотечения, обширные ожоги, приём больших доз ряда лекарственных препаратов, в том числе глюкокортикоидов. Клиническая картина: выраженная полиурия (впоследствии часто олиго- или анурия), жажда (у пожилых встречается не всегда), слабость, головные боли; выраженные симптомы дегидратации и гиповолемии: снижение тургора кожи и тонуса глазных яблок, тахикардия, позднее — артериальная гипотензия, затем нарастание недостаточности кровообращения, вплоть до коллапса и гиповолемического шока; сонливость. Запаха кетоновых тел («ацетона») нет. Особенность клинической картины — полиморфная неврологическая симптоматика (судороги, дизартрия, нистагм, изменение рефлексов, гипер- или гипотонус мышц, парезы и параличи и др.); возможны психические расстройства в виде психомоторного возбуждения и делирия с различной степенью нарушения сознания. Психоневрологические симптомы исчезают при нормализации осмолярности.

Диагноз гиперосмолярного гипергликемического состояния ставят на основании клинических проявлений выраженного обезвоживания, лабораторного подтверждения гипергликемии (обычно выше 30 ммоль/л) и гиперосмолярности (референсные значения 285–295 мОсм/л). Основные компоненты лечения — борьба с дегидратацией и гиповолемией, устранение инсулиновой недостаточности, восстановление электролитного баланса.

## **Гипогликемия и гипогликемическая кома**

*Гипогликемия* — клинический синдром, обусловленный снижением уровня глюкозы плазмы <2,8 ммоль/л, сопровождающимся клинической симптоматикой или <2,2 ммоль/л, независимо от симптомов. *Гипогликемические комы* — причина смерти 3–4% больных сахарным диабетом. В основе гипогликемии лежит избыток инсулина при относительном дефиците углеводов или их ускоренной утилизации. Причиной гипогликемии при сахарном диабете может быть:

- случайная или намеренная передозировка сахароснижающих препаратов;
- повышение чувствительности к инсулину: длительная физическая нагрузка, ранний послеродовой период, надпочечниковая или гипофизарная недостаточность;
- пропуск приёма углеводов-содержащей пищи или недостаточное её количество, алкоголь, замедление опорожнения желудка (при автономной нейропатии), рвота, синдром мальабсорбции;
- повышенная физическая нагрузка (на фоне приёма постоянной дозы сахароснижающих препаратов);
- беременность (I триместр) и кормление грудью.

Клинические проявления гипогликемии включают вегетативные (сердцебиение, дрожь, бледность кожи, потливость, мидриаз, тошнота, сильный голод, беспокойство, тревога) и нейрогликопенические симптомы (слабость, нарушение концентрации, головная боль, головокружение, сонливость, парестезии, нарушения зрения, растерянность, дезориентация, дизартрия, нарушение координации движений, спутанность сознания, кома, возможны судороги). Диагноз гипогликемии ставят на основании анамнеза, клинической картины и лабораторного подтверждения (снижение уровня глюкозы плазмы  $<2,8$  ммоль/л с клинической симптоматикой или  $<2,2$  ммоль/л, независимо от симптомов).

Для профилактики гипогликемии пациент, получающий сахароснижающие препараты, должен постоянно иметь при себе легкоусвояемые углеводы, перед запланированной физической нагрузкой уменьшать дозу инсулина; при незапланированной нагрузке показан дополнительный приём углеводов. Лечение гипогликемии у больных сахарным диабетом, получающих сахароснижающую терапию, следует начинать при уровне глюкозы плазмы менее 3,9 ммоль/л.

Для лечения лёгкой гипогликемии целесообразен приём внутрь быстро усваиваемых углеводов в количестве 1–2 ХЕ (например, 100–200 мл сладкого фруктового сока, или 1–1,5 столовых ложки мёда либо варенья, или 3–5 кусочков сахара-рафинада по 5 г). При тяжёлой гипогликемии (имеется та или иная степень нарушения сознания) используют парентеральное введение раствора глюкозы и глюкагона.

## Рекомендуемая литература

Клинические рекомендации «Сахарный диабет 1 типа у взрослых». М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2019.

Клинические рекомендации «Сахарный диабет 2 типа у взрослых». М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2019.

Эндокринология. Фармакотерапия без ошибок/Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко, М.В. Шестаковой. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Е-нота, 2018, 695 с.

*Michael King. Integrative Medical Biochemistry: Examination and Board Review. 2014 McGraw Hill, 912 p.*

## Задания для обсуждения



Сахарный диабет типа 1, как правило, связан, с клеточно-опосредованной аутоиммунной деструкцией островковых В-клеток. Одним из биохимических маркёров сахарного диабета типа 1 являются аутоантитела (антитела к глутаматдекарбоксилазе, тирозинфосфатазе IA-2, инсулину и другим белкам клеток островков Лангерганса). Антитела к инсулину служат наиболее специфическим маркером сахарного диабета типа 1 и используются для дифференциальной диагностики этого заболевания у детей.

- А. Являются ли антитела к инсулину непосредственной причиной развития заболевания или отражают деструкцию клеток поджелудочной железы?
- Б. Опишите, какие изменения биохимического анализа крови у пациента в возрасте 3 лет могут служить основанием для определения антител к инсулину?
- В. Поясните, почему выявление антител к эндогенному инсулину в диагностических целях возможно только до начала инсулинотерапии.



С-пептид — компонент секрета эндокринной части поджелудочной железы, который является показателем секреции инсулина. Определение концентрации С-пептида в венозной крови используется для оценки функции В-клеток для диагностики сахарного диабета.

- А. Что такое С-пептид, и какова его роль в процессе созревания инсулина?
- Б. Поясните, как и почему будет изменяться уровень С-пептида у пациента с сахарным диабетом типа 2 через несколько часов после приёма углеводной пищи.
- В. Можно ли использовать концентрацию С-пептида в крови пациентов с сахарным диабетом, находящихся на инсулинотерапии, для контроля эффекта в процессе лечения?
- Г. Можно ли использовать определение концентрации С-пептида для дифференциальной диагностики сахарного диабета типов 1 и 2?



Трое 50-летних пациентов-диабетиков планируют отмечать день взятия Бастилии и купили торт «Наполеон». Все трое страдают инсулин-зависимым сахарным диабетом и получают базовую терапию инсулином.

За 1 ч до застолья концентрация глюкозы в плазме крови у каждого из них составляла 5 ммоль/л (норма 3,3–5,5 ммоль/л). Пациент А ввёл обычную дозу инсулина за 30 мин до застолья и съел половину торта. Пациент Б не вводил инсулин и съел вторую половину. Пациент В ввёл обычную дозу инсулина за 30 мин до предполагаемого уничтожения торта, но ему ничего не досталось. Торт пациенты запивали коньяком, которого хватило на всех. Больше из еды у них ничего не было. Пациенты использовали препарат инсулина ультракороткого действия (начало действия через 10–20 мин после подкожного введения, пик действия достигается в среднем через 1–3 ч, длительность действия составляет 3–5 ч).

- А. У какого пациента уровень глюкозы плазмы крови через 1–2 ч после застолья будет выше всего? Почему?
- Б. У какого пациента скорость гликолиза через 1–2 ч после застолья будет выше всего? Почему?
- В. Опишите риски пищевого поведения каждого из троих пациентов.



При однократном определении гликемии натощак у мужчины в возрасте 55 лет уровень глюкозы плазмы крови составил 9 ммоль/л. При осмотре выявлена катаракта. Врач заподозрил сахарный диабет и планирует дальнейшее обследование.

- А. Какие изменения можно ожидать у пациента при проведении глюкозотолерантного теста?
- Б. Нарисуйте гликемическую кривую у данного пациента после проведения глюкозотолерантного теста (начальный уровень глюкозы 9 ммоль/л).
- В. Какой показатель в наилучшей степени позволит ретроспективно оценить длительность и уровень гликемии за предыдущие 4–8 нед до обследования?
- Г. Какая химическая модификация белков при сахарном диабете может привести к катаракте?



Пациентка, 45 лет, страдающая ожирением, обратилась к эндокринологу с жалобами на частые мочеиспускания, сухость во рту и снижение чувствительности ног и рук. Эти симптомы беспокоят в течение последних двух лет. Врач предположил диагноз сахарного диабета типа 2 и назначил проведение биохимического анализа крови и мочи, а также глюкозотолерантный тест.

- А. С нарушением каких механизмов регуляции обмена углеводов связано развитие сахарного диабета типа 2?
- Б. Какие биохимические исследования назначил врач? Какие изменения он ожидает увидеть?
- В. Нарисуйте гликемическую кривую пациентки после проведения глюкозотолерантного теста (в сравнении с нормальной гликемической кривой).
- Г. Назовите основные гормоны, регулирующие уровень глюкозы плазмы крови. Какие биохимические процессы они регулируют, и каким образом?



Пациентка, 45 лет, преподаватель университета, проходит ежегодную диспансеризацию. Жалоб не предъявляет, считает себя здоровой. При осмотре видимой патологии не выявлено, однако в биохимических анализах обнаружены следующие изменения: глюкоза (разовая порция мочи) —

1,0 ммоль/л (нормальные значения <0,8 ммоль/л); глюкоза плазмы крови (однократное измерение) — 7,5 ммоль/л (нормальные значения натощак 4,1–6,0 ммоль/л).

- А. Какие дополнительные исследования следует назначить пациентке для уточнения причин выявленных отклонений от нормы?
- Б. Какие вопросы следует задать пациентке для прояснения условий сбора мочи и крови для анализа?
- В. Что такое почечный порог выведения глюкозы?
- Г. Назовите не менее трёх возможных причин выявленных изменений биохимических анализов.



Вы работаете фельдшером скорой помощи и приехали по экстренному вызову. Пациентка, 35 лет, находится без сознания, бледная, дыхание поверхностное. Врача вызвал муж пациентки, который нашел её в бессознательном состоянии 20 мин назад. Он сообщил вам, что пациентка страдает сахарным диабетом типа 1 и длительно принимает инсулин. Вам нужно понять причину состояния пациентки (кетоацидотическая/гиперосмолярная или гипогликемическая кома).

- А. Какой биохимический анализ крови вы проведете в экстренном порядке? Как по этому анализу вы сделаете вывод о причине комы?
- Б. В укладке скорой помощи у вас есть адреналин. Можно ли его ввести, если подтвердится гипогликемическая кома? Как изменится углеводный обмен после введения адреналина?
- В. У пациентки дома в холодильнике есть запас инсулина. Можно ли его ввести, если подтвердится гипогликемическая кома? Как изменится углеводный обмен после введения инсулина?



В приёмный покой была доставлена пациентка, 29 лет, с заторможенным сознанием, учащённым пульсом и дыханием. Муж пациентки сообщил, что у нее сахарный диабет типа 1, который она лечит инсулином, но последний раз инсулин она вводила себе более 24 ч назад. Пищу не принимала уже более 1 сут. Биохимический анализ крови пациентки показал гипергликемию (8 ммоль/л) и метаболический ацидоз.

- А. Укажите два наиболее вероятных источника повышенной концентрации глюкозы в крови.
- Б. С каким гормональным дисбалансом связана активация этих процессов?
- В. Можно ли вводить пациентке в данном состоянии инсулин? Что следует ожидать после введения инсулина?



Пациентка, 55 лет, находится на лечении по поводу глюкагономы — опухоли из  $\alpha$ -клеток островков Лангерганса, секретирующей глюкагон. Заболевание диагностировано 3 года назад, проведена дистальная гемипанкреатэктомия (удаление хвоста поджелудочной железы, содержащего опухоль диаметром 7 см), однако год назад были обнаружены метастазы в брюшину и в печень. Пациентка жалуется на общую слабость на фоне повышенного аппетита, снижение массы тела. При биохимическом обследовании уровень глюкагона повышен в 34 раза. Врачи назначили пациентке октреотид (синтетический аналог соматостатина).

- А. Какого изменения уровня глюкозы в плазме крови следует ожидать, за счёт активации каких процессов?
- Б. Какого изменения уровня инсулина в плазме крови можно ожидать? Почему?
- В. Оправдано ли назначение аналога соматостатина? Каков механизм его действия?



Пациентка, 60 лет, страдающая инсулин-зависимым сахарным диабетом, злоупотребляет алкоголем, периодически забывает вводить инсулин и не придерживается рекомендованной врачом диеты (не рассчитывает дозу инсулина в соответствии с полученной с пищей массой углеводов). Она поступила в стационар в состоянии нарушения сознания («путается в показаниях», с трудом называет себя, дезориентирована во времени и пространстве). Алкоголя в крови не обнаружено. Врач предположил, что указанное нарушение сознания может быть связано с основным заболеванием пациентки и назначил экстренное определение уровня глюкозы плазмы крови.

- А. Каких изменений уровня глюкозы ожидает врач, исходя из имеющейся клинической картины и данных анамнеза, и почему?
- Б. Поясните, в чём заключается опасность для пациентки в случае, если она забыла ввести инсулин? Какие экстренные лечебные мероприятия вы бы предприняли?
- В. Поясните, почему для пациента с сахарным диабетом важно рассчитывать дозу инсулина в соответствии с количеством употреблённых углеводов.



Пациентка, 55 лет, поступила в больницу с жалобами на выраженную общую слабость, головокружение, рвоту после приёма пищи, уровень глюкозы в крови составлял 1,5 ммоль/л (нижняя граница диапазона референсных значений 3,3 ммоль/л). 5 лет назад пациентку стали беспокоить частые, до 4 раз в день, эпизоды выраженной слабости, головокружения, которые были связаны со снижением уровня глюкозы в крови менее 3 ммоль/л. Такие состояния пациентка купирует приёмом сладкого чая и других легкоусвояемых углеводов. С момента дебюта заболевания отметила выраженное нарастание массы тела. 1 мес назад у больной были диагностированы эндогенный гиперинсулинизм, инсулинома поджелудочной железы.

- А. Как изменена скорость гликолиза в клетках печени пациентки по сравнению со здоровыми женщинами её возраста? За счёт каких ферментов гликолиза?
- Б. Как у пациентки изменена скорость синтеза гликогена клетками печени по сравнению со здоровыми женщинами её возраста? За счёт каких ферментов синтеза гликогена?
- В. Какого изменения уровня С-пептида в крови пациентки следует ожидать?

# Предметный указатель

## Указатель терминов

- Агароза **54**  
Агрекан 262, 265, **266**  
Агликон 39  
Агрин 265  
Адреналин 134, 202, 205, 221, 224–226  
Альгинат 78  
Альдоза 18, 25  
Амилодекстрин 63  
Амилоза 44, **46**, 48  
Амилопектин 44, **46**, 48  
Аномер 21  
Антиген  
– АВО 309  
– Тн 308  
– Галили 42  
– Льюиса 308  
Арабиноза 25, 45  
Арабиноксилан 74  
Атом  
– хиральный 19  
N-ацетилгалактозамин 45  
N-ацетилглюкозамин 45  
N-ацетилманнозамин 45  
Ацилфосфат 119  
Белок регуляторный глюкокиназы 134  
Бигликан 265  
Биотин 145  
Бревикан 265, **266**  
Брожение 109  
Версикан 265, **266**  
Взрыв окислительный (респираторный) 171, **187**  
Галактоза **29**, 45, 249–257  
Галактозамин 45  
Галактоманнан 53, 76  
Гаргуилизм 285  
Гексоза 18  
Гемагглютинин 300  
Гемицеллюлоза **62**, 74, 76  
Гемоглобин гликированный 24, 30, **331**, 337  
Гепарансульфат 262, 282, 289  
Гепарин 35, 57, 262, 273, 289  
Гептоза 18  
Гетероксилан 53  
Гетерополисахарид 18, 44  
Гипергликемия 32, 91, 103, 147, 321, 330, 332–342  
Гиперурикемия 116, 153, 154, 238, 244, 333  
Гипогликемия 31, 68, 96, 151, 153, 154, 199, 215, 227, 228, 237, 342–344  
Гиполактазия 70  
Гликан **44**  
– прекурсор 302  
Гликирование 297, 329–331  
Гликобиология 16  
Гликоген 44, **46**, 48, 62, 191–230  
Гликогенин 47, 192, 196  
Гликозаминогликан 55, 263  
Гликозид **38–40**  
Гликокаликс 55, 298  
Гликом 17, 297  
Гликомика 16  
Гликоформа 298  
Глипикан 264, 265  
Глутатион **170**, 174, 186, 242  
Глюкагон 101, 114, 116, 125, 134, 135, 151, 153, 156, 158, 160, 161, 202–204, 221, 222, 225, 228, 328, 336, 343  
Глюкозамин 45  
Глюкозурия 94, 103, 199, 332  
Глюкоманнан 53, 76  
Гомоксилан 53  
Гомополисахарид 18, 44  
Группа  
– гликозидная 22  
– полуацетальная 22  
Декорин 262, 265, **266**  
Декстран **50**  
Декстрин 63  
Дерматансульфат 56, 262, 282, 284

- Диастереомер 20  
 Дисахарид 17, 18, **40**  
 Дистрогликан 306  
 Единица хлебная 82  
 Иммуноглобулин 311  
 Индекс гликемический **79**, 244  
 Инкретин 328  
 Инсулин 91, 98, 125, 133–135, 147, 161, 183, 203, 205, 228, **322–328**, 335, 338–339  
 Инулин 28, **51**, 74, 77  
 Кальмодулин 224, 226  
 Камедь ксантановая 77  
 Карбоксифосфат 146  
 Кератансульфат 56, 262, 282, 291  
 Кератокан 265, **266**  
 Кестоза 43  
 Кетоацидоз диабетический 341  
 Кетоза 18, 27  
 Кислота
  - N-ацетилмурамовая 45
  - N-ацетилнейраминовая 45
  - альгиновая 35, 54
  - галактуронозная 45
  - гиалуронозная **55**, 262, 270
  - глюкуронозная 45
  - идуронозная 45
  - маннуринозная 45
  - мурамовая 36, 45
  - сиаловая 37, 45
 Код углеводный 299  
 Кома гипогликемическая 342  
 Константа транспортная 89  
 Кортизол 153, 156, 161, 336  
 Крахмал 44, **46**, 48, 61
  - неперевариваемый 77
 Ксантан 74  
 Ксилоглюкан 53  
 Ксилоза 45  
 Ксилулоза 27  
 $\alpha$ -Лактальбумин 255  
 Лактат-ацидоз 127  
 Лактоза **42**, 69  
 Лактон 35  
 Леван 52  
 Лектин 299  
 Лепрекан 265  
 Лигнин 74, 76  
 Лизоцим 53  
 Линкер тетрасахаридный 270  
 Люмикан 265, **266**  
 Манноза **29**, 45  
 Маннозамин 45  
 Моносахарид 17–19  
 Мукопротеин 306  
 Муреин 36, **52**  
 Мутаротация 23, 40  
 Муцин 306, **311**  
 Нейрокан 265, **266**  
 Нейропептид Y 243  
 Оксидоредукция гликолитическая 131  
 Олигосахарид 17, 18
  - en bloc 303
  - восстанавливающий 40
  - невосстанавливающий 40
 Основание шиффово 180  
 Остеоглицин 265  
 Остеомодулин 265, **266**  
 Пектин 53, 74, 78  
 Пентоза 18  
 Пептид
  - C 323
  - глюкагоноподобный 1 328
  - глюкозозависимый инсулинотропный 328
 Пептидогликан 52  
 Перлекан 265  
 Пираноза 21  
 Пищеварение
  - полостное 62
  - пристеночное 62
 Полидекстроза 74  
 Полисахарид 17, 18, **44**  
 Полуацеталь циклический 21  
 Полукеталь циклический 21  
 Порог почечный выделения глюкозы 103  
 Препроинсулин 322, 323

- Проинсулин 323  
 Протамин Хагедорна нейтральный 338  
 Протеогликан 262  
 Путь  
   – полиоловый 241  
   – Лелуа 250  
 Равновесие таутомерное 22  
 Рамноза 45  
 Раффиноза **43**, 74, 78  
 Реакция  
   – Майяра 329  
   – Фелинга 24  
 Рибоза **27**, 45  
 Рибулоза 27  
 Сахароза **41**  
 Связь  
   – гликозидная **38**, 273  
   – макроэргическая 120  
 Селектин 299  
 Серглицин 265, 273  
 Серотонин 116, 134  
 Синдекан 265  
 Сортинг гликопротеинов 307  
 Стереоизомер 19  
 Стоматин 95  
 Таутомерия 22  
 Тельца  
   – полиглюкозановые 200  
   – Хайнца 175  
 Тест  
   – Бейтлера 175  
   – водородный дыхательный 71  
   – кислотности кала 72  
   – пероральный глюкозотолерантный **32**, 71  
 Тетроза 18  
 Толерантность к глюкозе нарушенная 337  
 Трансферрин 98  
 Трегалоза 43, 73  
 Триоза 18  
 Тромбоспондин 306  
 Фавизм 173  
 Фагоцитоз 171, 186  
 Фактор подвижности опухолевых клеток аутокринный 114  
 Фенотип Бомбея 310  
 Фибромодулин 265, **266**  
 Фосфорилирование субстратное 120  
 Фруктан 74  
 Фруктоза **28**, 45, 93  
 Фукоза 45  
 Фураноза 21  
 Хитин 36, **50**, 74, 76  
 Хитиназо-3-подобный белок 76  
 Хондроитинсульфат 56, 262  
 Хромогранин А 265  
 Целлобиоза **42**  
 Целлюлоза 44, **48**, 74  
   – микрокристаллическая 49  
 Центр  
   – аномерный 22  
   – хиральный 19, 20  
 Цикл  
   – глюкозо-аланиновый 163  
   – глюкозо-лактатный 162  
   – Кори 162  
   – пиранозный 21  
   – фуранозный 21  
 Шунт Рапопорта–Люберинга 135  
 Энантиомер 20  
 Эпимер 20  
 Эффект  
   – аномерный 25  
   – Варбурга 137  
   – Пастера 136

## Указатель формул

---

- Аланин 156  
Аллоза 26  
Амилоза 46  
Альтроза 26  
Арабиноза 25, 26  
Аспартат 156  
Ацетилгалактозамин 261  
Ацетилглюкозамин 255, 261  
1,3-Бисфосфоглицерат 119, 120  
Галактитол 255  
Галактоза 20, 26, 29, 249, 250, 251, 255  
Галактозамин 36  
Галактозо-1-фосфат 251, 252  
Галактозоацетилглюкозамин 255  
Гепарин 57, 275, 289  
Гликоген 47, 198, 213  
Глицеральдегид 18, 19, 26, 237, 238  
Глицеральдегид-3-фосфат 117, 118, 119, 157, 177, 179–181, 238  
Глицерол 157  
Глицерол-3-фосфат 157  
Глицин 156  
Глутамат 156  
Глюкоза 20, 22, 23, 25, 26, 38, 66, 67, 69, 73, 112, 152, 194, 219, 235, 241, 249, 256, 330  
Глюкозамин 36  
Глюкозо-1-фосфат 34, 194, 195, 252  
Глюкозо-1,6-бисфосфат 194  
Глюкозо-6-фосфат 34, 112, 114, 152, 172, 194  
Глюконо- $\delta$ -лактон 34, 172  
Гулоза 26  
Дезоксирибоза 32  
Дерматансульфат 57, 275, 284  
Диоксиацетон 18, 27  
Диоксиацетонфосфат 117, 118, 157, 237  
Долихолфосфат 302  
Идоза 26  
Изомальтоза 41  
Инулин 51  
 $\alpha$ -Кетоглутарат 156  
Кислота  
– N-ацетилмурамовая 36  
– N-ацетилнейраминовая 37  
– галактуроновая 35  
– гиалуриновая 55  
– глюконовая 34  
– глюкуроновая 35, 261  
– идуроновая 261  
– маннуриновая 35  
– мурамовая 36  
– нейраминовая 37  
Кератансульфат 56, 291  
Кестоза 44  
Ксилоза 26  
Ксилулоза 27  
Ксилулозо-5-фосфат 177, 179, 180  
Ликсоза 26  
Лактат 125  
Лактоза 69, 249, 256  
Малат 148  
Мальтоза 41  
Мальтотриоза 66  
Манноза 20, 26, 29  
Оксалоацетат 145, 146, 147–149, 156  
Пектин 54  
Пиран 21  
Пируват 123, 125, 145, 146, 149, 156  
Психоза 27  
Рамноза 32  
Раффиноза 43  
Рибоза 26, 28  
Рибозо-5-фосфат 177, 179  
Рибулоза 27  
Рибулозо-5-фосфат 176, 177, 179  
Сахароза 41, 67, 235  
Седогептулозо-7-фосфат 177, 179, 181  
Серин 156  
Сорбоза 27  
Сорбитол 241  
Тагатоза 27

Талоза 26  
Трегалоза 43, 73  
Треоза 26  
УДФ-галактоза 252, 255, 256  
УДФ-глюкоза 195, 198, 252  
2-Фосфоглицерат 121  
3-Фосфоглицерат 120, 121  
Фосфоглюконат 176  
Фосфоглюконо- $\delta$ -лактон 172, 176  
Фосфоенолпируват 121, 123, 147, 149  
Фруктоза 22, 27, 28, 67, 235, 236, 241  
Фруктозо-1-фосфат 236, 237  
Фруктозо-1,6-бисфосфат 116, 117, 151  
Фруктозо-2,6-бисфосфат 160  
Фруктозо-6-фосфат 114, 116, 151, 160, 177, 180, 181, 241  
Фукоза 32  
Фуран 21  
Хондроитин 276  
Хондроитинсульфат 56, 275, 276  
Целлобиоза 42  
Целлюлоза 48  
Эритроза 26  
Эритрозо-4-фосфат 177, 180, 181  
Эритрулоза 27

## Указатель лекарственных препаратов

---

Алглюкозидаза альфа 221  
Алоглиптин 329  
Вестронидаза альфа 288  
Вилдаглиптин 329  
Галсульфаза 287  
Гиалуронидаза 283  
Гидроксихлорохин 173  
Гозоглиптин 329  
Дапаглифлозин 104  
Даратумумаб 283  
Дулаглутид 328  
Идурсульфаза 285  
Изониазид 127, 173  
Инсулин 31, 339  
Кальция надропарин 57  
Канаглифлозин 104  
Лактулоза 256  
Ларонидаза 286  
Ликсисенатид 328  
Линаглиптин 329  
Линезолид 127  
Лираглутид 328  
Натрия  
– альгинат 78  
– далтепарин 57  
– эноксапарин 57  
Неомицин 28  
Пропофол 127  
Ритуксимаб 283  
Саксаглиптин 329  
Ситаглиптин 329  
Стрептомицин 40  
Трастузумаб 283  
Фуразолидон 173  
Хитозан 50  
Хлорохин 173  
Эксенатид 328  
Элосульфаза альфа 292  
Эмпаглифлозин 104  
Эритромицин 36  
Эритропоэтин 312

## Указатель ферментов

- Аденилатциклаза 204, 225, 325  
Аланинаминотрансфераза 156  
Альдоза-1-эпимераза 250  
Альдоза редуктаза 241, 255  
Альдолаза  
– А 117  
– В 237, 239, 240  
 $\alpha$ -Амилаза 62, **63**  
АМФ-активируемая протеинкиназа 202  
Арилсульфатаза  
– В 279  
– К 279  
Аспаратаминотрансфераза 156  
Ацетилгалактозамин-4-сульфатаза 279, 281, 284  
Ацетилгалактозамин-6-сульфатаза 279, 281, 291  
Ацетилглюкозамин-6-сульфатаза 279, 281, 290, 291  
Ацетилглюкозаминидаза 280, 281, 290  
Ацетил-глюкозаминилтрансфераза 273  
Галактоза мутаротаза 250  
Галактозилтрансфераза 255, 271  
Галактозо-1-фосфатуридилтрансфераза 250, **252**, 269  
В-Галактозидаза 1 280, 281, 291  
Галактозилтрансфераза 305  
Галактокиназа 250, **251**  
Гексозаминидазы А, В, S 280, 284, 291  
Гексокиназа 111, **112**, 130, 131, 134, 192, 193, 241, 243, 269  
Гепаран- $\alpha$ -глюкозаминид-N-ацетилтрансфераза 280, 281, 290  
Гепаран-N-сульфатаза 279, 281, 290  
Гиалуронансинтаза 270  
Гиалуронидаза 281, **282**  
Гликогенин гликозилтрансфераза 192, 196  
Гликогенсинтаза 192, 193, **197**, 202, **203**, 204, 206, 221, 228, 327  
Гликогенфосфорилаза 212, **213**, 221, **222**, 225, 226, 228, 327  
Гликозилтрансфераза 300–301, 313–315  
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа 119, 130, 239  
Глицеральдегидкиназа 238, 239  
Глицеролдегидрогеназа 240  
Глицеролкиназа 157, 240  
Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа 157, 240  
Глутаматдегидрогеназа 156  
Глутамин-фруктозо-6-фосфат аминотрансфераза 268, 269  
Глутатионпероксидаза 182  
Глутатионредуктаза 182  
Глюкозамин-6-фосфат N-ацетилтрансфераза 268, 269  
 $\alpha$ -Глюкозидаза 305  
Глюкозо-1-фосфат-уридилтрансфераза 192, 193, **195**, 269  
Глюкозо-6-фосфатаза 144, **152**, 239  
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа 170, **172**  
Глюкозо-6-фосфатизомераза 111, **114**, 239  
Глюкозо-6-фосфат транслоказа 152  
Глюкокиназа 113, 134, 192, 327, 334  
Глюкуронат-2-сульфатаза 279, 290  
В-Глюкуронидаза 279, 281, 284, 290  
Глюкуронил-С<sub>5</sub>-эпимераза 274  
Дерматансульфат эпимераза 274  
Дипептидилпептидаза-4 329  
Енолаза 121  
– нейрон-специфическая 123  
Идуронат-2-сульфатаза 279, 281, 284, 290  
L-Идуронидаза 279, 281, 284, 290  
Изоцитратдегидрогеназа 130  
Казеинкиназа 2 202, 203  
 $\alpha$ -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс 130  
Киназа гликогенсинтазы 202, 203, 206  
Киназа гликогенфосфорилазы 222, **223**, 225, 226, **227**  
Лактаза 63, **68**, 249

- Лактоза синтаза 256  
 Лактоназа 170  
 Лактатдегидрогеназа **125**, 127, 150, 239  
 Липаза эфиров карбоновых кислот 335  
 Малатдегидрогеназа 130, **148**, 149, 150  
 Мальтаза-гликоамилаза 63, **66**  
 Мальтаза кислая 212, **218**  
 $\alpha$ -Маннозидаза 305  
 НАДФН-оксидаза 186  
 Олигосахарилтрансфераза 305  
 Пируватдегидрогеназный комплекс 130  
 Пируваткарбоксилаза 144, **145**, 149, 150, 158, 159  
 Пируваткиназа **123**, 130, 131, 134, 159, 239, 327  
   – димерная M2 124  
 Протеинкиназа  
   – А 204, 225, 325  
   – В 326  
   – С 226, 326  
 Протеинфосфатаза 1 203, 206, 223  
 Рибозо-5-фосфат-изомераза 170, **178**  
 Рибулозо-5-фосфат-эпимераза 170, **178**  
 Сахаразо-изомальтаза 63, **66**, 235  
 Сиалилтрансфераза 305  
 Сорбитолдегидрогеназа 241  
 Сукцинатдегидрогеназа 130  
 Сукцинил-SКоА-синтетаза 130  
 Сульфоглюкозаминсульфогидролаза 279  
 Сульфотрансфераза 276, 277  
 Тирозинкиназа В-лимфоцитов специфическая 335  
 Трансальдолаза 170, **180**  
 Транскетолаза 170, **179**  
 Трегалаза 63, **73**  
 Триозофосфатизомераза **118**, 157, 239  
 УДФ-N-ацетилглюкозамин пирофосфорилаза 268, 269  
 УДФ-галактоза-4-эпимераза 250, **254**  
 УДФ-глюкозаминэпимераза 269  
 УДФ-глюкозодегидрогеназа 269  
 УДФ-глюкуронозилтрансфераза 271  
 УДФ-ксилоза синтаза 269  
 УДФ-ксилозилтрансфераза 271  
 Фермент  
   – бифункциональный 160  
   – «ветвящий» 192, 193, 199  
   – «деветвящий» 212, **216**  
 Фосфоацетилглюкозаминмутаза 268, 269  
 Фосфогексозоизомераза 269  
 Фосфоглицераткиназа **120**, 130, 131, 239  
 Фосфоглицератмутаза **121**, 239  
 Фосфоглюкомутаза 192, 193, **194**, 239, 269  
 6-Фосфоглюконолактоназа 170, **175**  
 6-Фосфоглюконатдегидрогеназа 170, **176**  
 Фосфоенолпируваткарбоксикиназа 144, **147**, 149, 150, 159  
 Фосфолипаза С 226  
 Фосфопируватгидратаза **121**  
 Фосфофруктокиназа-1 111, **115**, 130, 131, 134, 158, 159, 243, 327  
 Фруктозо-1,6-бисфосфатаза 144, 151, 158, 159, 239  
 Фруктозо-1-фосфатальдолаза 237, 239, 240  
 Фруктокиназа 236, 239, 240  
 Хондроитинсульфат-N-ацетилгалактозаминилтрансфераза 273  
 Хондроитинсульфат синтаза 273  
 Целлюлаза 76  
 Экзостозин-гликозилтрансфераза 273

## Указатель заболеваний

- Акромегалия 32, 321  
Алактазия 72  
Аспергиллёз 52  
Артрит ревматоидный 300, 311  
Астма бронхиальная 122, 300  
Болезнь  
– I-клеточная 307  
– Аддисона 31  
– Альцгеймера 76  
– Андерсена 200  
– Бехчета 122  
– Гентингтона 76  
– Гурлер 281, 284, **286**  
– Данон 220  
– фон Гирке 31, **153**  
– Де Виво 95  
– Кори 217  
– Крона 68, 70  
– МакАрдля 214, 230  
– Марото–Лами 281, 284, **287**  
– Моркио 281, 291, **292**  
– накопления полиглюкозановых телец 201  
– Натовиц 281, **283**  
– Помпе 219, 230  
– Сандхоффа 284, **288**, 291  
– Санфилиппо 281, **290**, 291  
– Слай 281, 284, **288**  
– Таруи 116  
– Тея–Сакса 284, **287**, 291  
– Форбса 217  
– Хантера 281, 284, **285**  
– Херса 215  
– Шейе 281, 284, **286**  
Галактоземия 31  
– I типа (классическая) 252  
– II типа 251  
– III типа 254  
– Дуарте 253  
Ганглиозидоз  
– GM1 316  
– GM2 284, **287**  
Гликогеноз  
– 0 типа 198  
– I типа 153  
– II типа 219, 230  
– III типа 217  
– IV типа 200  
– V типа 214, 230  
– VI типа 215  
– VII типа 116  
– VIII типа 227  
– IX типа 227  
– X типа 121  
– XI типа 126  
– XII типа 117  
– XIII типа 122  
– XV типа 197  
Глюкагонома 336  
Дефицит врождённый  
– альдолазы A 117  
– арилсульфатазы B 287  
– ацетилгалактозамин-6-сульфатазы 291  
– ацетилглюкозамин-6-сульфатазы 290, 291  
– N-ацетилглюкозаминидазы 290  
– «ветвящего» фермента 200  
– галактозидазы 291, 316  
– галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы 252  
– галактокиназы 251  
– гексозаминидазы 287, 288, 291  
– гексокиназы I типа 113  
– гепаран-N-сульфатазы 290  
– гепара-α-глюкозаминид-N-ацетилтрансфераза 290  
– гиалуронидазы 283  
– гликогенсинтазы 198  
– гликогенфосфорилазы 214  
– глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы **173**, 182  
– глюкозо-6-фосфатизомеразы 115  
– «деветвящего» фермента 217

- енолазы 122
- идуронат-2-сульфатазы 284, 285
- L-идуронидазы 281, 284, **286**
- киназы гликогенфосфорилазы 227
- лактатдегидрогеназы 126
- маннозидазы 316
- нейраминидазы 316
- пируваткарбоксилазы 146
- пируваткиназы 124
- рибозо-5-фосфатизомеразы **178**, 182
- сахарозо-изомальтазного комплекса 67
- трансальдолазы **181**, 182
- трегалазы 73
- триозофосфатизомеразы 118
- УДФ-галактоза-4-эпимеразы 254
- фосфоглицераткиназы 120
- фосфоглицератмутазы 121
- фосфоглюкомутаза 195
- фосфоглюконатдегидрогеназы **176**, 182
- фруктозо-1,6-бисфосфатазы 151
- фруктокиназы 236
- фукозидазы 317
- Диабет сахарный 24, 30, 32, 74, 82, 127, 321–342
  - типа 1 331–332
  - типа 2 99, 104, 332–334
  - юношеский взрослого типа 113
- Дистрофия макулярная роговицы 278
- Инсулинома 31
- Инфаркт миокарда 127
- Мальабсорбция
  - глюкозы 94
  - фруктозы 94
- Малярия 175
- Маннозидоз 316
- Муковисцидоз 32, 78, 336
- Мукополисахаридоз
  - типа I 281, 284, **286**
  - типа II 281, 284, **285**
  - типа III 281, **290**
  - типа IV 281
- типа VI 281, 284, **287**
- типа VII 281, 284, **288**
- типа IX 281
- Нарушение толерантности к фруктозе 31, **237**
- Нейробластома 123
- Непереносимость лактозы 70
- Остеохондромы наследственные множественные 274
- Панкреатит 32, 55, 336
- Рак
  - лёгкого мелкоклеточный 123
  - толстой кишки 74, 124
  - щитовидной железы 123
- Сиалидоз 316
- Синдром
  - GRACILE 127
  - адреногенитальный 31
  - Баракат–Перентхалер 196
  - Вагнера 264
  - Гурлер 281, 284, **286**
  - Донахью 336
  - Иценко–Кушинга 32
  - Кушинга 321, 336
  - Марото–Лами 281, 284, **287**
  - метаболический 28
  - Моркио 281, 291, **292**
  - Натовиц 281, **283**
  - поликистозных яичников 333
  - Робсона–Менделхолла 336
  - Санфилиппо 281, **290**, 291
  - Симпсона–Голаби–Бемеля 264
  - Слай 281, 284, **288**
  - Уолкера–Варбурга 315
  - Фанкони–Бикеля 96, 104
  - Хантера 281, 284, **285**
  - Шейе 281, 284, **286**
  - Элерса–Данло 271, 278
- Склероз рассеянный 300
- Феохромоцитома 32, 123, 336
- Фруктозурия эссенциальная 236
- Фукозидоз 317
- Целиакия 68, 70
- Энцефалопатия Вернике–Корсакова 180