

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

***КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ
ДІАГНОСТИКИ***

Обмін амінокислот в нормі та при патології

***Навчально-методичний посібник
для самостійної аудиторної та позааудиторної
підготовки студентів медичного факультету до
практичних занять***

**Зі спеціальності: 7.110 101 Лікувальна справа
7.110 104 Педіатрія
6.120 102 Лабораторна діагностика**

**Запоріжжя
2010**

Навчально-методичний посібник з теми «Обмін амінокислот в нормі та при патології» для студентів 2 курсу медичного факультету затверджений на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМУ

протокол № ____ від _____ 2010 р.

Навчально-методичний посібник з теми »Обмін амінокислот в нормі та при патології» для студентів 2 курсу медичного факультету розроблений авторами:

- © Александрова К.В. – д.хім.н. професор, зав.кафедри
- © Крісанова Н.В. - к.б.н. доцент
- © Макоїд О.Б. – к.б.н. доцент
- © Рудько Н.П. – к.б.н. старший викладач

Рецензенти:

Завідувач кафедри медичної біології, паразитології і генетики
к.б.н. доцент Стеблюк М.В.

Завідувач кафедри органічної та біоорганічної хімії д.фарм.н.,
професор Прийменко Б.О.

1. Значення теми

У обміні 20 амінокислот, що входять до складу білкових молекул організму людини, беруть участь декілька сотень проміжних продуктів, тісно пов'язаних з метаболітами вуглеводного, ліпідного і білкового обмінів. Кількість ферментів, що каталізують реакції азотистого обміну, також обчислюється сотнями. У разі змін в синтезі деяких з них виникають важкі порушення обміну речовин, що є основою розвитку цілого ряду захворювань. У зв'язку з цим дослідження шляхів метаболізму амінокислот відкриває широкі перспективи у вивченні молекулярних механізмів цілого ряду захворювань і в цілеспрямованій дії на окремі процеси при патологіях, що супроводжуються порушеннями азотистого обміну.

2. Цілі вивчення теми

1. Вивчити загальні шляхи обміну амінокислот.
2. Розглянути специфічні шляхи обміну деяких амінокислот (триптофану, фенілаланіну, тирозину, гліцину, метіоніну і цистеїну).
3. Ознайомитися з деякими молекулярними патологіями обміну амінокислот.
4. Вивчити шляхи утворення та утилізації аміаку в організмі людини.
5. Освоїти методи визначення концентрації сечовини та активності амінотрансфераз у сироватці крові.

3. Лабораторні роботи

1. Визначення сечовини в сироватці крові.
2. Визначення активності амінотрансфераз у сироватці крові.

4. Перелік практичних навичок, якими повинні оволодіти студенти в процесі виконання лабораторних робіт

1. Навчитися визначати вміст сечовини в сироватці крові.
2. Оволодіти методом визначення активності амінотрансфераз.
3. Вміти інтерпретувати отримані результати досліджень у взаємозв'язку з клініко-діагностичним значенням вищевказаних лабораторних робіт.

5. Питання для теоретичної підготовки до заняття

1. Пул вільних амінокислот в організмі: шляхи утворення і використання вільних амінокислот у тканинах.
2. Трансамінування амінокислот: механізм дії амінотрансфераз, біологічне значення реакції. Клініко-діагностичне значення визначення активності амінотрансфераз у сироватці крові.
3. Пряме і непряме дезамінування L-амінокислот. Роль оксидаз і глутаматдегідрогенази в дезамінуванні амінокислот.
4. Декарбокسيلювання L-амінокислот в організмі людини. Біологічна роль біогенних амінів та їх знешкодження в організмі.
5. Шляхи перетворення безазотистих залишків амінокислот. Кетогенні та глюкогенні амінокислоти.
6. Шляхи утворення та знешкодження аміаку в організмі.
7. Орнітиновий цикл синтезу сечовини: послідовність хімічних реакцій, генетичні аномалії ферментів циклу синтезу сечовини.
8. Шляхи метаболізму природних амінокислот, їх генетичні порушення.
9. Обмін триптофану та його порушення.
10. Обмін цистеїну та метіоніну. Глутатіон: структура, біосинтез і функції в організмі.

6. Тести для визначення початкового рівня знань студентів з теми, що вивчається

1. Укажіть шлях перетворення амінокислот, завдяки якому можливе утворення заміної амінокислоти:
 - A. Трансамінування
 - B. Фосфорилування
 - C. α -Декарбокسيلювання
 - D. Окислювальне дезамінування
 - E. Гідролітичне дезамінування
2. Виберіть фермент, який бере участь в окислювальному дезамінуванні амінокислот і містить у якості небілкового компоненту кофермент ФМН:
 - A. α -Кетоглутаратдегідрогеназа
 - B. Глутаматдегідрогеназа

- C. Глутаматдекарбоксилаза
 - D. L-Аланінооксидаза
 - E. Триптофангідроксилаза
3. Укажіть фермент, активність якого визначається в плазмі крові в безжовтяничний період розвитку вірусного гепатиту:
- A. Фенілаланінгідроксилаза
 - B. Креатинфосфокіназа
 - C. Глутаматдегідрогеназа
 - D. Аланінтрансaminaза
 - E. Орнітинкарбамоїлфосфаттрансфераза
4. Виберіть компонент плазми крові, концентрація якого знижується при ураженні паренхіми печінки:
- A. Глюкоза
 - B. Сечовина
 - C. Вільні амінокислоти
 - D. Загальні фосфоліпіди
 - E. Хіломікрони
5. Укажіть правильний порядок перетворень метаболітів у орнітиновому циклі синтезу сечовини:
- A. Аргінін → орнітин → карбамоїлфосфат → сечовина
 - B. Орнітин → аргініносукцинат → аргінін → сечовина
 - C. Карбамоїлфосфат + орнітин → цитрулін + аспартат → аргініносукцинат → аргінін → сечовина + орнітин
 - D. Сечовина → аргініносукцинат → аргінін → сечовина
 - E. Орнітин → карбамоїлфосфат → аргінін → сечовина
6. Назвіть індикаторний фермент плазми крові, активність якого зростає в 10 і більше разів в перші 3-4 години після інфаркту міокарда:
- A. Аланінтрансaminaза
 - B. Аспартаттрансaminaза
 - C. Лужна фосфатаза
 - D. Аргіназа
 - E. Лейцинамінопептидаза
7. Виберіть кофактор, який є небілковим компонентом оксидаз D-амінокислот у процесі окисного дезамінування:

- A. НАДФ⁺
- B. НАД⁺
- C. ФАД
- D. ФМН
- E. ТПФ

8. У обміні триптофану утворюється два біогенних аміни. Назвіть один з них:

- A. Тіамін
- B. Серотонін
- C. Адреналін
- D. Дофамін
- E. Гістамін

9. Назвіть фермент, порушення синтезу якого призводить до зниження концентрації в нейронах головного мозку нейромедіатора гальмування - γ -аміномасляної кислоти (ГАМК):

- A. Триптофан- α -декарбоксилаза
- B. Фенілаланінгідроксилаза
- C. Гістидин- α -декарбоксилаза
- D. Аланінгідроксилаза
- E. Глутамат- α -декарбоксилаза

10. Виберіть вітамін, дефіцит якого в організмі людини супроводжується порушеннями в трансамінуванні та α -декарбоксилюванні амінокислот:

- A. Аскорбінова кислота
- B. Рибофлавін
- C. Кобаламін
- D. Фолієва кислота
- E. Піридоксин

7. Інформаційний матеріал з теми

ОБМІН АМІНОКИСЛОТ

Введення

Джерелом вільних амінокислот в організмі є екзогенні білки, що надходять з їжею; білки власних тканин, амінокислоти, які синтезуються в реакціях проміжного обміну (замінні). Депонування амінокислот в тканинах організму не відбувається.

Загальний вміст вільних амінокислот у крові коливається в межах 4-6 мг%, однак процентний вміст окремих амінокислот неоднаковий. Вміст глутамату, глутаміну, аланіну і серину в крові набагато вищий, ніж інших амінокислот. Це пояснюється особливостями використання даних амінокислот у тканинах головного мозку, м'язів, печінки, нирок. М'язи і печінка грають головну роль у підтриманні на постійному рівні вільних амінокислот, що циркулюють в крові.

Аланін є головною глікогенною амінокислотою. Більша частина глутамату і глутаміну в нирковій та м'язовій тканинах перетворюється на аланін. Швидкість синтезу глікози в печінці людини з аланіну є найвищою у порівнянні з використанням у цьому процесі інших глікогенних амінокислот.

Глутамін є головним продуктом утилізації аміаку в нервовій тканині, з іншого боку глутамін служить донором аміногрупи в синтетичних процесах інших тканин організму людини. Аланін і глутамін секретуються в кров, головним чином, м'язами. Нирки продукують у великій кількості серин. Амінокислоти з розгалуженим бічним радикалом, а також частково валін, секретуються м'язами і активно використовуються печінкою і головним мозком.

На рис.1 представлені всі можливі шляхи утворення та використання амінокислот, що визначають їх пул у крові:

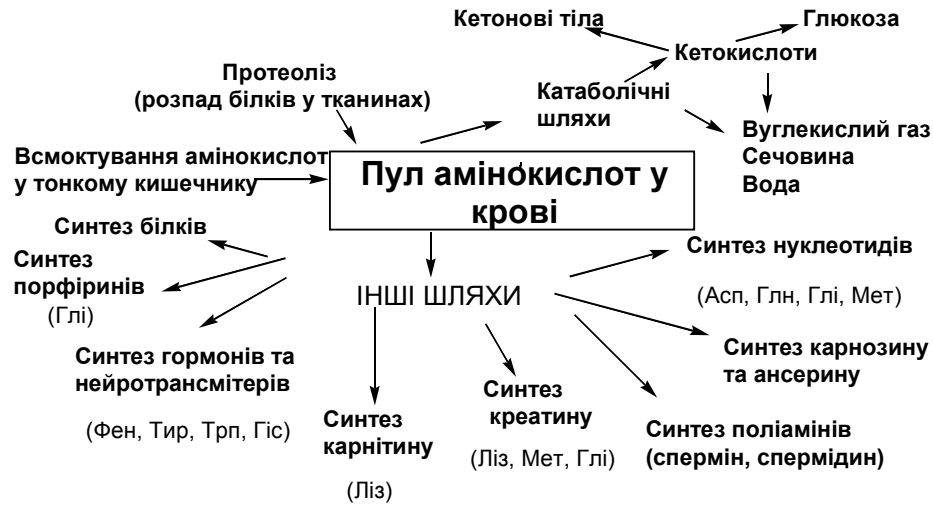


Рис. 1 Основні шляхи обміну амінокислот в організмі людини

Загальні шляхи обміну амінокислот

Незважаючи на те, що для кожної амінокислоти існують спеціальні шляхи обміну, вони можуть підлягати перетворенням, характерним для всіх амінокислот. До подібних загальних шляхів катаболізму відносяться трансамінування, трансдезамінування, пряме дезамінування і декарбоксілювання (рис. 2)

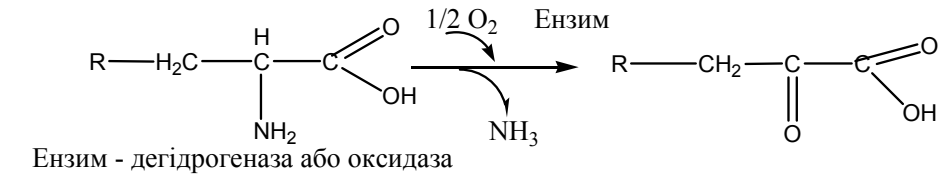


Рис. 2 Катаболічні шляхи обміну амінокислот в організмі людини

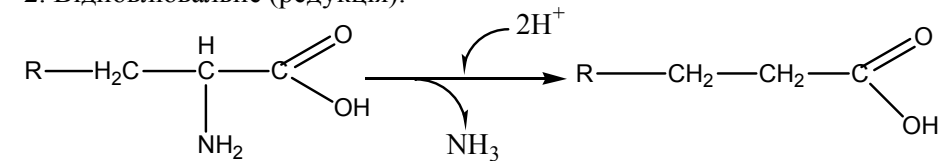
ДЕЗАМІНУВАННЯ АМІНОКИСЛОТ

Дезамінування - це процес видалення аміногрупи зі структури амінокислоти з утворенням вільного аміаку. У живих організмах існує кілька видів дезамінування:

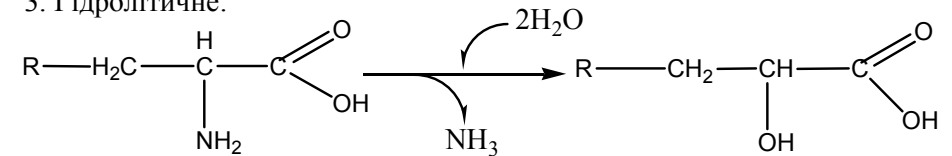
1. Окислювальне (локалізоване в мітохондріях)



2. Відновлювальне (редукція):

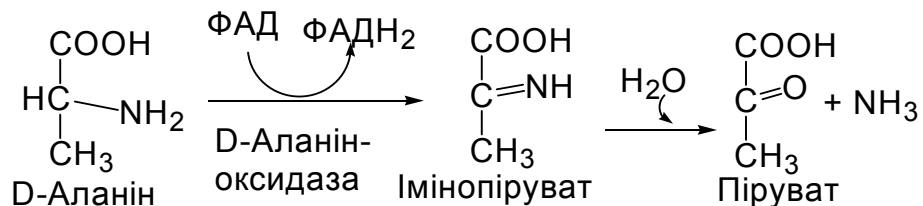


3. Гідролітичне:



Для організму людини характерним є окислювальне дезамінування. На першому етапі окислювального дезамінування за участю ферменту відбувається дегідратування амінокислоти з утворенням імінокислоти, яка дуже нестійка і в присутності води спонтанно (без участі ферменту) розкладається на альфа-кетокислоту та аміак.

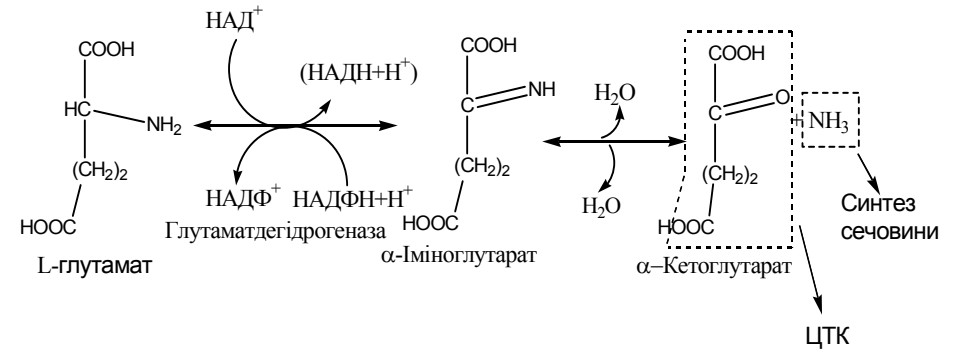
У печінці та нирках виявлено ферменти - оксидази L-і D-амінокислот, які каталізують окислювальне дезамінування. Оксидази L-амінокислот у якості простетичної групи містять ФМН, а оксидази D-амінокислот - ФАД. Схематично процес окислювального дезамінування може бути представлений в наступному вигляді:



Оксидази L-амінокислот малоактивні при фізіологічних значеннях рН, (оптимум рН їх дії дорівнює 10), а в тканинах тварин і людини середовище з такими параметрами відсутнє.

Більшу активність мають оксидази D-амінокислот. Проте білки організму людини і тварин містять L-амінокислоти. D-амінокислоти знайдено у складі клітин рослин та мікроорганізмів, тому вони регулярно надходять до організму людини з продуктами харчування. Під дією оксидаз D-амінокислот ці амінокислоти перетворюються у відповідні α-кетокислоти. Отримані таким чином α-кетокислоти можуть перетворюватися завдяки трансамінуванню у відповідні L-амінокислоти, або окислюватися з вивільненням енергії.

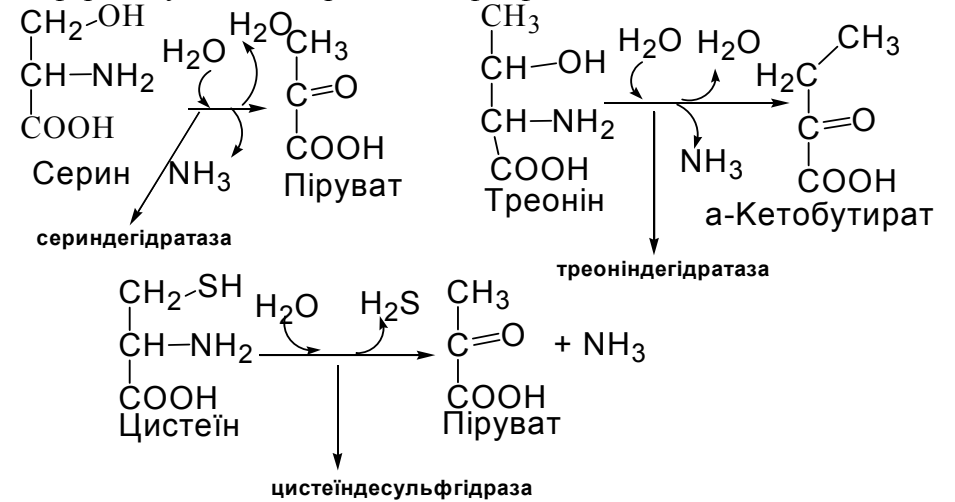
Найбільш активним ферментом окислювального дезамінування в тканинах людини є глутаматдегідрогеназа, яка проявляє особливо високу активність в головному мозку і печінці. Глутаматдегідрогеназа представлена двома ізоферментами в клітині: НАД-залежним мітохондріальним (у матриксі мітохондрій) та НАДФ-залежним цитоплазматичним. Реакція дезамінування L-глутамінової кислоти протікає в дві стадії і є оборотною:



У нервовій тканині зворотна реакція (відновне амінування α-кетоглутарата в L-глутамат) має виняткове значення, так як це основний шлях утилізації токсичного аміаку в головному мозку. Реакція проходить в цитозолі за участю цитоплазматичної НАДФ-залежною глутаматдегідрогенази.

Глутаматдегідрогеназа є алостеричним ферментом. Активність її стимулюється високими концентраціями АДФ та ГДФ, а інгібується при накопиченні в клітині АТФ, ГТФ та НАДН.

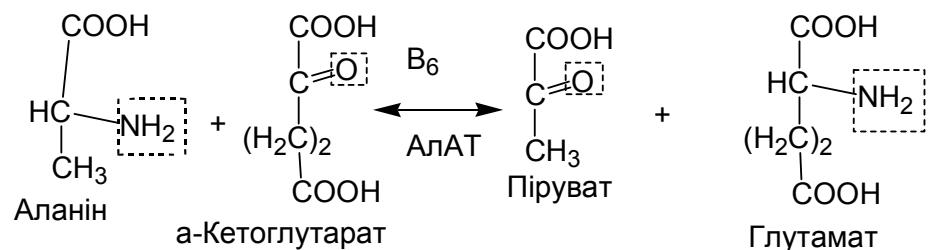
Для цистеїну, треоніну та серину можливе неокислювальне дезамінування. Ферменти, які каталізують ці реакції, у якості коферменту містять піридоксальфосфат:



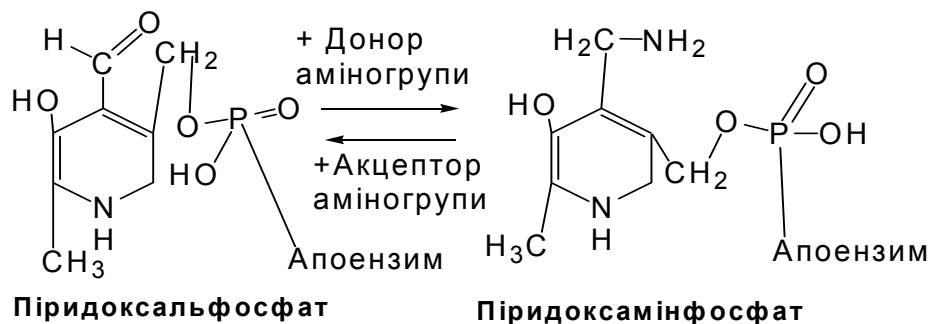
Реакції дезамінування дозволяють утворити з амінокислот кетокислоти, які включаються до загальних шляхів катаболізму, або можуть бути використані в глюконеогенезі.

ТРАНСАМІНУВАННЯ

Ця реакція був вперше вивчена радянськими біохіміками О.Є. Браунштейном і М.Г. Кріцманом. Наприклад, реакція трансамінування аланіну може бути представлена наступною схемою.



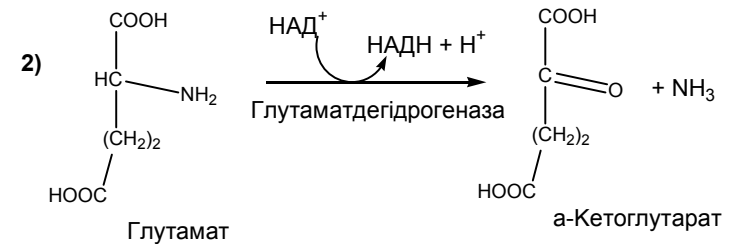
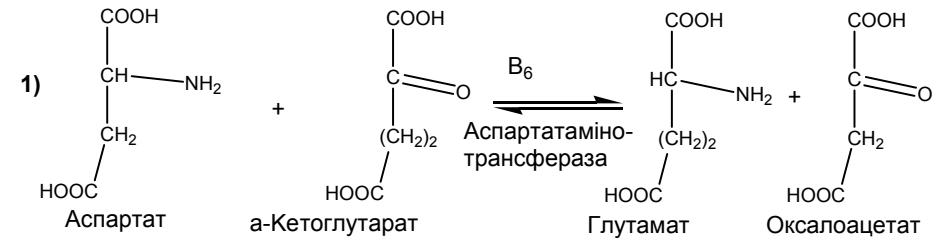
В процесі трансамінування відбувається перенесення аміногрупи амінокислоти на кетокислоту з утворенням нової амінокислоти і кетокислоти. Реакції трансамінування характерні для всіх амінокислот, за винятком лізину і треоніну. Ферменти, які каталізують даний тип реакцій, називають амінотрансферазами або трансаміназами. Вони проявляють групову специфічність. Коферментами амінотрансфераз є піридоксальфосфат (ПАЛФ) та піридоксамінфосфат (ПAMФ) - похідні вітаміну B₆. У механізмі реакції трансамінування відбувається взаємоперетворення даних коферментів через проміжні стадії утворення шиффових основ:



Реакції трансамінування відіграють важливу роль у метаболізмі амінокислот, так як вони використовуються:

- для утворення замінних амінокислот з відповідних альфа-кетокислот;
- у якості першої стадії процесу трансдезамінування (непрямого дезамінування) амінокислот, для яких неможливе пряме дезамінування; при цьому акцептором аміногрупи виступає переважно альфа-кетоглутарат.

Наприклад, нижче представлено рівняння двох стадій процесу трансдезамінування аспарагінової кислоти:



- як шлях утворення кетокислот, необхідних для глюконеогенезу, циклу Кребса;
- як шлях розпаду амінокислот з метою отримання енергії для клітини.

Визначення активностей аланін- та аспаратамінотрансфераз в сироватці крові служить важливим інструментом у діагностиці та оцінці результатів лікування інфаркту міокарда, гепатитів, у тому числі токсичних уражень печінки промисловими отрутами: хлороформом, чотиріхлористим вуглецем тощо.

При інфаркті міокарда в 95% випадків активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) у крові зростає вже через 4 години після виникнення гострого больового нападу. Активність АсАТ досягає максимуму до 24-25 години і лише на 3-7 день знижується до нормального рівня. Підвищення активності АсАТ спостерігається навіть при таких формах інфаркту міокарда, які не діагностують за електрокардіограмою.

При хворобі Боткіна виникає гіперферментемія аланінамінотрансферази (АлАТ). Висока активність АлАТ проявляється ще до появи жовтяниці і тримається на високому рівні протягом перших 10-15 днів захворювання, після чого починає поступово знижуватися.

У діагностичних цілях доцільно визначати коефіцієнт де Рітіса:

$$\text{Коефіцієнт де Рітіса} = \frac{[\text{АсАТ}]}{[\text{АлАТ}]} = 1,33 \pm 0,14$$

При захворюваннях печінки його значення менше одиниці; при інфаркті міокарда коефіцієнт зростає в три і більше разів.

На активність амінотрансфераз впливають гормони: інсулін підвищує їх активність, а кортикостероїди і глюкагон – зменшують. Норадреналін знижує активність амінотрансфераз навіть на тлі високих концентрацій вітаміну В₆ - попередника коферментів цих ферментів.

ДОЛЯ ВУГЛЕЦЕВИХ СКЕЛЕТІВ АМІНОКИСЛОТ

Після відщеплення аміногрупи безазотисті залишки усіх двадцяти амінокислот надалі можуть перетворюватися лише на п'ять продуктів: ацетил-КоА, α-кетоглутарат, сукциніл-КоА, фумарат, оксалоацетат, які потім вступають в цикл лимонної кислоти і підлягають аеробному окисненню з утворенням СО₂, Н₂О і виділенням енергії.

При цьому вуглецеві скелети 10 амінокислот, розпадаючись утворюють ацетил-КоА: п'ять з них (Ала, Глі, Сер, Тре, Цис)

розщеплюються до ацетил-КоА через піруват, а інші п'ять (Фен, Тир, Трп, Ліз, Лей) - через ацетоацетил-КоА.

П'ять амінокислот (Арг, Гіс, Про, Глн, Глу) утворюють альфа-кетоглутарат; три (Іле, Вал, Мет) - сукциніл-КоА; дві (Асп, Асн) – оксалоацетат; дві інші (Фен, Тир) – фумарат.

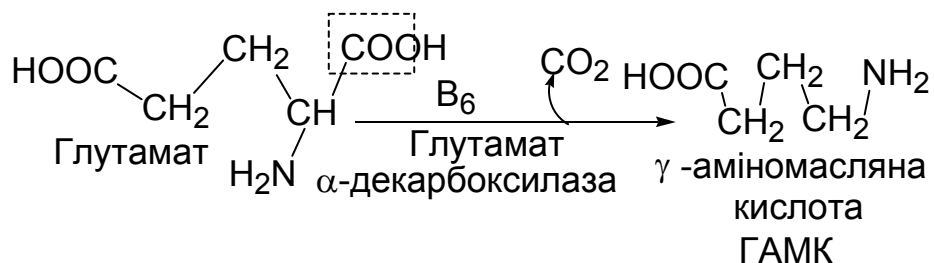
П'ять амінокислот, які розщеплюються з утворенням ацетоацетил-КоА, називають кетогенними. У печінці вони можуть бути використані в якості попередників кетонів тіл. Інші 15 амінокислот, які розпадаються з утворенням пірувату, сукциніл-КоА, оксалоацетату, альфа-кетоглутарату відносяться до глюкогенних. Однак, чіткої межі між кетогенними і глюкогенними амінокислотами не існує, оскільки тирозин, фенілаланін, лейцин, триптофан, лізин належать одночасно як до одної так і до іншої групи. Істинно кетогенною амінокислотою являється тільки лейцин.

ДЕКАРБОКСИЛЮВАННЯ АМІНОКИСЛОТ

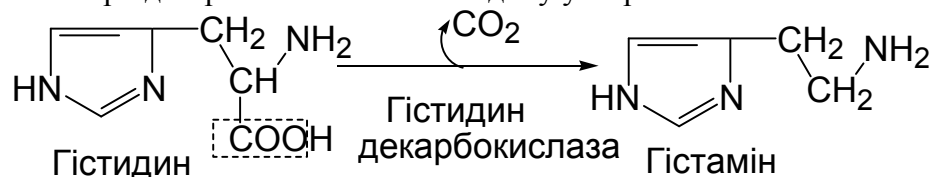
Декарбоксілювання - це реакція видалення карбоксильної групи зі структури амінокислоти у вигляді діоксиду вуглецю CO₂. α-Декарбоксілази містять кофермент піридоксальфосфат. Механізм реакції включає утворення шиффових основ при взаємодії піридоксальфосфату і амінокислоти з наступним відщепленням карбоксильної групи у вигляді CO₂ та утворенням органічного біогенного аміну. Рівновага реакції сильно зміщена вправо:



З глутамінової кислоти при α -декарбокسيلюванні утворюється γ -аміномасляна кислота (ГАМК), яка є медіатором гальмування в ЦНС:



При декарбокسيلюванні гістидину утворюється гістамін:



Гістамін має судинорозширювальний ефект на кровоносні судини, стимулює шлункову секрецію, приймає участь у розвитку запальних процесів і алергічних реакцій організму.

В обміні тирозину α -декарбокسيلювання використовується для утворення в нервовій тканині нейромедіатора дофаміну. У мозковій речовині надниркових залоз дофамін служить попередником у синтезі гормонів-катехоламінів (адреналіну, норадреналіну), а в пігментних клітинах (меланоцитах) - попередником пігменту меланіну.

Декарбокسيلювання 5-окситриптофану призводить до утворення серотоніну (5-окситриптаміну), який проявляє потужну судинозвужувальну дію, бере участь у регуляції артеріального тиску, регуляції швидкості клубочкової фільтрації, в стимуляції м'язового скорочення. В епіфізі серотонін перетворюється за рахунок ацетилювання та метилювання у мелатонін - гормон, що регулює біоритми людини. Пряме альфа-декарбокسيلювання

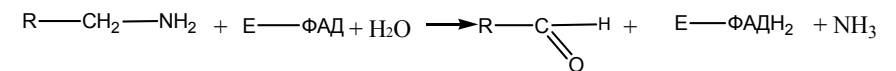
триптофану дає утворення триптаміну, який в ЦНС має функцію нейромедіатора.

Перетворення цистеїну на таурин включає реакцію декарбоксілювання. Таурин в печінці використовується у кон'югації з жовчними кислотами, а у нервовій системі виконує роль нейромедіатора.

Декарбоксілювання амінокислот при гнитті білків в товстому кишечнику під дією ферментів бактерій призводить до утворення токсичних амінів (з лізину утворюється кадаверин, з орнітину - путресцин, з валіну - ізобутиламін), які в подальшому знешкоджуються у печінці.

Детоксикація біогенних амінів пов'язана з їх окислювальним дезамінування під дією моноамінооксидаз (МАО). Процес незворотній і протікає у дві стадії:

1) Анаеробна стадія:



(E-білкова частина ферменту; ФАД - небілкова).

2) Аеробна стадія:

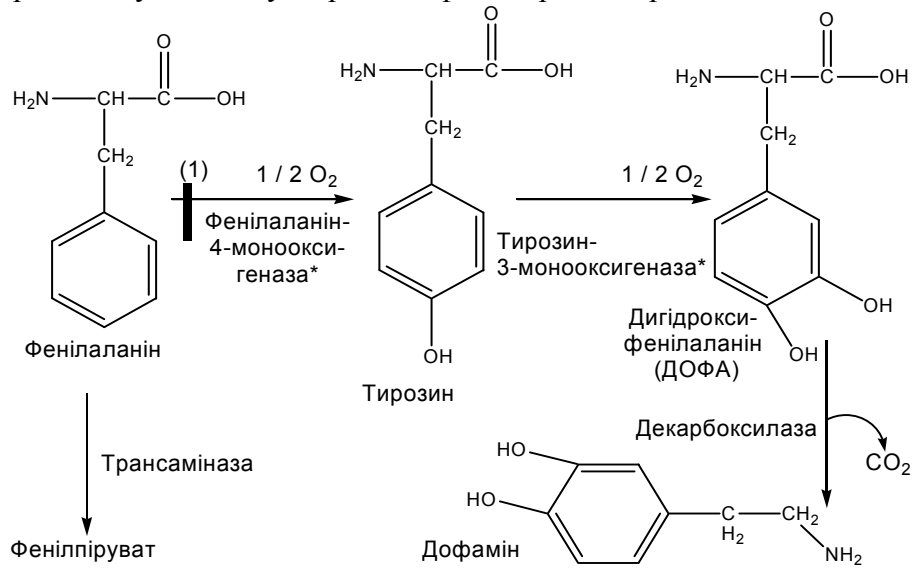


Альдегіди, що утворюються у процесі знешкодження амінів, окислюються за участю альдегіддегідрогеназ до органічних кислот, які видаляються з організму переважно з сечею, а перекис водню далі розпадається на воду і кисень.

ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ ФЕНІЛАЛАНІНУ ТА ТИРОЗИНУ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ

В тканинах здорової людини 90% фенілаланіну перетворюється на тирозин, завдяки дії ферменту фенілаланін-4-монооксигенази (друга назва - фенілаланін-гідроксилаза). При

порушенні синтезу даного ферменту весь фенілаланін підлягає трансамінуванню з утворенням фенілпірвіноградної кислоти:



* ---- Ферменти мають однакову небілкову частину - тетрагідробіоптерин.

Гідроксилювання природних амінокислот вимагає наявності в структурі ферменту спеціального коферменту - тетрагідробіоптерину. У процесі гідроксилювання цих амінокислот відбувається дегідрування коферменту з утворенням дигідробіоптерину (рис.3), регенерація якого можлива тільки за умов дії спеціальної редуктази, яка містить НАДФН:

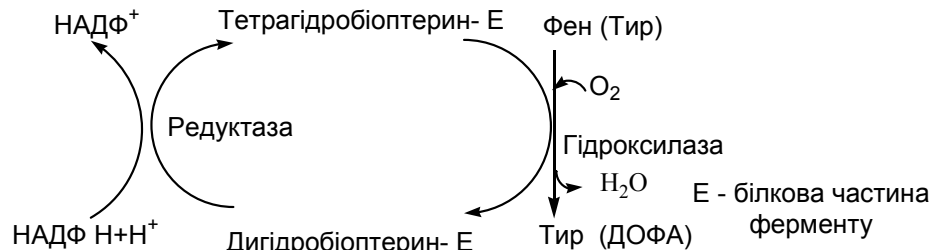


Рис. 3. Регенерація небілкової частина гідроксилази ароматичних амінокислот

Генетичні ензимопатії обміну фенілаланіну

поділяються на три групи:

- дефекти в структурі фенілаланін-4-монооксигенази (гіперфенілаланінемія I типу або класична фенілкетонурія);
- дефекти в структурі дигідробіоптеринредуктази (гіперфенілаланінемія II та III типів);
- дефекти ферментів синтезу дигідробіоптерину (гіперфенілаланінемія IV та V типів).

У разі вищевказаних порушень метаболізм фенілаланіну переключасться на утворення фенілпіровиноградної кислоти, яка або накопичується в організмі, або декарбоксілюється в фенілацетат, що виділяється з сечею у вигляді фенілацетилглутаміну. У зв'язку з гальмуванням перетворення фенілаланіну в тирозин виникає вторинне порушення в обміні тирозину. Наслідком цього є порушення синтезу адреналіну, норадреналіну, дофаміну, меланіну.

Найбільш важкими формами гіперфенілаланінемії є тип I і II. Головними клінічними симптомами гіперфенілаланінемії типу I є розумова відсталість у дитини, що супроводжується психозом; екзема; сеча має спеціальний запах (мишачий запах). Друга назва даної патології - фенілпіровиноградна олігофренія або фенілкетонурія. За характером успадкування це аутосомно-рецесивне захворювання з високою частотою сімейних випадків (1:4000). Батьки хворих дітей є гетерозиготними носіями дефектного гена фенілаланін-4-монооксигенази. При виявленні випадків народження дітей з вищезазначеною патологією в роду, майбутні мати і батько або перевіряються на наявність дефектного гена, або в пренатальному періоді розвитку дитини проводиться аналіз ДНК плоду для поставлення діагнозу.

У пологових відділеннях обов'язковим тестом є визначення вмісту фенілаланіну в крові новонароджених перші 1-6 днів життя (для визначення достатньо 20 мікролітрів крові). Якщо вміст фенілаланіну в крові перевищує 40 мг/мл - це може бути важливою ознакою наявності патології. Накопичення фенілпіровиноградної кислоти (ФПК) у тканинах відбувається не так швидко, як фенілаланіну, тому тест з хлорним залізом на вміст

ФПК в сечі може бути негативним у хворого новонародженого перші 1-3 дні. Тільки до кінця першого тижня життя сеча хворої дитини дасть при додаванні розчину хлорного заліза характерне зелено-синє забарвлення у разі появи фенілпірувату в сечі дитини. В таблиці 1 представлені дані щодо вмісту фенілаланіну та фенілпіровиноградної кислоти у крові та сечі здорових дітей і хворих на фенілкетонурію. Вчасно виявлена патологія виліковна шляхом призначення спеціальної дієти, що містить білкові гідролізати, позбавлені фенілаланіну. Лікування триває до 6-7 річного віку.

Показник, одиниці	Здоровий пацієнт		Хворий на фенілкетонурію	
	Плазма	Сеча	Плазма	Сеча
Фенілаланін, мг/100мл	1-2	30	15-63	300-1000
Фенілпіруват, мг/100мл	-	-	0,3-1,8	300-1000

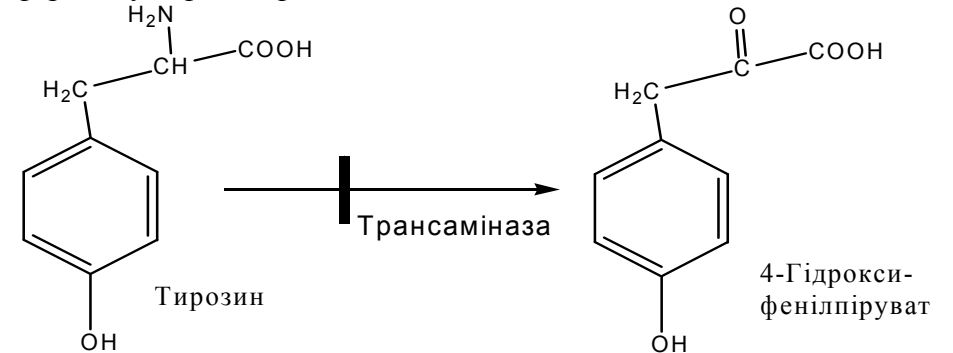
Таблиця 1. Діапазон вмісту фенілаланіну та фенілпіровиноградної кислоти в крові та сечі пацієнтів

Тирозин використовується для синтезу білків, утворення катехоламінів, тиреоїдних гормонів, меланіну та підлягає розпаду до CO_2 і H_2O . Початковим етапом метаболізму тирозину в печінці є його трансамінування з утворенням 4-гідроксифенілпірувату, який під дією специфічної мідь-вмісної оксидази підлягає окисленню.

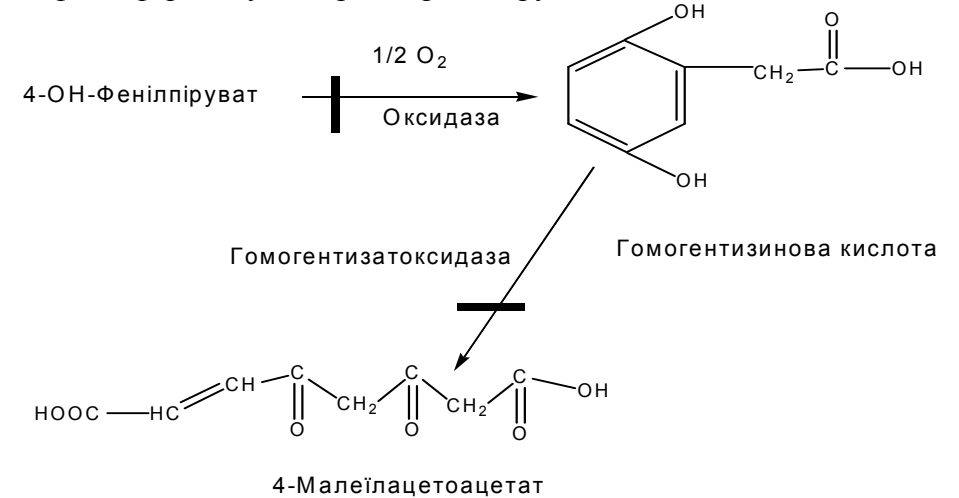
Для нормальної активності цієї оксидази необхідна аскорбінова кислота. 4-Гідроксифенілпіруват включається в ряд перетворень (гідроксилювання, декарбоксілювання та внутрішньомолекулярне переміщення бічного ланцюга) з утворенням гомогентизинової кислоти. Окислення гомогентизинової кислоти в малеїлацетооцтову кислоту каталізує фермент оксидаза гомогентизинової кислоти. Для функціонування

цього ферменту необхідні катіони заліза Fe^{2+} і кофермент відновлений глутатіон. Малєїлацетоацетат при дії ізомераз перетворюється на фумарилацетоацетат, який далі підлягає гідролізу до фумарової та ацетооцтової кислот. Продукти, що утворилися, можуть окислюватися до CO_2 та H_2O або використовуватися для синтезу глюкози і жирних кислот. Щодо вказаного шляху перетворень в медичній літературі описано ряд генетичних порушень:

1. Тирозинемія типу II спостерігається у хворих з дефіцитом ферменту тирозинтрансaminaзи:

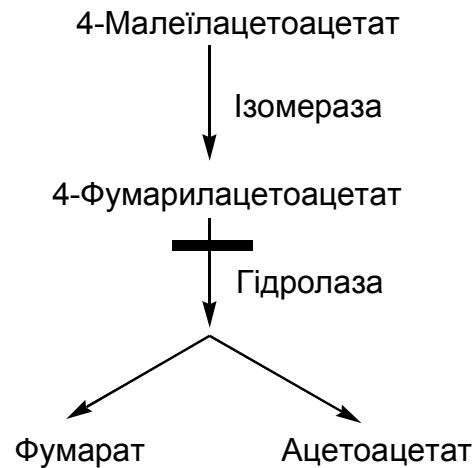


2. Неонатальна тирозинемія проявляється при генетичному дефекті ферменту 4-гідроксифенілпіруватоксидази:



Основними клінічними проявами тирозинемії у хворих є міастенія, відставання у фізичному розвитку. У крові зазвичай визначається підвищений рівень тирозину та знижена концентрація інших амінокислот. У сечу виділяється велика кількість пара-гідроксифенілмолочної, пара-оксифенілпіровиноградної та пара-гідроксифенілоцтової кислот.

3. Алкаптонурия спостерігається при дефіциті ферменту гомогентизатоксидази. У цьому випадку гомогентизинова кислота екскретується у великих кількостях із сечею дитини, під дією кисню повітря окислюється до алкаптона чорного кольору, тому сеча дитини має темне забарвлення. У разі відсутності лікування (призначається спеціальна дієта) у пацієнтів розвивається пігментація сполучних тканин. Гомогентизати накопичуються в тканинах хворого, викликаючи розвиток артрити, порушення клубочкової фільтрації.

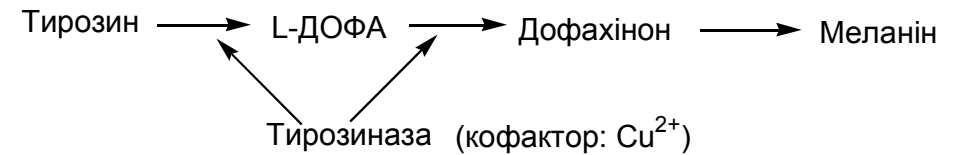


4. Тирозинемія типу 1 спостерігається у разі дефекту фермента гідролази, що бере участь у перетворенні 4-фумарилацетоацетата.

Інший шлях перетворення тирозину супроводжується утворенням катехоламінів у наднирниках. Під дією мідь-вмісною тирозинази відбувається гідроксилювання тирозину з утворенням диоксифенілаланіну (ДОФА), при декарбоксілюванні якого утворюється дофамін - попередник норадrenalіну та адреналіну.

Тирозин є також попередником меланіну. У спеціальних клітинах меланоцитах фермент тирозиназа окислює тирозин в ДОФА та ДОФА-хінони. У результаті дисмутації 2 молекул ДОФА-хінона неферментативно утворюється гала-хром. При декарбоксілюванні гала-хрому утворюється індол-5,6-хінон, який

спонтанно перетворюється на меланін. Меланіни представляють собою групу полімерів з нерегульованою структурою, яка забезпечує пігментацію шкіри, очей, волосся.



У випадку відсутності тирозинази в меланоцитах виникає захворювання альбінізм. Розрізняють повний і частковий альбінізм. При повному альбінізмі в організмі відзначається повна відсутність меланіну. Волосся на голові, брови, вії, волосся на тілі у хворих білі, шкіра біло-рожева або жовтуватого забарвлення, що обумовлене жовтуватим кольором рогового шару епідермісу. Очі рожево-червоні із-за просвічування кровоносних судин крізь очні оболонки через відсутність пігменту. У разі часткового альбінізму в шкірі деяких частин тіла пігмент меланін є.

Ще одним шляхом метаболізму тирозину є його використання в біосинтезі гормонів щитовидної залози (рис.4). Бічні радикали тирозину в складі білка тиреоглобуліну підлягають йодуванню, кон'югації та гідролітичному відщепленню у вигляді вільних трийодтироніну і тироксину. Більшість ферментів зазначених перетворень контролює тиреотропний гормон, що секретується аденогіпофізом.

ОБМІН ТРИПТОФАНУ

Триптофан, як і фенілаланін, є незамінною амінокислотою. Його розпад в організмі здійснюється двома шляхами: кінуреніновим (~ 95%) та серотоніновим (~ 1%), хоча існує ще й третій шлях, пов'язаний з утворенням триптаміну та індолілоцтової кислоти (рис. 4).

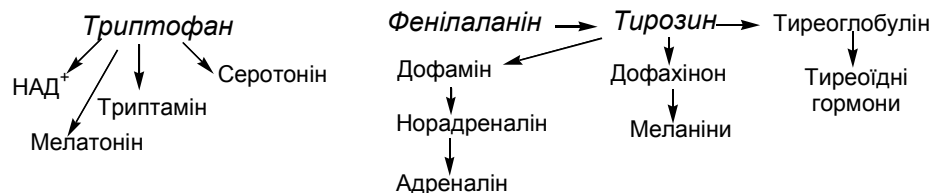


Рис. 4. Схема специфічних шляхів використання фенілаланіну, тирозину і триптофану

Серотоніновий шлях розпаду триптофану включає його гідроксильовання з утворенням 5-гідрокситриптофану, який шляхом декарбоксілювання перетворюється на серотонін. В епіфізі серотонін трансметилується з утворенням мелатоніну (рис. 5).

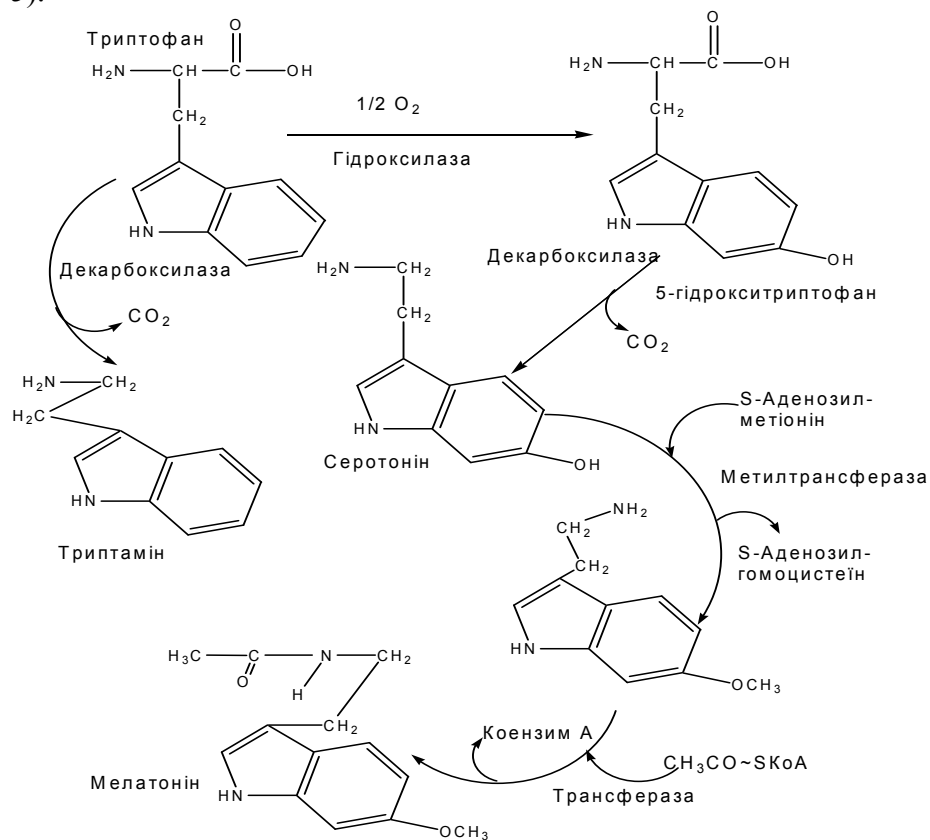


Рис. 5. Основні перетворення триптофану в нервовій тканині

Катаболізм серотоніну закінчується утворенням 5-оксііндолілоцтової кислоти, яка екскретується з організму з сечею. У хворих зі злоякісною карциномою кишечника та при хворобі Хартнупа вміст цієї речовини в сечі різко підвищений.

Кінуреніновий шлях розпаду триптофану починається з його окислення в печінці під впливом триптофан-2,3-діоксигенази до формілкінуреніну. Хвороба Хартнупа супроводжується недостатністю цього ферменту, за рахунок чого блокується розпад триптофану цим шляхом. Формілкінуренін руйнується в ланцюзі послідовних ферментативних перетворень з утворенням проміжних продуктів, які можуть бути використані для синтезу НАД⁺, зменшуючи при цьому потребу організму у вітаміні РР.

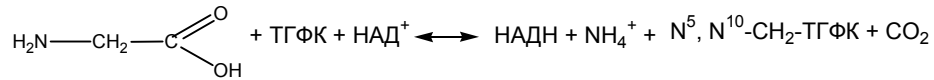
Третій шлях катаболізму триптофану призводить до утворення індолілоцтової кислоти, яка виділяється з сечею у вигляді індолілацетурової кислоти - продукту кон'югації індолілоцтової кислоти з гліцирином. Мікроорганізми товстого кишечника можуть розщеплювати індолілоцтову кислоту з утворенням скатолу, скатоксилу, індолу та індоксилу, які виявляють токсичну дію на організм. Ці продукти частково всмоктуються з кишечника в кров, знешкоджуються в печінці, продукти знешкодження (індикан та інш.) виводяться із сечею.

Обмін триптофану знаходиться в тісній залежності від забезпеченості організму вітаміном В₆. Це обумовлено тим, що багато ключових ферментів катаболізму триптофану містять активну форму цього вітаміну у якості кофактора. При недостатньому надходженні вітаміну В₆ з їжею, порушенні його всмоктування або при посиленому виведенні (стрес, гіпертонія, вагітність) порушується обмін триптофану. Відхилення у метаболізмі цієї амінокислоти виявляються вже на ранніх стадіях дефіциту вітаміну В₆.

ОБМІН ГЛІЦИНУ

Гліцин відноситься до замінних амінокислот. Він може утворюватися з треоніну під дією треонінальдолази, з серину - під дією серіноксіметилтрансферази, коферментом якої служить

тетрагідрофолієва кислота (ТГФК). Специфічним шляхом утворення гліцину є розпад холіну з утворенням проміжних метаболітів: бетаїнальдегіда, бетаїну, диметилгліцину, саркозину. Основним катаболічним шляхом метаболізму гліцину є його окисне розщеплення до CO₂, NH₃ і метиленової групи, яка приєднується до тетрагідрофолату. Реакція зворотна і каталізується гліцинсинтетазою:



Біологічне значення цього шляху полягає в утворенні активного однуглицевого фрагменту N⁵,N¹⁰-CH₂-ТГФК, який використовується в синтезі тимідилової кислоти, пуринових нуклеотидів, в обміні метіоніну тощо (рис. 6).

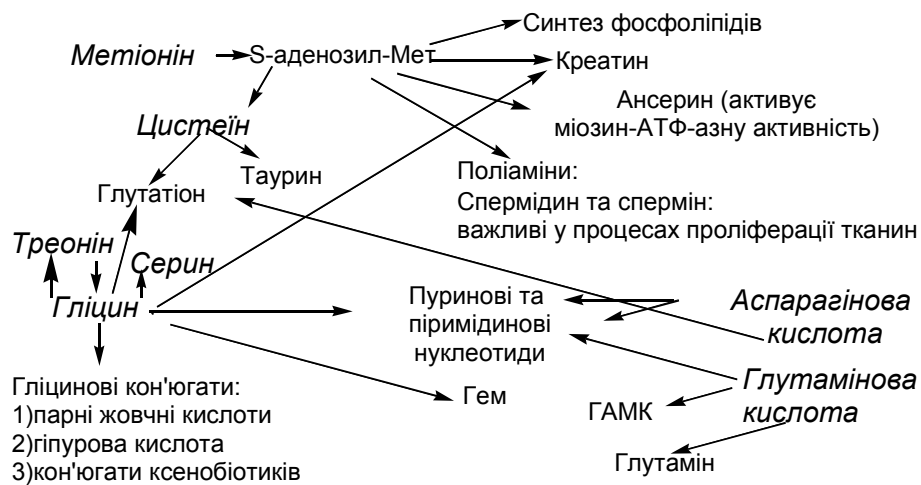


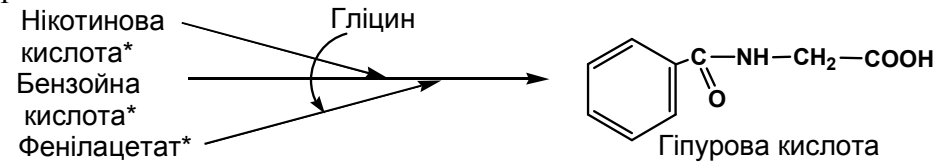
Рис. 6. Схема специфічних шляхів використання гліцину, метіоніну, цистеїну, аспарагінової та глутамінової кислот

Іншим катаболічним шляхом перетворення гліцину є його дезамінування під дією гліциноксидази з утворенням гліоксилової

кислоти. Гліоксилова кислота в тканинах декарбоксилюється з утворенням мурашиної кислоти або оксалату.

Вищеописаний шлях перетворень порушується при вродженому захворюванні - первинній оксалурії. При цьому збільшується утворення оксалату, що супроводжується відкладенням оксалату кальцію в нирках та інших тканинах.

Крім перерахованих шляхів метаболізму, в печінці гліцин бере участь в утворенні жовчних парних кислот; процесі знешкодження бензойної кислоти та інших органічних сполук до гіпурової кислоти:



(*) - Ці речовини можуть вступати в реакцію кон'югації з гліцином в активній формі

У медичній практиці для оцінки детоксикаційної функції печінки використовують пробу Квіка (визначення вмісту гіпурової кислоти в сечі пацієнта при навантаженні бензоатом натрію). Суть даного тесту: 3-4 г бензоату натрію одноразовою дозою призначається хворому для прийому *per os*. Через 3 години після прийому препарату хворий здає аналіз сечі, в якій визначають вміст гіпурової кислоти. Якщо вміст гіпурової кислоти в сечі становить 65%-85% від початкової маси бензоату натрію, призначеного *per os*, то це є свідченням нормальної знешкоджувальної функції печінки пацієнта.

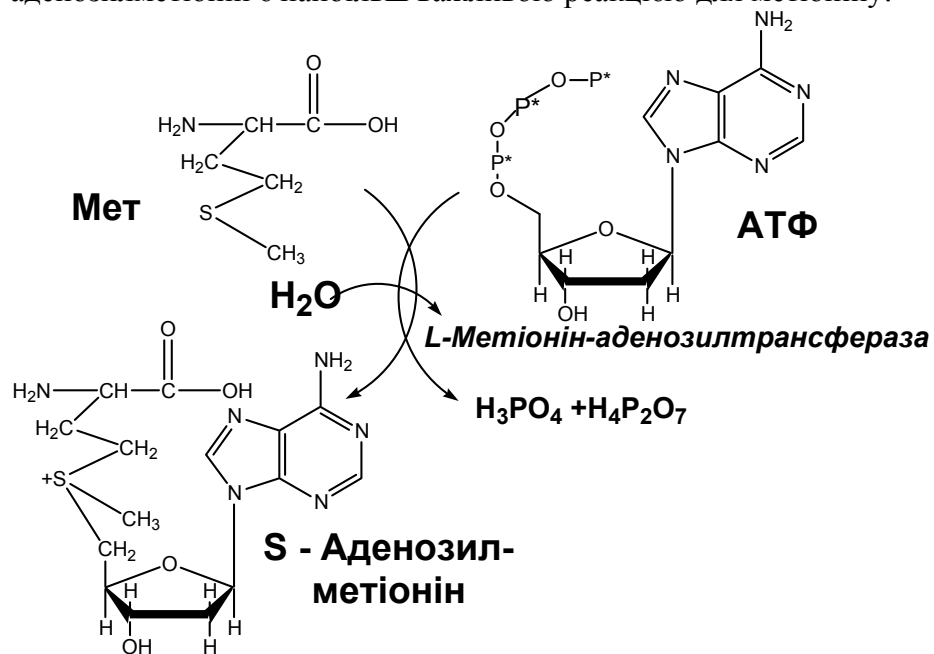
Гліцин бере участь в утворенні δ -амінолевулінової кислоти, необхідної для синтезу порфіринів (гема) і гліцинамідрибонуклеотиду. Оскільки гліцин здатний оборотно перетворюватися в серин, який у свою чергу, переходить в піруват, обмін гліцину тісно пов'язаний з обміном вуглеводів та ліпідів.

ОБМІН МЕТІОНІНУ ТА ЦИСТЕЇНУ

Метіонін є незамінною амінокислотою і його шляхи обміну (рис. 6) мають тісні взаємозв'язки з:

- обміном фосфоліпідів (синтез лецитину);
- обміном цистеїну, який утворюється з метіоніну;
- обміном креатину (переважно в м'язовій та нервовій тканинах);
- обміном катехоламінів (синтез адреналіну).

Синтез біологічних модуляторів процесів проліферації тканин сперміну та спермідину безпосередньо залежить від концентрації метіоніну, що надходить з продуктами харчування. Всі хімічні перетворення метіоніну в клітині вимагають наявності його активної форми, тому перехід вільного метіоніну в S-аденозилметіонін є найбільш важливою реакцією для метіоніну:



У реакціях трансметильовання S-аденозилметіонін виступає донором метильної групи, яка слабо, у порівнянні з іншими фрагментами структури, приєднана до атома сірки. Нижче

наведена схема перетворень (рис. 7), що пояснює використання S-аденозилметіоніну в трансметилуванні з подальшою його трансформацією в цистеїн та кетобутират; останній, у свою чергу, руйнується до пропіоніл-КоА:

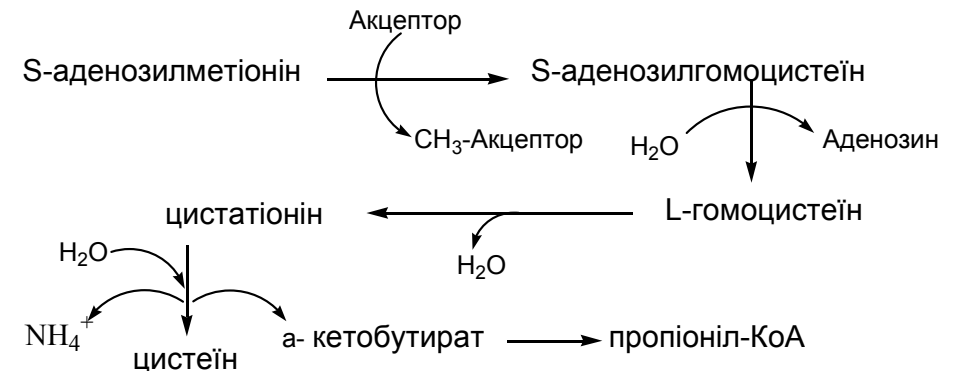


Рис. 7. Утворення цистеїну з активної форми метіоніну.

S-Аденозилметіонін, гліцин та аргінін беруть участь у синтезі органічної сполуки - креатину (за вмістом 85% синтезується в печінці, інші 15% - у нирковій тканині). Креатин транспортується через кровотік, головним чином, у м'язову тканину, проте близько 10% синтезованого креатину використовується головним мозком і нирками. Креатин розглядають як вихідний субстрат для утворення креатинфосфату в мітохондріях, який потім використовується креатинфосфокіназою цитоплазми для синтезу АТФ шляхом субстратного фосфорилування. Для м'язової тканини дане перетворення грає важливу роль у разі інтенсивного тривалого фізичного навантаження на м'язи. При цьому частина креатину в цитоплазмі перетворюється на креатинін (рис. 8) - кінцевий продукт обміну, що екскретується з сечею.

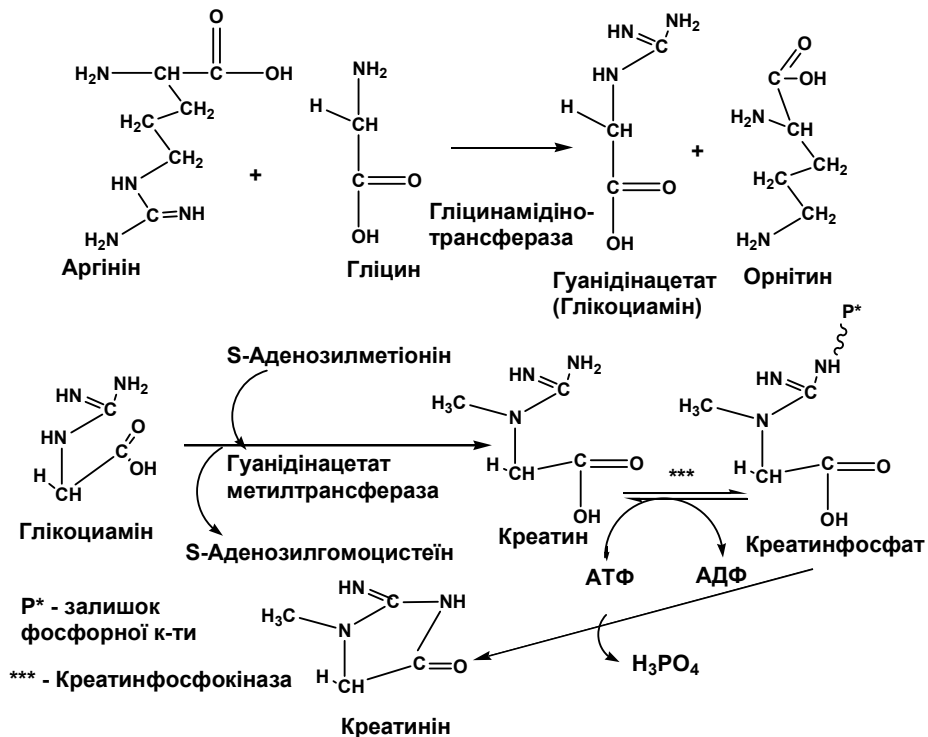
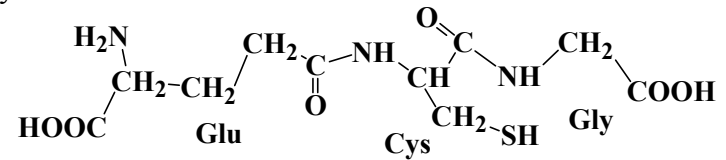


Рис. 8. Утворення креатину, креатинфосфату і креатиніну в тканинах людини.

Креатин, креатинфосфат, креатинін та активність креатинфосфокінази є діагностичними показниками, які дозволяють оцінити функцію печінки (за вмістом креатину), ниркової, м'язової тканин (за вмістом креатину та активністю креатинфосфокінази) при різних захворюваннях.

Показник сироватки крові, одиниці	Чоловіки	Жінки
Креатин, мкмоль/л	15,25-45,75	45,75-76,25
Креатинін, мкмоль/л	80-115	53-97
Креатинфосфокіназа (загальна активність, мккат/л)	0,26-1,79	0,17-1,36

Цистеїн, гліцин та глютамінова кислота беруть участь у синтезі глутатіону.



Даний трипептид, завдяки наявності вільних сульфгідрильних груп цистеїну, може бути представлений у відновленій (2G-SH) і окисненій (GS-SG) формах у структурі ферментів, або у вільному стані.

G-SH є біологічно активною сполукою, що бере участь в окислювально-відновних процесах:

- він служить у якості сульфгідрильного буфера, що підтримує окислювально-відновні системи клітини, створюючи баланс для їх існування;
- він бере участь у якості коферменту у функції спеціальної транспортної системи, локалізованої в цитоплазматичній мембрані, для дикарбонових і ароматичних амінокислот (γ -глутамілтрансферази);
- він служить коферментом антиоксидантної ферментної системи, необхідної для знешкодження пероксиду водню і органічних пероксидів типу R1-O-O-R2 (глутатіонпероксидаза);
- як кофермент глутатіонтрансферази печінки, він бере участь у знешкодженні метилмеркаптанів.

ШЛЯХИ УТВОРЕННЯ АМІАКУ В ОРГАНІЗМІ

Основними шляхами утворення аміаку в організмі є:

- 1) дезамінування амінокислот;
- 2) дезамінування біогенних амінів;
- 3) дезамінування пуринових і піримідинових основ;
- 4) дезамінування амідів амінокислот (аспарагіну і глютаміну).

Аміак токсичний для організму. Особливо чутлива до нього центральна нервова система. При надлишковому накопиченні

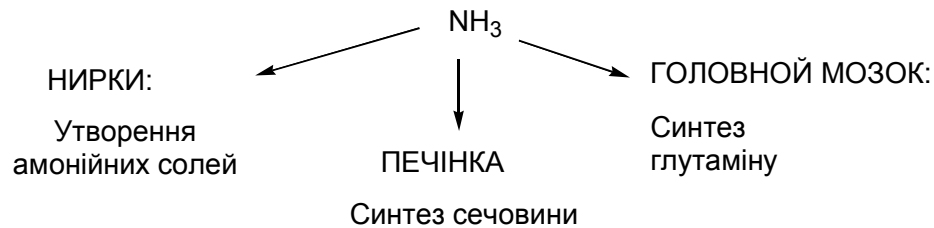
аміаку в організмі можуть виникати важкі функціональні розлади з боку ЦНС: збудження, пригнічення дихання, поява судом. Вміст аміаку в крові людини не має перевищувати більше ніж 60 мкмоль/л. Концентрація аміаку близько 3 ммоль/л є летальною для тварин (досліди на кроликах).

У процесі еволюції виникли спеціальні механізми знешкодження аміаку. У більшості тварин аміак спочатку перетворюється в нетоксичну сполуку і в такому вигляді переноситься кров'ю від периферичних тканин до печінки або нирок.

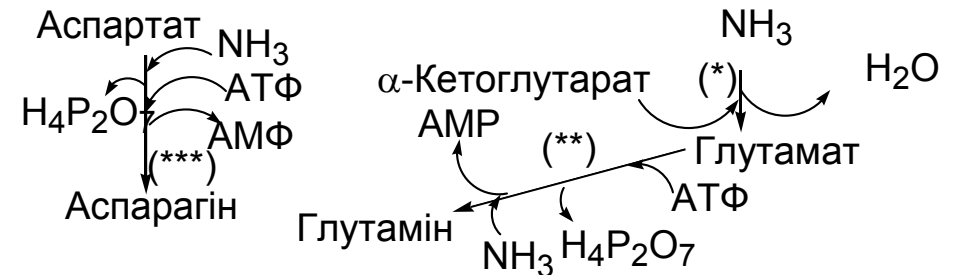
Основні шляхи знешкодження аміаку:

- утворення амідів амінокислот (аспарагіну і глутаміну);
- відновне амінування α -кетоглутарату;
- біосинтез сечовини;
- утворення амонійних солей.

Шляхи утилізації аміаку асоційовані з типом тканини:



В багатьох тканинах, включаючи мозок, сітківку, печінку, нирки та м'язи, аміак вступає в реакцію з глутаміновою або аспарагіновою кислотою при дії відповідних синтетаз. Частина аміаку, що вивільняється, зв'язується з α -кетоглутаровою кислотою у процесі відновного амінування, завдяки оборотності глутаматдегідрогеназної реакції:

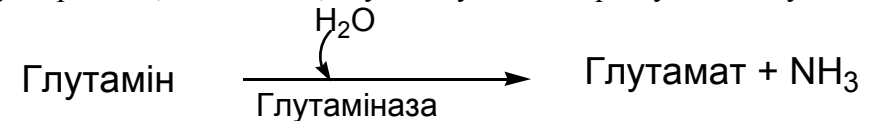


* -- Глутаматдегідрогеназа (НАДН / НАДФН)

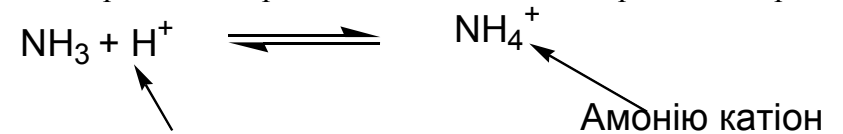
** -- Глутамінсинтетаза

***-- Аспарагінсинтетаза

Аміди, що утворюються, (глутамін, аспарагін) представляють собою транспортну форму аміаку в організмі. Кровотоком вони можуть бути доставлені в печінку, або в ниркову тканину, де відбувається їх гідроліз під дією глутамінази, або аспарагінази з утворенням, відповідно, глутамату або аспартату та аміаку:



У печінці аміак утилізується в орнітиновому циклі з утворенням сечовини. У нирках аміак, що утворився, нейтралізує кислі метаболіти крові з утворенням амонійних солей - це один із шляхів підтримання нирками кислотно-основної рівноваги крові:



Кислоти-донори протонів у крові

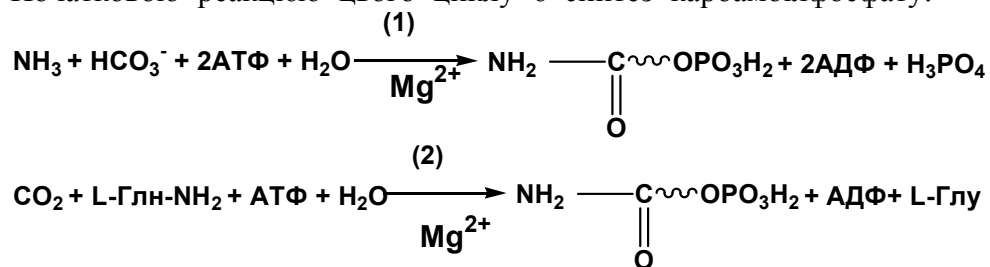
Амонію катіон

Особливу роль в перенесенні аміаку з м'язів грає аланін, що бере участь в глюкозо-аланіновому циклі. У першій реакції цього циклу аміак, що утворюється в м'язах, включається в структуру α -кетоглутарату під дією глутаматдегідрогенази (див. вище, *), і утворюється глутамат. Глутамат є донором аміногрупи для

пірувату - продукту гліколізу; реакцію перенесення аміногрупи на піруват каталізує аланінамінотрансфераза. Аланін виходить з м'язових клітин у кров і досягає печінки. У гепатоцитах аланінамінотрансфераза каталізує трансамінування аланіну з утворенням знову глутамату і пірувату. Глутамат під дією глутаматдегідрогенази печінки знову може перетворюватися на α -кетоглутарат та аміак, який знешкоджується в орнітиновому циклі шляхом синтезу сечовини.

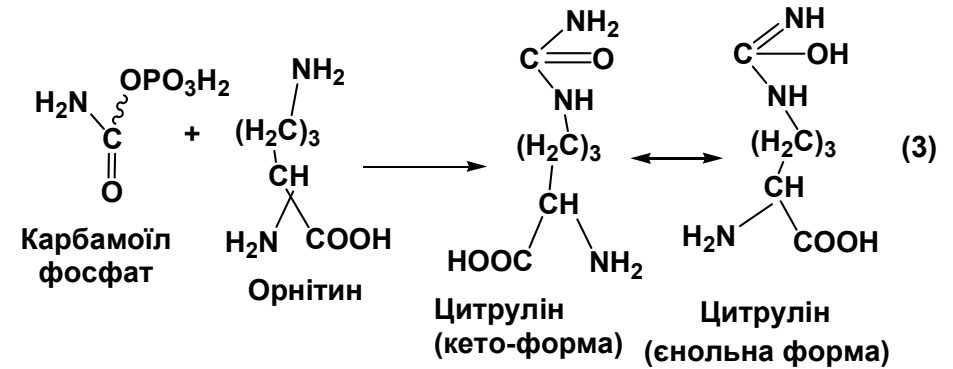
ОРНІТИНОВИЙ ЦИКЛ СИНТЕЗУ СЕЧОВИНИ

У 1932 році Г. Кребс і К. Хензелайт вивчили реакції синтезу сечовини, які отримали назву цикл сечовиноутворення Кребса. Початковою реакцією цього циклу є синтез карбамоїлфосфату:

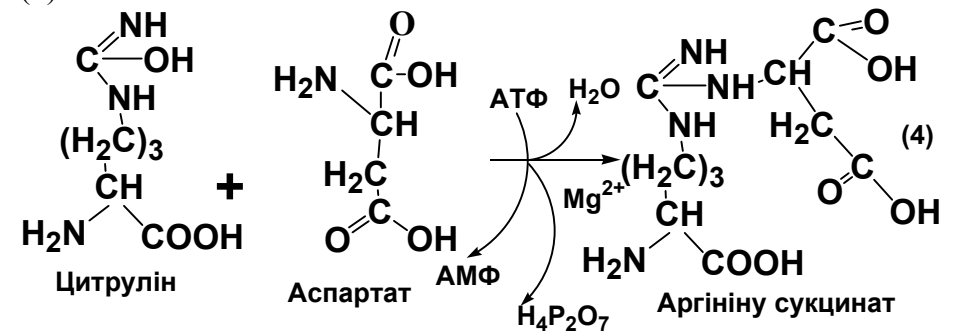


Карбамоїлфосфатсинтетаза (1), локалізована в матриксі мітохондрій, є алостеричним ферментом синтезу сечовини: його активність підвищується тільки в присутності N-ацетилглутамату. Цитозольна ізоформа даного ферменту (2) не регулюється даною речовиною. Карбамоїлфосфат є макроергічною сполукою.

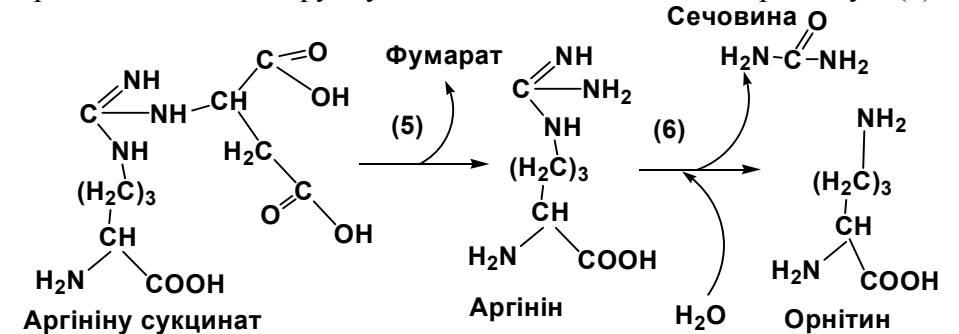
Орнітинкарбамоїлфосфаттрансфераза здійснює перенесення і включення фрагменту карбамоїлу до структури орнітину, в результаті чого утворюється цитрулін (3).



У цитруліні (до його взаємодії з аспарагіною кислотою) відбувається внутрішньомолекулярна ізомеризація, і тільки потім утворюється аргініносукцинат під дією аргініносукцинатсинтетази (4).



Аргініносукцинат в наступній реакції, що каталізується ліазою, руйнується до фумарату і аргініну (5), який під дією аргінази печінки руйнується до сечовини і орнітину (6):



Фумарат використовується в циклі трикарбонових кислот для регенерації оксалоацетату, який шляхом трансамінування з глутаматом знову перетворюється на аспартат. Таким чином, реакції перетворення фумарової кислоти являють собою ланку, що зв'язує цикл сечовини з циклом лимонної кислоти. Реакції (1) і (3) локалізовані в матриксі мітохондрій. Транспорт іонів бікарбонату і амонію, орнітину і цитруліну через мембрани мітохондрій здійснюють спеціальні білки-переносники.

Синтез сечовини є необоротним циклічним процесом у якому постійно відбувається регенерація орнітину з енергетичними витратами:

3 моля АТФ у розрахунку на 1 моль сечовини, що утворюється.

Основним постачальником АТФ є процес окисного фосфорилування, локалізований у мітохондріях печінки.

Регуляція орнітинового циклу сечовиноутворення.

При безбілковій дієті екскреція сечовини із сечею становить лише 60% азотистих сполук, представлених в хімічному складі сечі (80% при збалансованій дієті), активність ферментів орнітинового циклу при цьому знижена.

При дієті, яка містить високий рівень білків (більше 100 г на добу) і при голодуванні, активність ферментів орнітинового циклу підвищена.

Сечовина надходить з гепатоцитів в кровоносне русло і виділяється з організму з сечею. Синтетичні шляхи організму людини не використовують сечовину в якості вихідного субстрату. Однак, помилково вважати сечовину інертним кінцевим продуктом азотистого обміну. Вона має певну біологічну активність, виступаючи в ролі важливого водорозчинного антиоксиданту. Проявляючи антиоксидантні властивості, сечовина попереджає ушкодження мембранних ліпідів активними радикалами: похідними кисню (супероксид-аніон, синглетний кисень, гідроперекисний радикал) і органічними радикалами типу RO-O•.

Генетичні дефекти ферментів орнітинового циклу

- Гіперамоніємія типу I виникає при порушенні синтезу карбамоїлфосфатсинтетази
- Гіперамоніємія типу II розвивається при порушенні синтезу орнітинкарбамоїлфосфаттрансферази
- Цитрулінемія і цитрулінурія виникають при недостатності в печінці аргініносукцинатсинтетази
- Аргініносукцинатна ацидемія спостерігається у хворих при дефіциті аргініносукцинатліази
- Гіпераргінінемія і аміноацидурія з високим вмістом аргініну в сечі виникає при порушенні синтезу аргінази печінки.

Найбільш важкими захворюваннями є перші два генетичних порушення. Дані патології діагностують у новонароджених в перший тиждень після народження. У новонародженого з дефіцитом карбамоїлфосфатсинтетази спостерігаються: епізодична енцефалопатія, конвульсії, атаксія. Крім цього, у дитини спостерігається блювота після годування, можливе виникнення летаргії. При безбілкової дієті дитини смертельний кінець неминучий у перший тиждень життя. За відсутності терапевтичної корекції стану у хворої дитини розвивається розумова відсталість, так як до першого року життя у неї відбувається серйозне ураження тканин головного мозку. Даний патологічний стан супроводжується зниженням спорідненості ферментів до тіамінпірофосфату, тому, разом з іншими медикаментами, хворій дитині призначають терапевтичні дози тіаміну.

Використання показників: сечовина плазми крові і залишковий азот крові в діагностиці захворювань

Вміст сечовини в плазмі крові здорових дорослих людей коливається в межах 3,3 - 6,6 ммоль/л. Даний показник плазми крові є найбільш важливим для оцінки стану азотистого обміну тканин організму людини. Здебільшого він визначається в клініці паралельно з іншим показником азотистого обміну - залишковим азотом крові.

Залишковий азот крові - це загальний вміст азоту всіх азотовмісних сполук крові (сечовини, вільних амінокислот, креатину, креатиніну, сечової кислоти, біогенних амінів, кон'югованого білірубіну, гіпурової кислоти, індикану, нуклеозидів тощо), за винятком азоту білків.

Залишковий азот крові у здорових дорослих людей дорівнює 25-35 мг% або 15-25 ммоль/л.

Відношення азоту сечовини до залишкового азоту плазми крові не перевищує 48% у здорових дорослих людей. Якщо це відношення у пацієнта більше вищевказаної величини, то констатують стан «азотемія».

Розрізняють ретенційну і продукційну азотемії.

- **Ретенційна азотемія** спостерігається при нирковій недостатності, обумовлена збільшенням рівня сечовини в крові за рахунок порушення фільтрації сечовини в ниркових канальцях. Вміст сечовини в плазмі крові може досягати значень 50-83 ммоль/л.

- **Продукційна азотемія** спостерігається у пацієнтів з активною деградацією тканинних білків, що має місце при дифузних запальних процесах в тканинах, великих опіках, при кахексії.

Зниження вмісту сечовини в крові спостерігається у пацієнтів із захворюваннями печінки: хронічних гепатитах, цирозі печінки.

При нормальній функції нирок сечовина практично повністю екскретується з організму і становить 333-583 ммоль/добу в сечі здорових людей.

АМІНОАЦИДУРІЇ: ТИПИ, ПРИЧИНИ ВИНИКНЕННЯ І ДІАГНОСТИКА

Аміноацидурія - патологічний стан, що супроводжується збільшенням екскреції однієї або декількох амінокислот нирками. У здорових людей амінокислоти практично повністю реабсорбуються в ниркових канальцях і не виділяються з сечею. Здебільшого виникнення аміноацидурії обумовлено порушенням синтезу або регуляції функції транспортних систем для

амінокислот. Назва аміноацидурия асоційована, головним чином, з назвою амінокислот, які у великій концентрації з'являються в сечі. Розглянемо деякі з них:

- **Цистинурия.** Порушена абсорбція основних амінокислот і цистину (димеру цистеїну) у тонкому кишечнику і ниркових канальцях, сумарний ефект цих порушень - акумуляція вищевказаних амінокислот в сечі. Цистин є речовиною погано розчинною у водній фазі, тому його накопичення призводить до формування кристалів цистину, утворення каменів у нирках, що супроводжується розвитком сечокам'яної хвороби. При лікуванні цистинурії хворому призначають прийом великих об'ємів рідини і пеніциламіну.

- **Гліцинурия.** Порушена абсорбція проліну, гідроксипроліну і гліцину в ниркових канальцях. Серйозних порушень в обміні речовин хворого не спостерігається, за винятком високої екскреції вищевказаних амінокислот з сечею.

- **Цистиноз.** Це рідкісне спадкове захворювання, що супроводжується порушенням синтезу транспортної системи для цистину в ниркових канальцях. Кристали цистину при його акумуляції в крові накопичуються в тканинах і органах, в ретикуло-ендотеліальній системі, розвивається ниркова недостатність. Хворі з вказаною патологією помирають в ранній молодості.

- **Гістидинемія і гістидинурия.** Це спадкове захворювання, що рідко зустрічається. У його основі лежить порушення синтезу ферменту гістидази, що каталізує реакцію руйнування гістидину до уроканінової кислоти. Обмін гістидину при цьому йде шляхом утворення імідазолпіровиноградної кислоти. Ведучим клінічним симптомом гістидинемії у дітей є відставання у психічному та фізичному розвитку. При обстеженні у хворих виявляється підвищений рівень гістидину в крові, сечі та спинномозковій рідині. У сечі виявляються такі продукти обміну гістидину, як імідазолпіровиноградна, імідазолмолочна кислоти та ацетилгістидин.

- **Тирозиноз** - рідкісне спадкове захворювання. При цьому відбувається порушення одного з шляхів обміну тирозину, яке

пов'язане з порушенням перетворення пара-гідроксифенілпіровиноградної кислоти в гомогентизинову. Розвивається тирозинемія і тирозинурія.

8. Тести для визначення заключного рівня знань студентів з теми заняття

1. Трансдезамінування вважають найбільш активним катаболічним шляхом перетворення амінокислот в організмі людини. Це пояснюється тим, що:
 - A. Більшість амінокислот включаються тільки в трансамінування
 - B. Більшість амінокислот включається у гідролітичне дезамінування
 - C. Більшість амінокислот не здатні включатися в пряме дезамінування
 - D. Тільки три амінокислоти здатні до декарбоксілювання
 - E. Пряме дезамінування можливе тільки для аланіну
2. При недостатності вітаміну В₆ у хворого виникають епілептиформні судоми. Знайдіть причину вказаного явища:
 - A. Знижується активність трансаміназ
 - B. Знижується активність глутаматдекарбоксілази
 - C. Збільшується утворення сечовини в печінці
 - D. Виникає гіперглікемія
 - E. Порушується синтез гема гемоглобіну
3. Стан азотемії діагностують за одним з небілкових азотистих компонентів плазми крові. Назвіть його:
 - A. Білірубін прямий
 - B. Білірубін непрямий
 - C. Сечова кислота
 - D. Креатин
 - E. Сечовина
4. У хворого визначено концентрацію сечовини в плазмі крові (результат значно перевищує норму) і в сечі (результат нижче норми). Вкажіть можливу причину цих змін у пацієнта:
 - A. Гостра ниркова недостатність
 - B. Уражена паренхіма печінки
 - C. Обтурація жовчних проток

- D. Посилений гемоліз еритроцитів
E. Пацієнт хворий на подагру
5. Досліджуваний фермент відноситься до класу оксидоредуктаз, містить кофермент НАД⁺, бере участь в окислювальному дезамінуванні однієї з замінних амінокислот і у відновному амінуванні α -кетоглутарату. Знайдіть назву даного фермента:
- A. D-оксидаза аланіну
 - B. Аланінтрансаміназа
 - C. Глутаматдегідрогеназа
 - D. Аспартаттрансаміназа
 - E. Аргіназа
6. У нейронах головного мозку аміак не утилізується шляхом утворення сечовини. Назвіть кінцевий продукт утилізації NH₃ в головному мозку:
- A. Глутамінова кислота
 - B. Аспарагінова кислота
 - C. Карбамоїлфосфат
 - D. Глутамін
 - E. Аланін
7. При спадковому порушенні синтезу одного з ферментів у дитини визначається у великих кількостях фенілпіруват в сечі. Назвіть даний фермент:
- A. Фенілаланінгідроксилаза
 - B. Тирозингідроксилаза
 - C. 5-Триптофангідроксилаза
 - D. Гліцинамідаза
 - E. Пролінгідроксилаза
8. У сечі дитини виявлена велика концентрація гомогентизинової кислоти, окислення якої киснем повітря змінює забарвлення сечі до чорно-бурого кольору. Виберіть діагноз хворого:
- A. Хвороба Хартнупа
 - B. Фенілкетонурія
 - C. Тирозиноз
 - D. Базедова хвороба
 - E. Алкаптонурия

9. Одним з важливих показників проміжного обміну амінокислот є залишковий азот плазми крові. Знайдіть визначення цього показника:

- A. Сумарний азот вільних амінокислот
- B. Сумарний азот біогенних амінів у плазмі крові
- C. Сумарний азот усіх небілкових азотовмісних сполук крові
- D. Різниця між білковим азотом та азотом вільних амінокислот
- E. Сумарний азот загальних фосфоліпідів крові

10. Накопичення біогенних амінів у тканинах відбувається при порушенні функції ферменту, який здатний дезамінувати їх структуру. Назвіть цей фермент:

- A. Дегідрогеназа амінокислот
- B. Оксидаза L-амінокислот
- C. Трансаміназа аланіну
- D. Моноамінооксидаза
- E. α -Декарбоксилаза

9. ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ

1. *Визначення вмісту сечовини в сироватці крові*

Принцип методу:

Сечовина з діацетилмонооксимом у присутності іонів Fe^{3+} і тіосемікарбазиду утворює комплекс червоного кольору, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації сечовини в пробі.

Хід роботи:

У пробірку відмірюють по 1мл розчинів діацетилмонооксиму та концентрованої сірчаної кислоти. До отриманої суміші додають 0,01 мл сироватки крові. Пробу перемішують, пробірку закривають алюмінієвою фольгою і поміщають в киплячу водяну баню на 10 хвилин. Аналогічним чином одночасно обробляють еталон і контрольну пробу. Після кип'ятіння вміст пробірок швидко охолоджують у струмені холодної води і на фотоколориметрі визначають оптичну щільність проби (А) і етанолу (Б) проти контрольного розчину. Вимірювання проводять протягом 15 хв після охолодження проб.

Приготування проб	Проба	Еталон	Контроль
Сироватка (мл)	0,01	-	-
Еталон сечовини (мл)	-	0,01	-
Дистильована вода (мл)	-	-	0,01
Суміш реактивів (сірчана кислота + діацетилмонооксим) (мл)	2,0	2,0	2,0

Розрахунок за формулою: $X = 8,32 \times (A/B)$ ммоль/л

У сироватці крові здорової людини міститься 3,33 - 6,72 ммоль/л сечовини

2. Визначення активності аланінамінотрансферази (АЛАТ) у плазмі крові

Принцип методу:

У результаті трансамінування аланіну та α -кетоглутарату, яке відбувається під дією АЛАТ, утворюються глутамінова і піровиноградна кислоти. При додаванні 2,4-дінитрофенілгідразину в лужному середовищі утворюється забарвлений розчин гідразону піровиноградної кислоти, інтенсивність забарвлення якого пропорційна активності ферменту. Оптичну щільність розчину визначають фотокolorиметричним методом.

Хід роботи:

Готують реакційні суміші відповідно до схеми:

Відміряти в пробірку, мл	Досліджувана проба	Контрольна проба
Субстратно-буферний розчин	0,5	0,5
Інкубація 3 хвилини при 37 ⁰ С		
Стоп реагент	-	0,5
Плазма крові	0,1	0,1
Інкубація 30 хвилин при 37 ⁰ С		
Стоп реагент	0,5	-
Інкубація 20 хвилин при кімнатній температурі		
0,4 N NaOH	5	5
Інкубація 10 хвилин при кімнатній температурі		

Вимірюють оптичну щільність досліджуваної проби проти контрольної при 490 - 540 нм (світло-зелений світлофільтр) у кюветах з товщиною шару 10 мм. Активність ферменту визначають за калібрувальним графіком.

У плазмі крові здорових людей активність АлАТ становить 5-30 ОД/мл (0,1 – 0,7 мкмоль/мл за годину).

3. Визначення активності аспаратамінотрансферази (АсАТ)

Принцип методу:

Продукт АсАТ реакції - оксалоацетат включається в реакцію декарбоксілювання з утворенням пірувату, який надалі дає з 2,4-дінитрофенілгідразином в лужному середовищі гідразон коричневого кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості піровиноградної кислоти, що вивільнилася в ході реакції та відповідно активності ферменту, що визначається.

Хід роботи:

У дві пробірки наливають по 0,5 мл субстратно-буферного розчину для визначення АсАТ. У дослідну пробірку додають 0,1 мл сироватки крові та інкубують обидві пробірки у сухоповітряному термостаті при 37°C протягом 30 хвилин. Вносять у контрольну пробірку 0,1 мл сироватки крові. В обидві пробірки додають по 0,5 мл 2,4-дінитрофенілгідразину і залишають на 20 хвилин при кімнатній температурі. Потім в обидві пробірки додають по 5мл 0,4 М розчину NaOH. Перемішують і залишають на 10 хвилин для розвитку забарвлення. Оптичну щільність дослідної проби вимірюють на фотоколориметрі в кюветах з товщиною шару 10 мм, проти контролю при світло-зеленому світлофільтрі.

Розрахунок активності проводять за формулою:

$$X = E \times 133 \text{ (ОД/мл)}, \text{ де}$$

X - активність ферменту;

E - екстинкція;

133 - коефіцієнт перерахунку (1 мкг піровиноградної кислоти (ПВК)= 0,0015 ОД ферменту - звідси 1 ОД = 133 мкг ПВК).

У сироватці крові здорових людей активність АсАТ становить 5-40 ОД/мл (0,1 – 0,5 мкмоль/мл за годину).

10. Перелік обладнання, що використовується при виконанні лабораторних робіт

1. Фотоелектроколориметр
2. Термостат
3. Секундомір
4. Водяний ogrівник
5. Дозатори з фіксованим об'ємом 0,1 мл; 0,01 мл (2 шт.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

для самостоятельной аудиторной и
внеаудиторной подготовки
иностранных студентов медицинского
факультета к практическим занятиям
по теме:

Обмен аминокислот в норме и при патологии

По специальности: 7.110 101 «Лечебное дело»

1. Значение темы

В обмене 20 аминокислот, входящих в состав белковых молекул организма человека, участвуют несколько сотен промежуточных продуктов, тесно связанных с метаболитами углеводного, липидного и белкового обменов. Число ферментов, катализирующих реакции азотистого обмена, также исчисляются сотнями. При изменении синтеза некоторых из них возникают тяжелые нарушения обмена веществ, являющиеся основой развития целого ряда заболеваний. В этой связи исследование путей метаболизма аминокислот открывает широкие перспективы в изучении молекулярных механизмов целого ряда заболеваний и в целенаправленном воздействии на отдельные процессы при патологиях, сопровождающихся нарушениями азотистого обмена.

2. Цели изучения темы

1. Изучить общие пути обмена аминокислот.
2. Рассмотреть специфические пути обмена некоторых аминокислот (триптофана, фенилаланина, тирозина, глицина, метионина и цистеина).
3. Ознакомиться с некоторыми молекулярными патологиями обмена аминокислот.
4. Изучить пути образования и утилизации аммиака в организме человека.
5. Освоить методы определения концентрации мочевины и активности аминотрансфераз в сыворотке крови.

3. Лабораторные работы

1. Определение мочевины в сыворотке крови.
2. Определение активности аминотрансфераз в сыворотке крови.

4. Перечень практических навыков, которыми должны овладеть студенты в процессе выполнения лабораторных работ

1. Научиться определять содержание мочевины в сыворотке крови.
2. Овладеть методом определения активности аминотрансфераз.

3. Уметь интерпретировать полученные результаты исследований во взаимосвязи с клинико-диагностическим значением вышеуказанных лабораторных работ.

5. Вопросы для теоретической подготовки к занятию

1. Пул свободных аминокислот в организме: пути образования и использование свободных аминокислот в тканях.
2. Трансаминирование аминокислот: механизм действия аминотрансфераз, биологическое значение реакции. Клинико-диагностическое значение определения активности аминотрансфераз в сыворотке крови.
3. Прямое и не прямое дезаминирование L-аминокислот. Роль оксидаз и глутаматдегидрогеназы в дезаминировании аминокислот.
4. Декарбоксилирование L-аминокислот в организме человека. Биологическая роль биогенных аминов и их обезвреживание в организме.
5. Пути превращения безазотистых остатков аминокислот. Кетогенные и глюкогенные аминокислоты.
6. Пути образования и обезвреживания аммиака в организме.
7. Орнитиновый цикл синтеза мочевины: последовательность химических реакций, генетические аномалии ферментов цикла синтеза мочевины.
8. Пути метаболизма фенилаланина и тирозина, их генетические нарушения.
9. Обмен триптофана и его нарушения.
10. Обмен цистеина и метионина. Глутатион: структура, биосинтез и функции в организме.

6. Тесты для определения исходного уровня знаний студентов по изучаемой теме

1. Укажите путь превращения аминокислот, благодаря которому возможно образование заменимой аминокислоты:
 - A. Трансаминирование
 - B. Фосфорилирование

- C. α -Декарбокситирование
 - D. Окислительное дезаминирование
 - E. Гидролитическое дезаминирование
2. Выберите фермент, который участвует в окислительном дезаминировании аминокислот и содержит в качестве небелкового компонента кофермент ФМН:
- A. α -Кетоглутаратдегидрогеназа
 - B. Глутаматдегидрогеназа
 - C. Глутаматдекарбоксилаза
 - D. L-Аланинооксидаза
 - E. Триптофангидроксилаза
3. Укажите фермент, активность которого определяется в плазме крови в безжелтушный период развития вирусного гепатита:
- A. Фенилаланингидроксилаза
 - B. Креатинфосфокиназа
 - C. Глутаматдегидрогеназа
 - D. Аланинтрансминаза
 - E. Орнитинкарбамоилфосфаттрансфераза
4. Выберите компонент плазмы крови, концентрация которого снижается при поражении паренхимы печени:
- A. Глюкоза
 - B. Мочевина
 - C. Свободные аминокислоты
 - D. Общие фосфолипиды
 - E. Хиломикроны
5. Укажите правильный порядок превращений метаболитов в орнитиновом цикле синтеза мочевины:
- A. Аргинин→орнитин→карбамоилфосфат→мочевина
 - B. Орнитин→аргининосукцинат→аргинин→мочевина
 - C. Карбамоилфосфат+орнитин→цитрулин+аспартат→→аргининосукцинат→ аргинин→мочевина + орнитин
 - D. Мочевина→аргининосукцинат→аргинин→мочевина
 - E. Орнитин→карбамоилфосфат→аргинин→мочевина

6. Назовите индикаторный фермент плазмы крови, активность которого возрастает в 10 и более раз в первые 3-4 часа после инфаркта миокарда:
- A. Аланинтрансаминаза
 - B. Аспартаттрансаминаза
 - C. Щелочная фосфатаза
 - D. Аргиназа
 - E. Лейцинаминопептидаза
7. Выберите кофактор, который является небелковым компонентом оксидаз D-аминокислот в процессе окислительного дезаминирования:
- A. НАДФ⁺
 - B. НАД⁺
 - C. ФАД
 - D. ФМН
 - E. ТПФ
8. В межуточном обмене триптофана образуется два биогенных амина. Назовите один из них:
- A. Тиамин
 - B. Серотонин
 - C. Адреналин
 - D. Дофамин
 - E. Гистамин
9. Назовите фермент, нарушение синтеза которого приводит к снижению концентрации в нейронах головного мозга нейромедиатора торможения – γ -аминомасляной кислоты (ГАМК):
- A. Триптофан- α -декарбоксилаза
 - B. Фенилаланингидроксилаза
 - C. Гистидин- α -декарбоксилаза
 - D. Аланингидроксилаза
 - E. Глутамат- α -декарбоксилаза
10. Выберите витамин, дефицит которого в организме человека сопровождается нарушениями в трансаминировании и α -декарбоксилировании аминокислот:
- A. Аскорбиновая кислота

- В. Рибофлавин
- С. Кобаламин
- Д. Фолиевая кислота
- Е. Пиридоксин

7. Информационный материал по теме

ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ

Введение

Источником свободных аминокислот в организме являются экзогенные белки, поступающие с пищей; белки собственных тканей, аминокислоты, которые синтезируются в реакциях межклеточного обмена (заменимые). Депонирование аминокислот в тканях организма не происходит.

Общее содержание свободных аминокислот в крови колеблется в пределах 4-6 мг %, однако процентное содержание отдельных аминокислот неодинаково. Содержание глутамата, глутамина, аланина и серина в крови гораздо выше, чем других аминокислот. Это объясняется особенностями использования данных аминокислот в тканях головного мозга, мышц, печени, почек. Мышцы и печень играют главную роль в поддержании на постоянном уровне свободных аминокислот, циркулирующих в крови.

Аланин является главной глюкогенной аминокислотой. Большая часть глутамата и глутамина в почечной, мышечной ткани превращается в аланин. Скорость синтеза глюкозы в печени человека из аланина является самой высокой по сравнению с использованием в этом процессе других глюкогенных аминокислот.

Глутамин является главным продуктом утилизации аммиака в нервной ткани, с другой стороны глутамин служит донором аминогруппы в синтетических процессах других тканей организма человека. Аланин и глутамин секретируются в кровь в основном мышцами. Почки продуцируют в большом количестве серин. Аминокислоты с разветвленным боковым радикалом, а также частично валин, секретируются мышцами и активно используются печенью и головным мозгом.

На рис.1 представлены все возможные пути образования и использования аминокислот, определяющие их пул в крови:

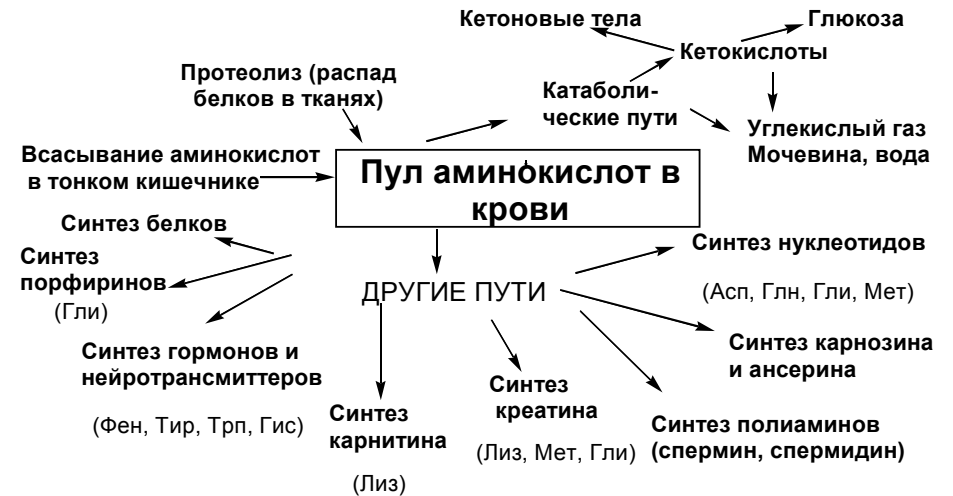


Рис. 1 Основные пути обмена аминокислот в организме человека

Общие пути обмена аминокислот

Несмотря на то, что для каждой аминокислоты существуют специальные пути обмена, они могут подвергаться превращениям, характерным для всех аминокислот. К подобным общим путям катаболизма относятся трансаминирование, трансдезаминирование, прямое дезаминирование и декарбоксилирование (рис. 2)

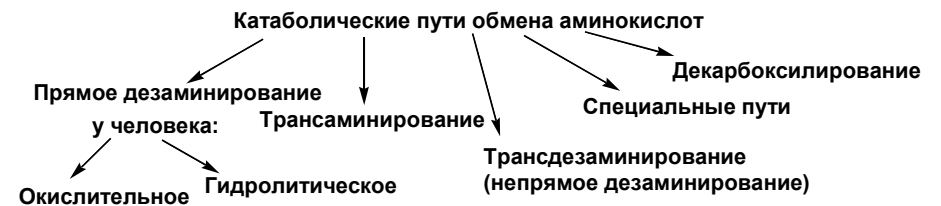
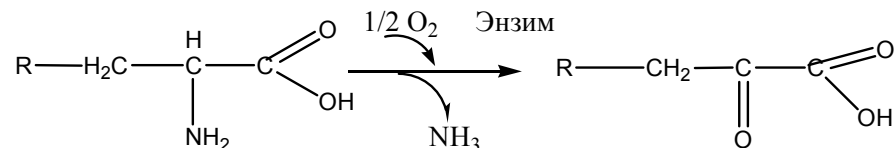


Рис. 2 Катаболические пути обмена аминокислот в организме человека

ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

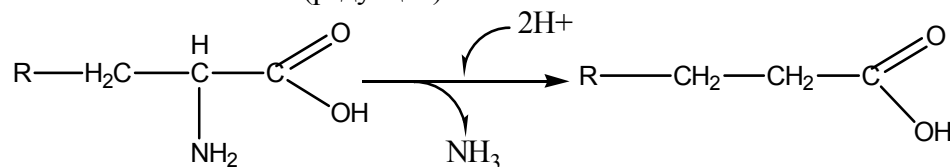
Дезаминирование – это процесс удаления аминогруппы из структуры аминокислоты с образованием свободного аммиака. В живых организмах существует несколько видов дезаминирования:

1. Окислительное (локализовано в митохондриях)

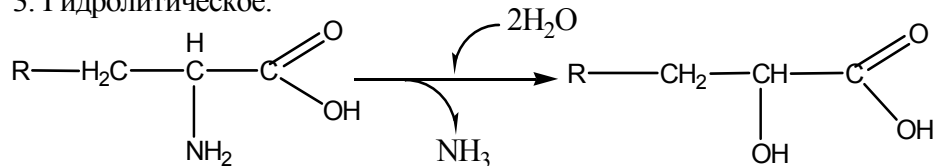


Энзим - дегидрогеназа или оксидаза

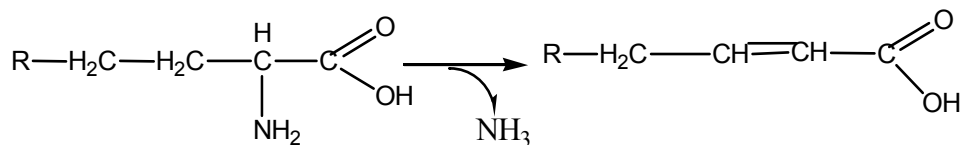
2. Восстановительное: (редукция)



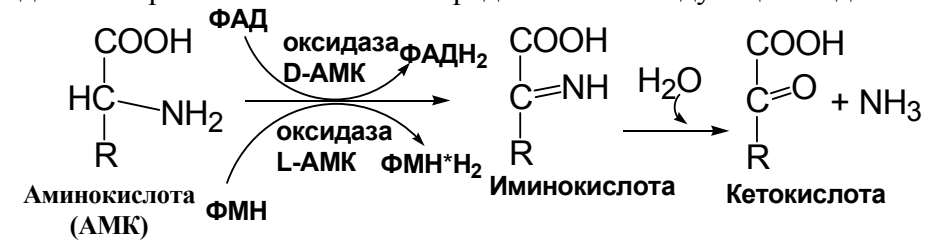
3. Гидролитическое:



4. Внутримолекулярное:

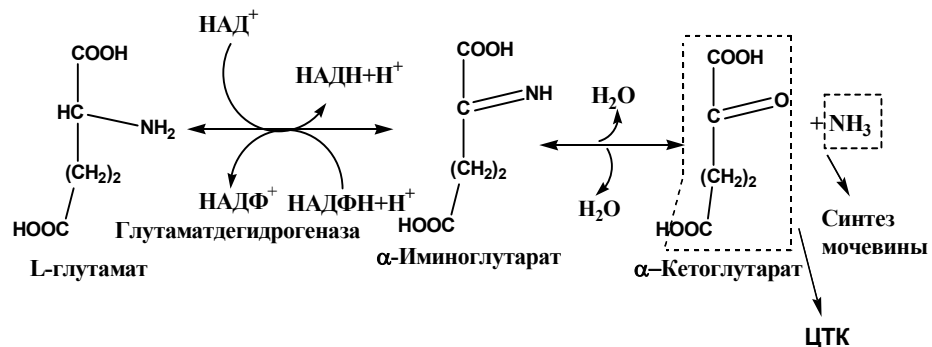


Для организма человека характерно окислительное дезаминирование. На первом этапе окислительного дезаминирования при участии фермента происходит дегидрирование аминокислоты с образованием иминокислоты, которая очень неустойчива и в присутствии воды спонтанно (без участия фермента) разлагается на альфа-кетокислоту и аммиак. В печени и почках обнаружены ферменты-оксидазы L- и D-аминокислот, которые катализируют окислительное дезаминирование. Оксидазы L-аминокислот в качестве простетической группы содержат ФМН, а оксидазы D-аминокислот – ФАД. Схематически процесс окислительного дезаминирования может быть представлен в следующем виде:



D-аминокислоты найдены в составе клеток растений и микроорганизмов. Они регулярно поступают в организм человека с продуктами питания и под действием оксидаз D-аминокислот превращаются в соответствующие альфа-кетокислоты. Полученные альфа-кетокислоты могут в дальнейшем использоваться для синтеза L-аминокислот, либо разрушаться с образованием энергии.

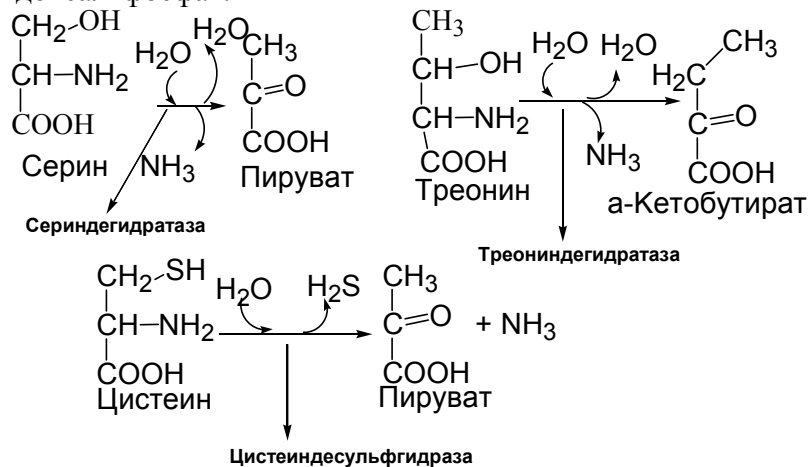
Наиболее активным ферментом окислительного дезаминирования в тканях человека является глутаматдегидрогеназа, которая проявляет особенно высокую активность в головном мозге и печени. Глутаматдегидрогеназа представлена двумя изоферментами в клетке: НАД-зависимым митохондриальным (в матриксе митохондрий) и НАДФ-зависимым цитоплазматическим. Реакция дезаминирования L-глутаминовой кислоты протекает в две стадии и является обратимой:



В нервной ткани обратная реакция (восстановительное аминирование α -кетоглутарата в L-глутамат) имеет исключительное значение, так как это основной путь утилизации токсичного аммиака в головном мозге. Реакция проходит в цитозоле при участии цитоплазматической НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы.

Глутаматдегидрогеназа является аллостерическим ферментом. Активность её стимулируется высокими концентрациями АДФ и ГДФ, а ингибируется при накоплении в клетке АТФ, ГТФ и НАДН.

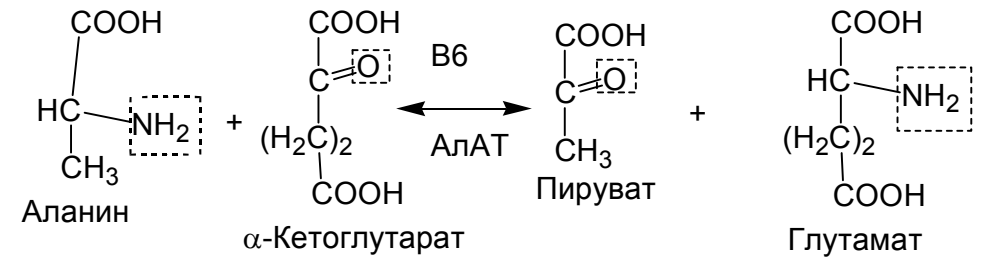
Для трех аминокислот - цистеина, треонина и серина возможно неокислительное дезаминирование. Ферменты, которые катализируют эти реакции, в качестве кофермента содержат пиридоксальфосфат:



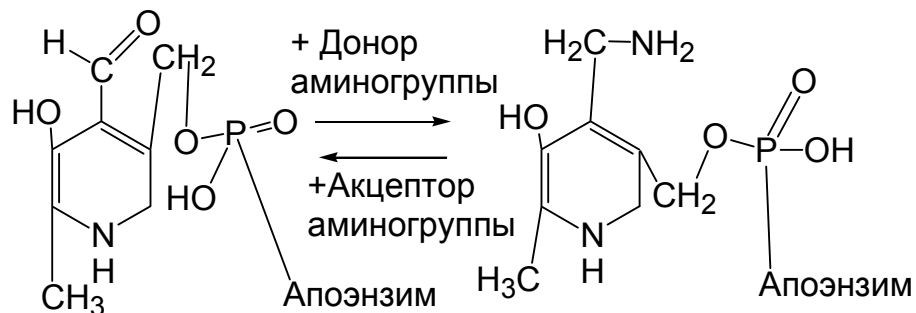
Реакции неокислительного дезаминирования позволяют образовать из аминокислот кетокислоты, которые включаются в общие пути катаболизма, либо могут быть использованы в глюконеогенезе.

ТРАНСАМИНИРОВАНИЕ

Эта реакция была впервые изучена советскими биохимиками А.Е. Браунштейном и М.Г. Крицманом. Например, реакция трансаминирования аланина может быть представлена следующей схемой:



В процессе трансаминирования происходит перенос аминогруппы аминокислоты на кетокислоту с образованием новой аминокислоты и кетокислоты. Реакции трансаминирования характерны для всех аминокислот, за исключением лизина и треонина. Ферменты, катализирующие данный тип реакции, называют аминотрансферазами или трансаминазами, они проявляют групповую специфичность. Коферментами аминотрансфераз являются пиридоксаль-фосфат (ПАЛФ) и пиридоксаминфосфат (ПАМФ) – производные витамина В₆. В механизме реакции трансаминирования происходит взаимопревращение данных коферментов через промежуточные стадии образования шиффовых оснований:

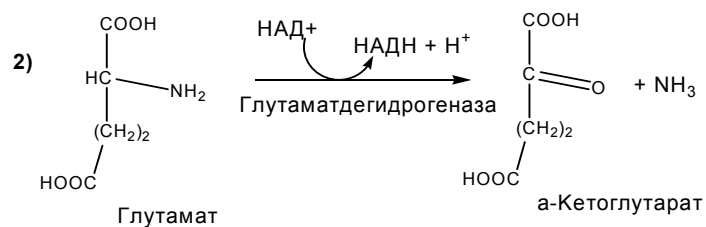
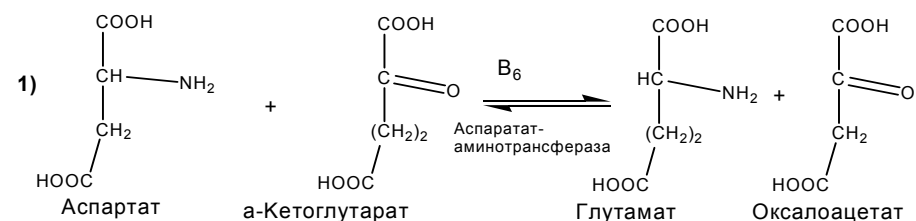


Пиридоксальфосфат

Пиридоксаминфосфат

Реакции трансаминирования играют важную роль в метаболизме аминокислот, так они используются:

- для образования заменимых аминокислот из соответствующих альфа-кетокислот;
- в качестве первой стадии процесса трансдезаминирования (непрямого без аминирования) аминокислот, для которых отсутствует в тканях прямое дезаминирование; при этом акцептором аминокруппы выступает преимущественно альфа-кетоглутарат. Например, ниже представлено уравнение двух стадий процесса трансдезаминирования аспарагиновой кислоты:



- как путь образования кетокислот, необходимых для глюконеогенеза, цикла Кребса;
- как путь распада аминокислот с целью получения энергии для клетки.

Определение активностей аланин- и аспартатами-нотрансфераз в сыворотке крови служит важным инструментом в диагностике и оценке результатов лечения инфаркта миокарда, гепатита, а также токсических поражений печени промышленными ядами (хлороформ, четыреххлористый углерод и др.).

При инфаркте миокарда в 95% случаев активность аспартатами-нотрансферазы (АсАТ) в крови возрастает уже через 4 часа после возникновения острого болевого приступа. Активность АсАТ достигает максимума к 24-25 часам и лишь на 3-7 день снижается до нормального уровня. Повышение активности АсАТ наблюдается даже при таких формах инфаркта миокарда, которые не диагностируют по электрокардиограмме.

При болезни Боткина возникает гиперферментемия аланинами-нотрансферазы (АлАТ). Высокая активность АлАТ проявляется еще до появления желтухи и держится на высоком уровне в течение первых 10-15 дней заболевания, после чего начинает постепенно снижаться.

В диагностических целях целесообразно определять коэффициент де Ритиса:

Коэффициент де Ритиса: $[АсАТ]/[АлАТ]=1,33 \pm 0,14;$

При заболеваниях печени его значение меньше единицы; при инфаркте миокарда коэффициент возрастает в три и более раз.

На активность аминотрансфераз оказывают влияние гормоны: инсулин повышает их активность, а кортикостероиды и глюкагон уменьшают её. Норадреналин снижает активность аминотрансфераз даже на фоне высоких концентраций витамина В₆ - предшественника коферментов этих ферментов.

СУДЬБА УГЛЕРОДНЫХ СКЕЛЕТОВ АМИНОКИСЛОТ

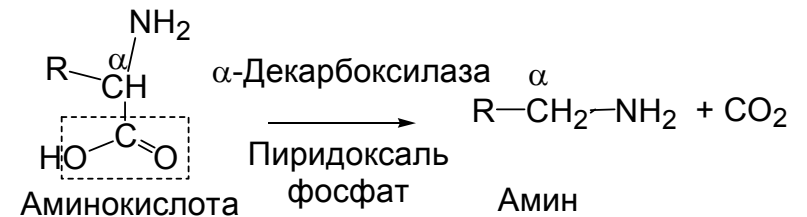
После отщепления аминокруппы безазотистые остатки аминокислот (кетон- и гидроксикислоты) превращаются в пять продуктов (фумарат, ацетил-КоА, α -кетоглутарат, сукцинил-КоА, оксалоацетат), которые затем вступают в цикл лимонной кислоты, подвергаются аэробному окислению с образованием CO_2 , H_2O и выделением энергии.

Углеродные скелеты 10 аминокислот, распадаясь, превращаются в ацетил-КоА. Пять из них (Ала, Гли, Сер, Тре, Цис) расщепляются до ацетил-КоА через пируват, а другие пять (Фен, Тир, Трп, Лиз, Лей) – через ацетоацетил-КоА. Пять аминокислот (Арг, Гис, Про, Глн, Глу) превращаются в альфа-кетоглутарат, три (Иле, Вал, Мет) – в сукцинил-КоА, две (Асп, Асн) – в оксалоацетат. Для фенилаланина и тирозина возможно образование фумарата.

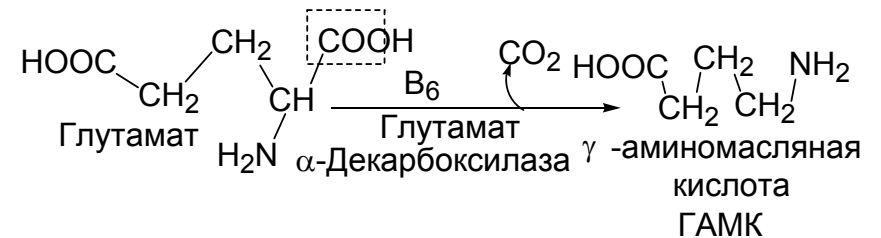
Пять аминокислот, которые расщепляются с образованием ацетоацетил-КоА, называют кетогенными. В печени они могут быть использованы в качестве предшественников кетонных тел. Остальные 15 аминокислот, распадающихся с образованием пирувата, сукцинил-КоА, оксалоацетата, альфа-кетоглутарата, относят к глюкогенным. Однако, четкой границы между кетогенными и глюкогенными аминокислотами нет, поскольку тирозин, фенилаланин, лейцин, триптофан, лизин принадлежат одновременно и к той и к другой группе. Истинно кетогенной аминокислотой является только лейцин.

ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

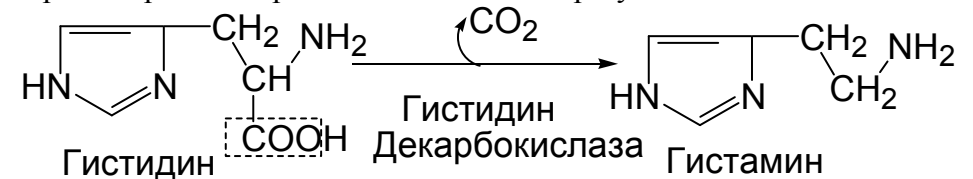
Декарбоксилирование – это реакция удаления карбоксильной группы из структуры аминокислоты в виде диоксида углерода CO_2 . α -Декарбоксилазы содержат кофермент пиридоксальфосфат. Механизм реакции включает образование шиффовых оснований при взаимодействии пиридоксальфосфата и аминокислоты с последующим отщеплением карбоксильной группы в виде CO_2 и образованием органического биогенного амина. Равновесие реакции сильно смещено вправо:



Из глутаминовой кислоты при α -декарбоксилировании образуется γ -аминомасляная кислота, которая является медиатором торможения в ЦНС:



При декарбоксилировании гистидина образуется гистамин:



Гистамин оказывает сосудорасширяющий эффект на кровеносные сосуды, стимулирует желудочную секрецию, участвует в механизме развития воспалительных процессов и аллергических реакций организма.

В обмене тирозина α -декарбоксилирование используется для получения в нервной ткани нейромедиатора дофамина. В мозговом веществе надпочечников дофамин служит предшественником в синтезе гормонов-катехоламинов (адреналина, норадреналина), а в пигментных клетках (меланоцитах) – предшественником пигмента меланина.

Декарбоксилирование 5-окситриптофана сопровождается образованием серотонина или 5-окситриптамина, который

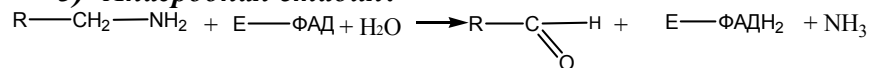
обладает мощным сосудосуживающим действием, участвует в регуляции артериального давления, регуляции скорости клубочковой фильтрации, в стимуляции мышечного сокращения. В эпифизе из серотонина образуется мелатонин, регулирующий биоритмы человека. Прямое альфа-декарбоксилирование триптофана дает образование триптамина, который в ЦНС выполняет функцию нейромедиатора.

В обмене цистеина благодаря реакции декарбоксилирования образуется таурин, который в печени конъюгируется с желчными кислотами, а в нервной ткани выполняет роль нейромедиатора.

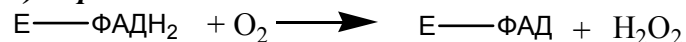
Декарбоксилирование аминокислот при гниении белков в толстом кишечнике под действием ферментов бактерий приводит к образованию токсичных аминов (из лизина образуется кадаверин, из орнитина-путресцин, из валина-изобутиламин), которые в дальнейшем обезвреживаются в печени.

Детоксикация биогенных аминов сопряжена с их окислительным дезаминированием под действием моноаминоксидаз (МАО) (Е- белковая часть фермента; ФАД - небелковая). Процесс необратим и протекают в две стадии:

3) Анаэробная стадия:



2) Аэробная стадия:

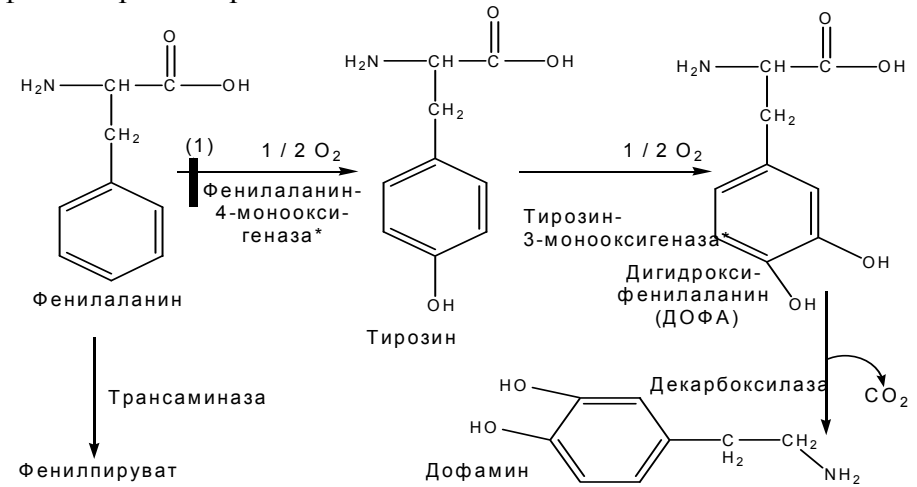


Альдегиды, образовавшиеся в процессе обезвреживания аминов, окисляются при участии альдегиддегидрогеназ до органических кислот, которые удаляются из организма преимущественно с мочой, а перекись водорода далее распадается на воду и кислород.

ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

В тканях здорового человека 90% фенилаланина превращается в тирозин, благодаря действию фермента фенилаланин-4-монооксигеназы (второе название—фенилаланин-

гидроксилаза). При нарушении синтеза данного фермента весь фенилаланин подвергается трансаминированию с образованием фенилпировиноградной кислоты:



* ---- Ферменты имеют одинаковую небелковую часть - тетрагидробиоптерин.

Гидроксилирование фенилаланина и тирозина требует наличия в ферменте специального кофермента – тетрагидробиоптерина. В процессе гидроксилирования этих аминокислот происходит дегидрирование кофермента с образованием дигидробиоптерина (рис.3), регенерация которого возможна только при действии специальной редуктазы, содержащей НАДФН:

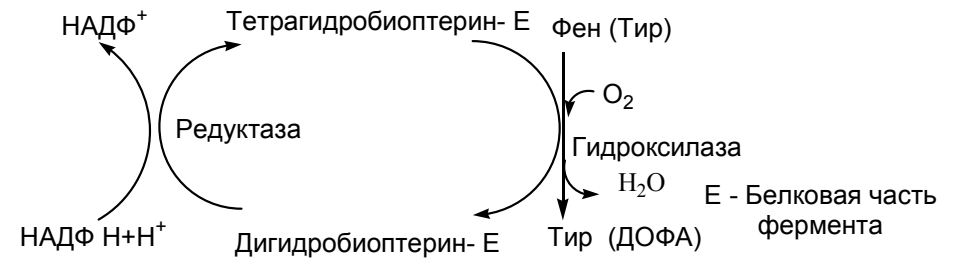


Рис. 3 Регенерация небелковой части гидроксилазы ароматических аминокислот

Генетические энзимопатии обмена фенилаланина

разделяются на три группы:

- дефекты в структуре фенилаланин-4-монооксигеназы (гиперфенилаланинемия 1 типа или классическая фенилкетонурия);
- дефекты в структуре дигидробиоптеринредуктазы (гиперфенилаланинемия 2 и 3 типов);
- дефекты ферментов синтеза дигидробиоптерина (гиперфенилаланинемия 4 и 5 типов).

При вышеуказанных нарушениях метаболизм фенилаланина переключается на образование фенилпировиноградной кислоты, которая либо накапливается в организме, либо декарбоксилируется в фенилацетат, выделяющийся с мочой в виде фенилацетилглутамина. В связи с торможением превращения фенилаланина в тирозин возникает вторичное нарушение в обмене тирозина. Следствием этого является нарушение синтеза адреналина, норадреналина, дофамина, меланина.

Наиболее тяжелыми формами гиперфенилаланинемии являются тип 1 и 2. Главными клиническими симптомами гиперфенилаланинемии типа 1 являются умственная отсталость ребенка, сопровождающаяся психозом; экзема; моча имеет специальный запах (мышинный запах). Второе название данной патологии - фенилпировиноградная олигофрения или фенилкетонурия. По характеру наследования это аутосомно-рецессивное заболевание с высокой частотой семейных случаев (1:4000). Родители больных детей являются гетерозиготными носителями дефектного гена. При выявлении случаев рождения детей с вышеуказанной патологией в роду, будущие мать и отец либо проверяются на наличие дефектного гена, либо в пренатальном периоде развития ребенка проводится анализ ДНК плода для постановки диагноза.

В родильных отделениях обязательным тестом является определение содержания фенилаланина в крови новорожденных первые 1-6 дней жизни (для определения достаточно 20 микролитров крови). Если содержание фенилаланина в крови

выше 40 мг/мл, это может быть важным признаком наличия патологии. Накопление фенилпировиноградной кислоты (ФПК) в тканях происходит не так быстро, как фенилаланина, поэтому тест с хлорным железом на содержание ФПК в моче может быть отрицательным у больного новорожденного первые 1-3 дня. Только к концу первой недели жизни моча больного ребенка даст при добавлении раствора хлорного железа характерную зелено-синюю окраску, если фенилпироват появился в моче ребенка. В таблице 1 представлены данные по содержанию фенилаланина и фенилпировиноградной кислот в крови и моче здоровых детей и больных фенилкетонурией. Вовремя выявленная патология излечима путем назначения специальной диеты, содержащей белковые гидролизаты, лишенные фенилаланина, лечение длится до 6-7 летнего возраста.

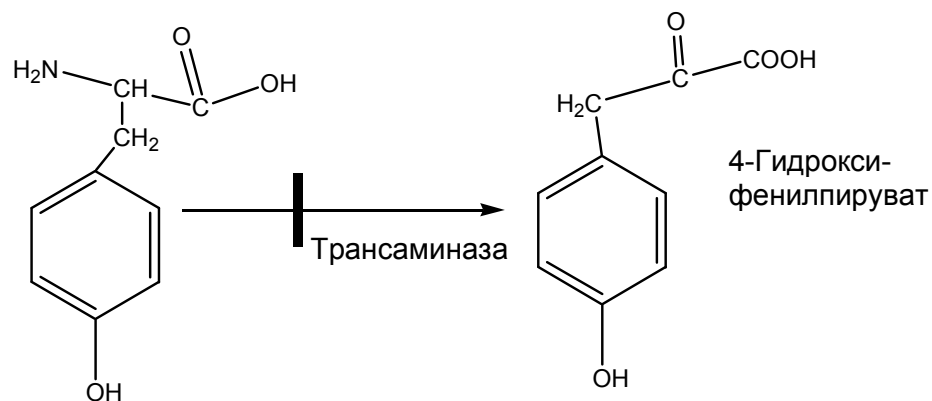
Тирозин используется для синтеза белков, образования катехоламинов, тиреоидных гормонов, меланина и подвергается распаду до CO_2 и H_2O . Начальным этапом метаболизма тирозина в печени является его трансаминирование с образованием 4-гидроксифенилпировата, который под действием специфической медь-содержащей оксидазы подвергается окислению.

Показатель, единицы	Здоровый пациент		Больной фенилкетонурией	
	Плазма	Моча	Плазма	Моча
Фенилаланин, мг/100мл	1-2	30	15-63	300-1000
Фенилпироват, мг/100мл	-	-	0.3-1.8	300-1000

Таблица 1. Диапазон содержания фенилаланина и фенилпировиноградной кислоты в крови и моче пациентов

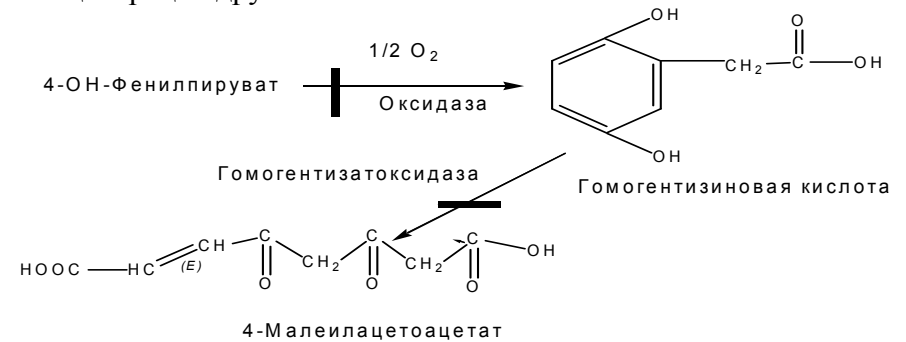
Для нормальной активности этой оксидазы необходима аскорбиновая кислота. 4-Гидроксифенилпируват включается в ряд превращений (гидроксилирование, декарбоксилирование и внутримолекулярное перемещение боковой цепи) с образованием гомогентизиновой кислоты. Окисление гомогентизиновой кислоты в малеилацетоксусную кислоту катализирует фермент оксидаза гомогентизиновой кислоты. Для функционирования этого фермента необходимы катионы железа Fe^{2+} и кофермент - восстановленный глутатион. Малеилацетоксусная кислота при действии изомеразы превращается в фуарилацетоксусную кислоту, которая далее подвергается гидролизу до фуариновой и ацетоксусной кислот. Образовавшиеся продукты могут окисляться до CO_2 и H_2O или использоваться для синтеза глюкозы и жирных кислот. Для данного пути превращений в медицинской литературе описан ряд генетических нарушений:

1. Тирозинемия типа 2 наблюдается у больных с дефицитом фермента тирозин-трансаминазы.



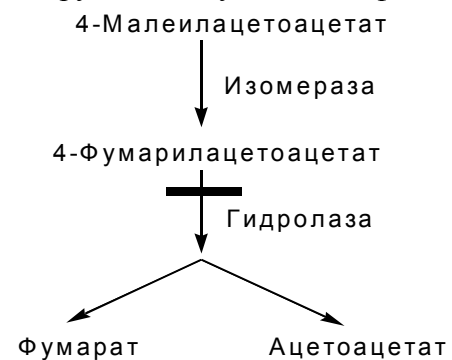
2. Неонатальная тирозинемия проявляется при генетическом дефекте фермента 4-гидрокси-фенилпируватоксидазы. Основными клиническими проявлениями тирозинемии у больных являются миастения, отставание в физическом развитии. В крови обычно

определяется повышенный уровень тирозина и сниженная концентрация других аминокислот.



В моче выделяется большое количество пара-гидроксифенилмолочной, пара-оксифенилпировиноградной и пара-гидроксифенилуксусной кислот.

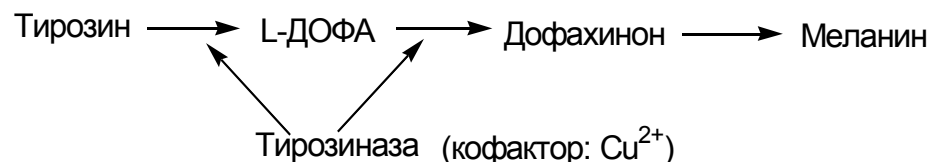
3. Алкаптонурия наблюдается при дефиците фермента гомогентизатоксидазы. В этом случае гомогентизиновая кислота экскретируется в больших количествах с мочой ребенка, под действием кислорода воздуха окисляется до алкаптона черного цвета, поэтому моча ребенка имеет темную окраску. При отсутствии лечения (назначается специальная диета) у пациентов развивается пигментация соединительных тканей. Гомогентизаты накапливаются в тканях больного, вызывая развитие артрита, нарушение клубочковой фильтрации.



4. Тирозинемия типа 1 наблюдается при дефекте фермента гидролазы, участвующей в превращении 4-фумарилацетоацетата. Другой путь превращения тирозина сопровождается образованием катехоламинов в надпочечниках. Под действием медь-содержащей тирозиназы

происходит гидроксилирование тирозина с образованием диоксифенилаланина (ДОФА), при декарбоксилировании которого образуется дофамин - предшественник норадреналина и адреналина.

Тирозин является также предшественником меланина. В специальных клетках меланоцитах фермент тирозиназа окисляет тирозин в ДОФА и ДОФА-хинон. В результате дисмутации 2 молекул ДОФА-хинона неферментативно образуется галла-хром. При декарбоксилировании галла-хрома образуется индол-5,6-хинон, который спонтанно превращается в меланин. Меланины представляют собой группу полимеров с неупорядоченной структурой, которая обеспечивает пигментацию кожи, глаз, волос.



При отсутствии тирозиназы в меланоцитах возникает заболевание альбинизм. Различают полный и частичный альбинизм. При полном альбинизме в организме отмечается полное отсутствие меланина. Волосы на голове, брови, ресницы, волосы на теле у больных белые, кожа бело-розовая или желтоватой окраски, что обусловлено желтоватым цветом рогового слоя эпидермиса. Глаза розово-красные из-за просвечивания кровеносных сосудов сквозь среды глазных оболочек из-за отсутствующего пигмента. При частичном альбинизме в коже некоторых частей тела пигмент меланин имеется.

Еще одним путем метаболизма тирозина является его использование в биосинтезе гормонов щитовидной железы. Боковые радикалы тирозина в составе белка тиреоглобулина подвергаются йодированию, конъюгации и гидролитическому отщеплению в виде свободных трийодтиронина и тироксина.

Большинство ферментов указанных превращений контролирует тиреотропный гормон, секретируемый аденогипофизом. (рис.4)

ОБМЕН ТРИПТОФАНА

Триптофан, как и фенилаланин, является незаменимой аминокислотой. Его распад в организме осуществляется по двум путям: кинурениновому (~95%) и серотониновому (~1%), хотя существует еще и третий путь, связанный с образованием триптамина и индолилуксусной кислоты. (рис. 4).

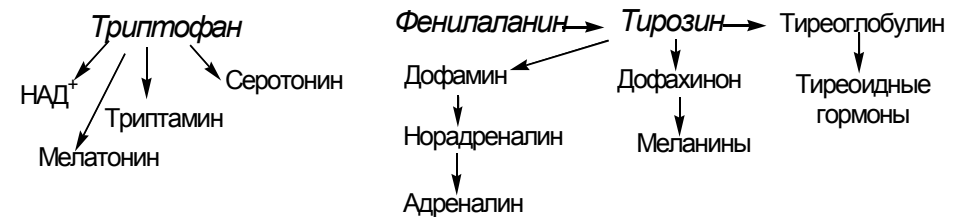


Рис. 4 Схема специфических путей использования фенилаланина, тирозина и триптофана

В серотониновом пути распада при гидроксировании триптофана образуется 5-гидрокситриптофан, который путем декарбоксилирования превращается в серотонин. В эпифизе серотонин трансметируется с образованием мелатонина (рис. 5). Катаболизм серотонина заканчивается образованием 5-оксииндолилуксусной кислоты, экскретируемой из организма с мочой. У больных со злокачественной карциномой кишечника и при болезни Хартнупа содержание этого вещества в моче резко повышено. Кинурениновый путь распада триптофана начинается с его окисления в печени под воздействием триптофан-2,3-диоксигеназы до формилкинуренина. При болезни Хартнупа возникает недостаточность этого фермента, за счет чего блокируется распад триптофана по этому пути. Формилкинуренин разрушается в цепи последовательных ферментативных превращений с образованием промежуточных продуктов, которые могут быть использованы для синтеза НАД⁺, уменьшая при этом потребность организма в витамине РР.

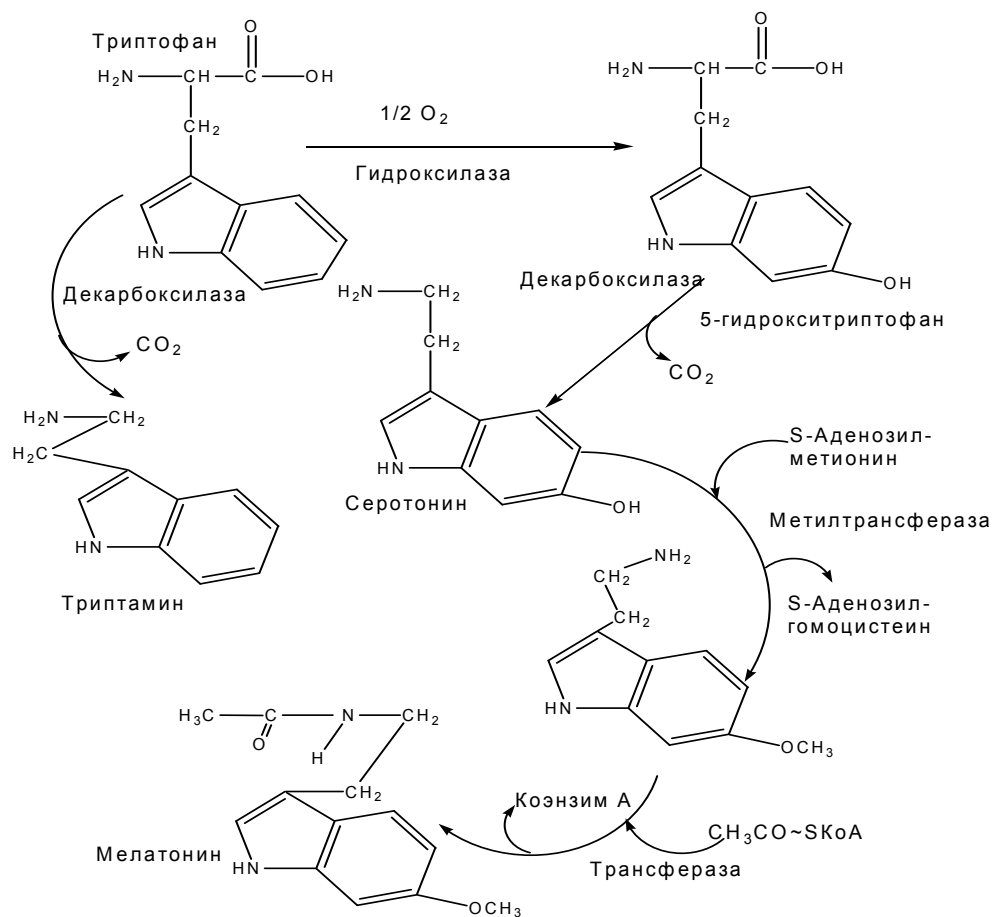


Рис. 5. Основные превращения триптофана в нервной ткани

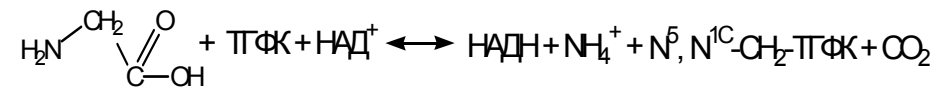
В третьем пути катаболизма триптофан превращается в индолилуксусную кислоту, выделяющуюся с мочой в виде индолилацетуровой кислоты – продукта конъюгации индолилуксусной кислоты с глицерином. Микроорганизмы толстого кишечника могут расщеплять индолилуксусную кислоту с образованием скатола, скатоксила, индола и индоксила, оказывающих токсическое действие на организм. Эти продукты частично всасываются из кишечника в кровь, обезвреживаются в

печени, продукты обезвреживания (индикан и др.) выводятся с мочой.

Обмен триптофана находится в тесной зависимости от обеспеченности организма витамином В₆. Это обусловлено тем, что многие ключевые ферменты катаболизма триптофана содержат в своей структуре данный витамин. При недостаточном поступлении витамина В₆ с пищей, нарушении его всасывания или при усиленном выведении (стресс, гипертония, беременность) нарушается обмен триптофана. Отклонения в метаболизме этой аминокислоты обнаруживаются уже на ранних стадиях дефицита витамина В₆.

ОБМЕН ГЛИЦИНА

Глицин относится к заменимым аминокислотам. Он может быть образован из треонина под действием треонинальдолазы, из серина под действием сериноксиметилтрансферазы, коферментом которой служит тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК). Специфическим путем образования глицина является распад холина с образованием промежуточных метаболитов: бетаинальдегида, бетаина, диметилглицина, саркозина. Основным катаболическим путем метаболизма глицина является его окислительное расщепление до СО₂, NH₃ и метиленовой группы, которая присоединяется к тетрагидрофолату. Реакция легко обратима и катализируется глицинсинтетазой:



Биологическое значение этого пути состоит в образовании активного одноуглеродного фрагмента N⁵,N¹⁰-CH₂-ТГФК, используемого в синтезе тимидиловой кислоты, пуриновых нуклеотидов, в обмене метионина и др. (рис.6).

Другим превращением глицина является его дезаминирование под действием глициноксидазы с образованием

глиоксильной кислоты. Глиоксильная кислота в тканях декарбоксилируется с образованием муравьиной кислоты или оксалата.

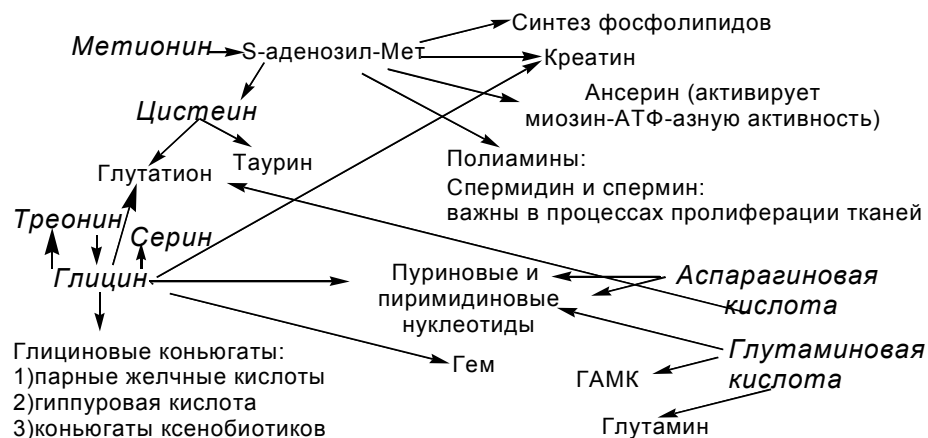
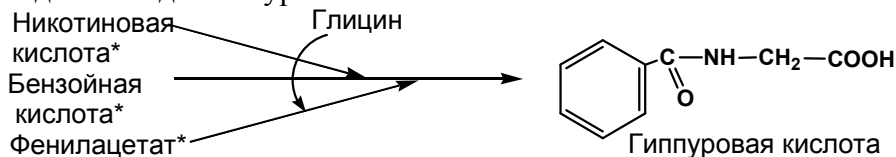


Рис. 6 Схема специфических путей использования глицина, метионина, цистеина, аспарагиновой и глутаминовой кислот

Вышеописанный путь превращений нарушается при врожденном заболевании – первичной оксалурии, при которой происходит увеличенное образование оксалата, сопровождающееся отложением оксалата кальция в почках и других тканях.

Помимо перечисленных путей метаболизма, в печени глицин участвует в образовании парных желчных кислот; процессе обезвреживания бензойной кислоты и других органических соединений до гиппуровой кислоты:



(*) - Эти вещества должны вступать в реакцию конъюгации с глицином в активной форме

В медицинской практике для оценки детоксикационной функции печени используют пробу Квика (определение содержания гиппуровой кислоты в моче пациента при нагрузке бензоатом натрия). Суть данного теста:

3-4 г бензоата натрия одноразовой дозой назначают больному для приема per os. Через 3 часа после приема выше указанного вещества больной сдает анализ мочи, в которой определяют содержание гиппуровой кислоты. Если содержание гиппуровой кислоты в моче составляет 65%-85% от исходной массы бензоата натрия, назначенного per os, то делается вывод о нормальной обезвреживающей функции печени пациента.

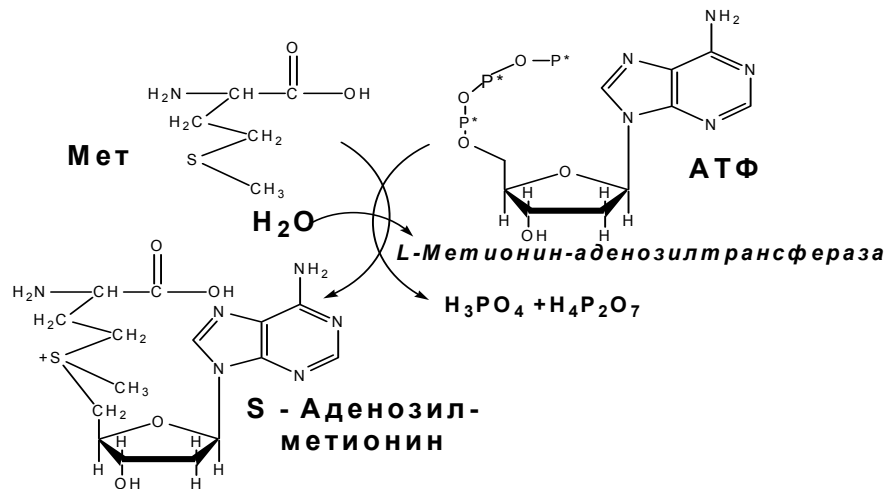
Глицин участвует в образовании δ -аминолевулиновой кислоты, необходимой для синтеза порфиринов (гема) и глицинамидрибонуклеотида. Поскольку глицин способен обратимо превращаться в серин, который в свою очередь, переходит в пируват, обмен глицина тесно связан с обменом углеводов и липидов.

ОБМЕН МЕТИОНИНА И ЦИСТЕИНА

Метионин является незаменимой аминокислотой и его пути обмена (рис.6) имеют тесные взаимосвязи с:

- обменом фосфолипидов (синтез лецитина)
- обменом цистеина, который образуется из метионина
- обменом креатина преимущественно в мышечной и нервной тканях
- обменом катехоламинов (синтез адреналина).

Синтез биологических модуляторов процессов пролиферации тканей спермина и спермидина напрямую зависит от концентрации метионина, поступающего с продуктами питания. Все химические превращения метионина в клетке требуют наличия его активной формы, поэтому переход свободного метионина в S-аденозилметионин является наиболее важной реакцией для метионина:



В реакциях трансметилирования S-аденозилметионин выступает донором метильной группы, которая слабо, по сравнению с другими фрагментами структуры, привязана к атому серы. Ниже приведена схема превращений (рис.8), объясняющая использование S-аденозил-метионина в трансметилировании с последующей его трансформацией в цистеин и кетобутират, последний, в свою очередь, разрушается до пропионил-КоА:

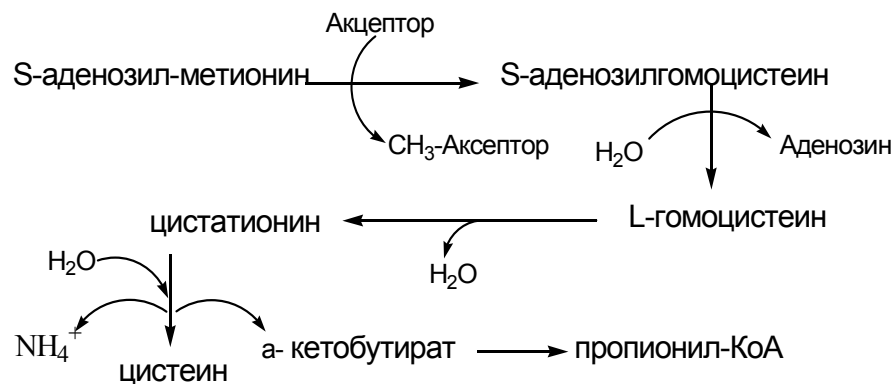


Рис. 7. Образование цистеина из активной формы метионина.

S-Аденозилметионин, глицин и аргинин участвуют в синтезе органического соединения - креатина (по содержанию 85% синтезируется в печени, остальные 15% в почечной ткани). Креатин транспортируется через кровотоки, главным образом, в мышечную ткань, однако около 10% синтезируемого креатина используется головным мозгом и почками. Креатин рассматривают как исходный субстрат для образования креатинфосфата в митохондриях, который затем используется креатинфосфокиназой цитоплазмы для синтеза АТФ путем субстратного фосфорилирования. Для мышечной ткани данное превращение играет важную роль при интенсивной длительной физической нагрузке на мышцу. При этом часть креатина в цитоплазме превращается в креатинин (рис.8) – конечный продукт обмена, экскретируемый с мочой.

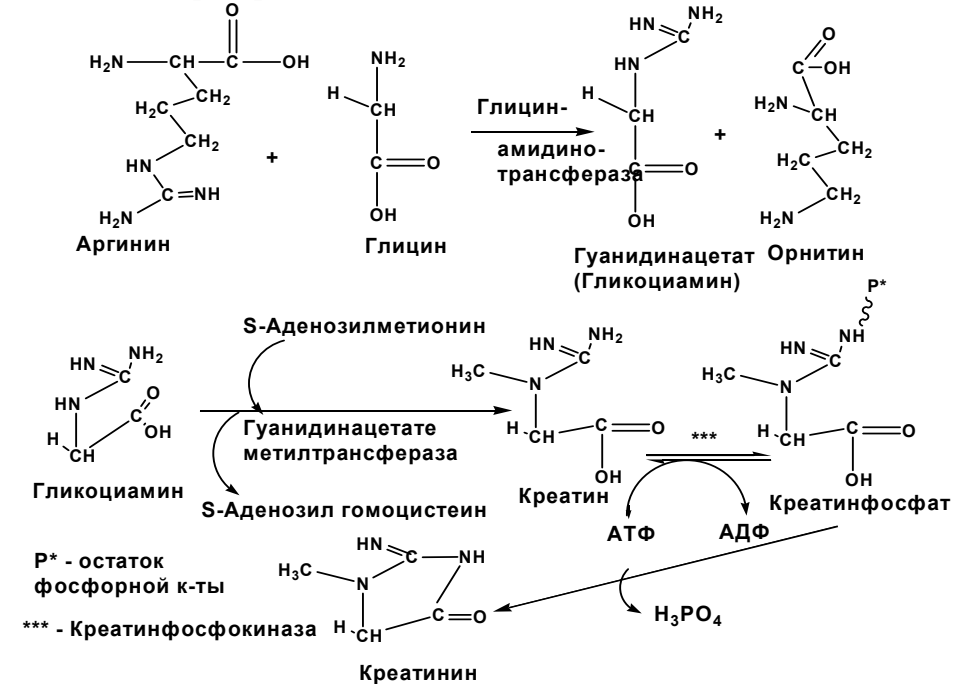


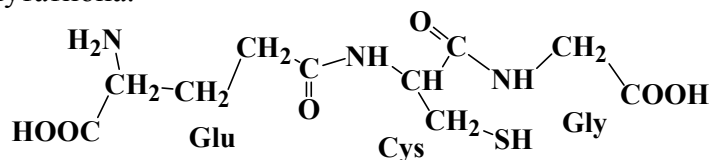
Рис. 8. Образование креатина, креатинфосфата и креатинина в тканях человека.

Креатин, креатинфосфат, креатинин и активность креатинфосфокиназы являются диагностическими показателями, которые позволяют оценить функцию печени (по содержанию креатина), почечной, мышечной тканей (по содержанию креатина и активности креатинфосфокиназы) при различных заболеваниях

Таблица 2. Нормы содержания креатина, креатинина и общей активности креатинфосфокиназы

Показатель сыворотки крови, единицы	Мужчины	Женщины
Креатин, мкмоль/л	15,25-45,75	45,75-76,25
Креатинин, мкмоль/л	80-115	53-97
Креатинфосфокиназа (общая активность, мккат/л)	0,26-1,79	0,17-1,36

Цистеин, глицин и глутаминовая кислота участвуют в синтезе глутатиона.



Данный трипептид, благодаря наличию свободной сульфгидрильной группы цистеина, может быть представлен в восстановленной (G-SH) и окисленной (GS-SG) формах в структуре ферментов, либо в свободном состоянии.

G-SH является биологически активным соединением, участвующим в окислительно-восстановительных процессах:

- он служит в качестве сульфгидрильного буфера, поддерживающего окислительно-восстановительные системы клетки, создавая некий баланс для их существования;
- он участвует в качестве кофермента в функции специальной транспортной системы, локализованной

- в цитоплазматической мембране, для дикарбоновых и ароматических аминокислот (γ -глутамилтрансфераза);
- он служит коферментом антиоксидантной ферментной системы, необходимой для обезвреживания пероксида водорода и органических пероксидов типа $R_1-O-O-R_2$ (глутатионпероксидаза);
 - в качестве кофермента глутатионтрансферазы печени он участвует в обезвреживании метилмеркаптанов.

ПУТИ ОБРАЗОВАНИЯ АММИАКА В ОРГАНИЗМЕ

Основными путями образования аммиака в организме являются:

1. Дезаминирование аминокислот.
2. Дезаминирование биогенных аминов.
3. Дезаминирование пуриновых и пиримидиновых оснований.
4. Дезаминирование амидов аминокислот (аспарагина и глутамина).

Аммиак токсичен для организма. Особенно чувствительна к нему центральная нервная система. При избыточном накоплении аммиака в организме могут возникать тяжелые функциональные расстройства со стороны ЦНС: возбуждение, угнетение дыхания, появление судорог. Содержание аммиака в крови человека не должно превышать больше, чем 60 мкмоль/л. Концентрация аммиака около 3 ммоль/л является летальной для животных (опыты на кроликах).

В процессе эволюции возникли специальные механизмы обезвреживания аммиака. У большинства животных аммиак сначала превращается в нетоксичное соединение и в таком виде переносится кровью от периферических тканей к печени или почкам.

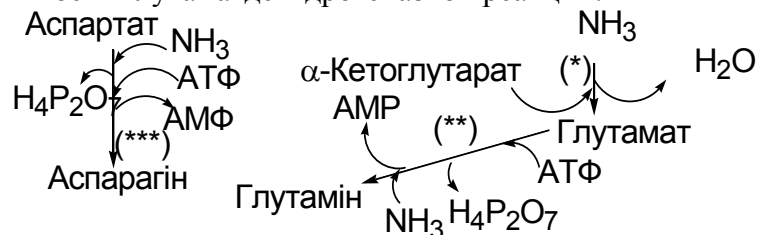
Основные пути обезвреживания аммиака:

- образование амидов аминокислот (аспарагина и глутамина);
- восстановительное аминирование α -кетоглутарата;
- биосинтез мочевины;
- образование аммонийных солей.

Пути утилизации аммиака ассоциированы с типом ткани:



Во многих тканях, включая мозг, сетчатку, печень, почки, мышцы, аммиак вступает в реакцию с глутаминовой или аспарагиновой кислотой при действии соответствующих синтетаз. Часть освободившегося аммиака связывается с α -кетоглутаровой кислотой в процессе восстановительного аминирования, благодаря обратимости глутаматдегидрогеназной реакции:



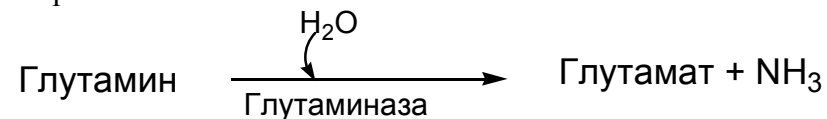
* -- Глутаматдегидрогеназа (НАДН / НАДФН)

** -- Глутаминсинтетаза

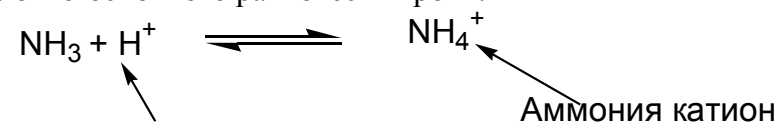
***-- Аспарагинсинтетаза

Образовавшиеся амиды (глутамин, аспарагин) представляют собой транспортную форму аммиака в организме. Кровотоком они могут быть отправлены в печень, либо в почечную ткань, где

происходит их гидролиз под действием глутаминазы, либо аспарагиназы с образованием, соответственно, глутамата или аспартата и аммиака:



В печени аммиак утилизируется в орнитиновом цикле с образованием мочевины. В почках образовавшийся аммиак нейтрализует кислые метаболиты крови с образованием аммонийных солей – это один из путей поддержания почками кислотно-основного равновесия крови:



Кислоты-доноры протонов в крови

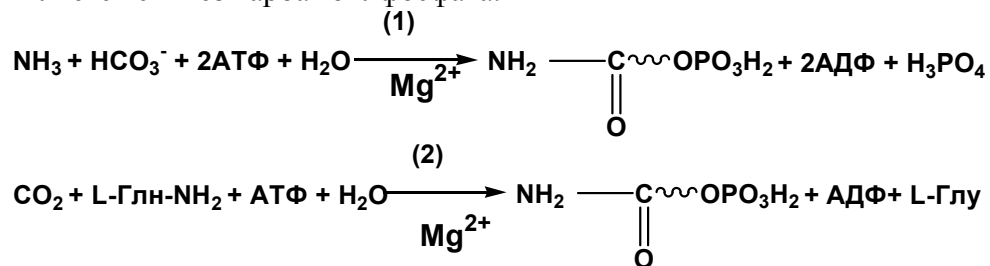
Аммония катион

Особую роль в переносе аммиака из мышц играет аланин, участвующий в глюкозо-аланиновом цикле. В первой реакции этого цикла аммиак, образующийся в мышцах, переходит в структуру α-кетоглутарата под действием глутаматдегидрогеназы с образованием глутамата. Глутамат является донором аминогруппы для пирувата - продукта гликолиза; реакцию переноса аминогруппы на пируват катализирует аланинаминотрансфераза. Аланин выходит из мышечных клеток в кровь и достигает печени. В гепатоцитах аланинаминотрансфераза катализирует трансаминирование аланина с образованием вновь глутамата и пирувата. Глутамат под действием глутаматдегидрогеназы печени опять может превращаться в α-кетоглутарат и аммиак, который обезвреживается в орнитиновом цикле путем синтеза мочевины.

ОРНИТИНОВЫЙ ЦИКЛ СИНТЕЗА МОЧЕВИНЫ

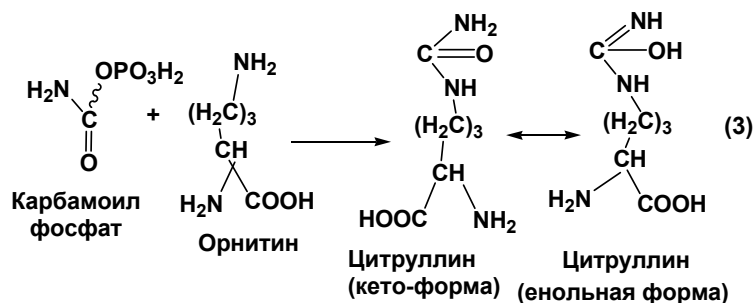
В 1932 году Г. Кребс и К. Хензелайт изучили реакции синтеза мочевины, которые получили название цикл

мочевинообразования Кребса. Начальной реакцией этого цикла является синтез карбамоилфосфата.

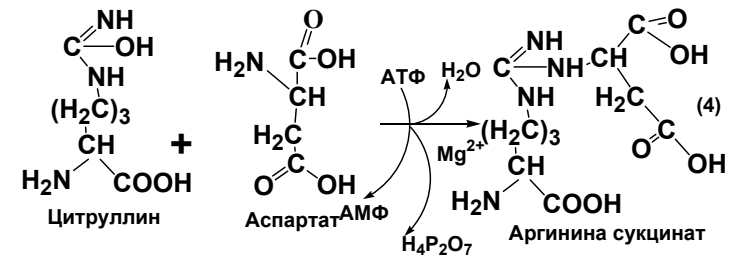


Карбамоилфосфатсинтетаза (1), локализованная в матриксе митохондрий, является аллостерическим ферментом синтеза мочевины: его активность повышается только в присутствии N-ацетилглутамата. Цитозольная изоформа данного фермента (2) не регулируется данным веществом. Карбамоилфосфат является макроэргическим соединением.

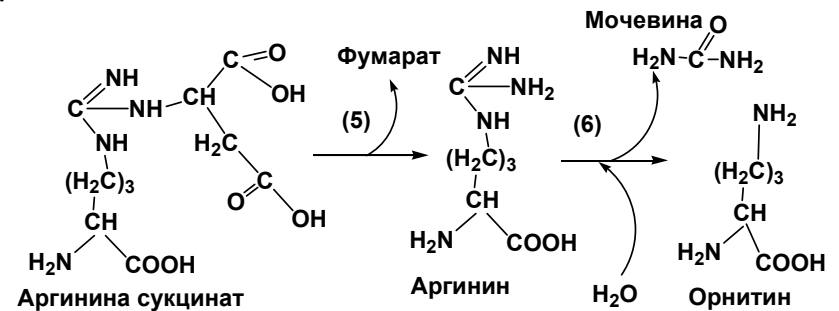
Орнитинкарбамоилфосфаттрансфераза осуществляет перенос фрагмента карбамоила в структуру орнитина, в результате чего образуется цитруллин (3).



В цитруллине (до его взаимодействия с аспарагиновой кислотой) происходит внутримолекулярная изомеризация, и только потом образуется аргининосукцинат под действием аргининосукцинатсинтетазы (4).



Аргининосукцинат в следующей реакции, катализируемой лиазой, разрушается до фумарата и аргинина (5), который под действием аргиназы печени разрушается до мочевины и орнитина (6):



Фумарат используется в цикле трикарбоновых кислот для регенерации оксалоацетата, который при трансаминировании с глутаматом вновь превращается в аспарат. Таким образом, реакции превращения фумаровой кислоты представляют собой звено, связывающее цикл мочевины с циклом лимонной кислоты. Реакции (1), (3) локализованы в матриксе митохондрий. Транспорт ионов бикарбоната и аммония, веществ орнитина и цитруллина через мембраны митохондрий осуществляют специальные белки-переносчики.

Синтез мочевины является необратимым циклическим процессом в котором постоянно происходит регенерация орнитина с энергетическими затратами:

3 моля АТФ в расчете на 1 моль образующейся мочевины

Основным поставщиком АТФ является процесс окислительного фосфорилирования, локализованный в митохондриях печени.

Регуляция орнитинового цикла мочевинообразования:

При диете, лишенной белков, экскреция мочевины с мочой составляет только 60% от азотистых соединений, представленных в химическом составе мочи (80%, при сбалансированной диете), активность ферментов орнитинового цикла при этом снижена.

При диете, содержащей высокий уровень белков (больше 100 г/сут) и при голодании, активность ферментов орнитинового цикла повышена.

Мочевина поступает из гепатоцитов в кровеносное русло и выделяется из организма с мочой. Синтетические пути организма человека не используют мочевины в качестве исходного субстрата. Однако, ошибочно считать мочевины инертным конечным продуктом азотистого обмена. Она обладает определенной биологической активностью, выступая в роли важного водорастворимого антиоксиданта. Проявляя антиоксидантные свойства, мочевины предупреждает повреждение мембранных липидов активными радикалами: производными кислорода (супероксид-анион, синглетный кислород, гидроперекисный радикал) и органическими радикалами типа RO-O[•].

Генетические дефекты ферментов орнитинового цикла

- ***Гипераммониемия типа I*** возникает при нарушении синтеза карбамоилфосфатсинтетазы
- ***Гипераммониемия типа II*** развивается при дефиците орнитин карбамоилфосфат-трансферазы
- ***Цитруллинемия и цитруллинурия*** возникают при недостатке в печени аргининосукцинатсинтетазы
- ***Аргининосукцинатная ацидемия*** наблюдается у больных при дефиците аргининосукцинатлиазы

- **Гипераргининемия и аминокацидурия с высоким содержанием аргинина в моче** возникает при нарушении синтеза аргиназы печени.

Наиболее тяжелыми заболеваниями являются первые два генетических нарушения. Данные патологии диагностируют у новорожденных в первую неделю после рождения. У новорожденного с дефицитом карбамоилфосфатсинтетазы наблюдаются: эпизодическая энцефалопатия, конвульсии, атаксия. Кроме этого, у ребенка наблюдается рвота после кормления, возможно возникновение летаргии. При безбелковой диете ребенка смертельный исход неизбежен в первую неделю жизни. При отсутствии терапевтической коррекции состояния у больного развивается умственная отсталость, так как к первому году жизни у ребенка наблюдается обширное поражение тканей головного мозга. Данное патологическое состояние сопровождается снижением сродства ферментов к тиаминпирофосфату, поэтому наряду другими медикаментами больному ребенку назначаются терапевтические дозы тиамина.

Использование показателей: мочевины плазмы крови и остаточный азот крови в диагностике заболеваний

Содержание мочевины в плазме крови здоровых взрослых людей колеблется в пределах 3,3-6,6 ммоль/л. Данный показатель плазмы крови является наиболее важным для оценки состояния азотистого обмена тканей организма человека. Большею частью он определяется в клинике параллельно с другим показателем азотистого обмена – **остаточный азот крови**.

Остаточный азот крови – это общее содержание азота всех азотсодержащих соединений крови (мочевины, свободных аминокислот, креатина, креатинина, мочевой кислоты, биогенных аминов, конъюгированного билирубина, гиппуровой кислоты, индикана, нуклеозидов и др.), за исключением азота белков.

Остаточный азот крови у здоровых взрослых людей равен 25-35 мг% или 15-25 ммоль/л.

Отношение азота мочевины к остаточному азоту плазмы крови не превышает 48% у здоровых взрослых людей. Если это отношение у пациента больше вышеуказанной величины, то констатируют состояние «**азотемия**».

Различают ретенционную и продукционную азотемии:

- **Ретенционная азотемия** наблюдается при почечной недостаточности, обусловлена увеличением уровня мочевины в крови за счёт нарушенной фильтрации мочевины в почечных канальцах. Содержание мочевины в плазме крови может достигать значений 50 – 83 ммоль/л.
- **Продукционная азотемия** наблюдается у пациентов с активной деградацией тканевых белков, что имеет место при диффузных воспалительных процессах в тканях, обширных ожогах, при кахексии.

Снижение содержания мочевины в крови наблюдается у пациентов с заболеваниями печени: хронических гепатитах, циррозе печени.

При нормальной функции почек мочевина практически полностью экскретируется из организма и составляет 333 – 583 ммоль/сут в моче здоровых людей.

АМИНОАЦИДУРИИ: ТИПЫ, ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ДИАГНОСТИКА

Аминоацидурия – патологическое состояние, сопровождающееся увеличением экскреции одной или нескольких аминокислот почками. У здоровых людей аминокислоты практически полностью реабсорбируются в почечных канальцах и не выделяются с мочой. Большой частью возникновение аминоацидурий обусловлено нарушением синтеза либо регуляции функции транспортных систем для аминокислот. Название аминоацидурий ассоциировано, главным образом, с названием

аминокислот, которые в большой концентрации появляются в моче. Рассмотрим некоторые из них:

- **Цистинурия.** Нарушена абсорбция основных аминокислот и цистина (димера цистеина) в тонком кишечнике и почечных канальцах, суммарный эффект этих нарушений – аккумуляция вышеуказанных аминокислот в моче. Цистин является веществом плохо растворимым в водной фазе, поэтому его накопление приводит к формированию кристаллов цистина, образованию камней в почках, что сопровождается развитием мочекаменной болезни. При лечении цистинурии больному назначают прием больших объемов жидкости и пеницилламин.

- **Глицинурия.** Нарушена абсорбция пролина, гидроксипролина и глицина в почечных канальцах. Серьезных нарушений в обмене веществ больного не наблюдается, за исключением высокой экскреции вышеуказанных аминокислот с мочой.

- **Цистиноз.** Это редкое наследственное заболевание, сопровождающееся нарушением синтеза транспортной системы для цистина в почечных канальцах. Кристаллы цистина при его аккумуляции в крови накапливаются в тканях и органах, в ретикуло-эндотелиальной системе, развивается почечная недостаточность. Больные данной патологией умирают в ранней молодости.

- **Гистидинемия и гистидинурия.** Это редко встречающееся наследственное заболевание. В его основе лежит нарушение синтеза фермента гистидазы, катализирующей реакцию разрушения гистидина до уроганиновой кислоты. Обмен гистидина при этом идет по пути образования имидазолпировиноградной кислоты. Ведущим клиническим симптомом гистидинемии у детей является отставание в психическом и физическом развитии. При обследовании у больных выявляется повышенный уровень гистидина в крови, в моче и спинномозговой жидкости. В моче обнаруживаются такие продукты обмена гистидина, как имидазолпировиноградная, имидазолмолочная кислоты и ацетилгистидин.

- **Тирозиноз** – редкое наследственное заболевание. При нем происходит нарушение одного из путей обмена тирозина, которое связано с нарушением превращения парагидроксифенилпировиноградной кислоты в гомогентизиновую. Развивается тирозинемия и тирозинурия.

8. Тесты для определения заключительного уровня знаний студентов по теме занятия

1. Трансдезаминирование считают наиболее активным катаболическим путем превращений аминокислот в организме человека. Это объясняется тем, что:
 - A. Большинство аминокислот включаются только в трансаминирование
 - B. Большинство аминокислот включается в гидролитическое дезаминирование
 - C. Большинство аминокислот не способны включаться в прямое дезаминирование
 - D. Только три аминокислоты способны к декарбоксилированию
 - E. Прямое дезаминирование есть только для аланина
2. При недостаточности витамина В₆ у больного возникают эпилептиформные судороги. Найдите причину данного явления:
 - A. Снижается активность трансаминаз
 - B. Снижается активность глутаматдекарбоксилазы
 - C. Увеличивается образование мочевины в печени
 - D. Возникает гипергликемия
 - E. Нарушается синтез гема гемоглобина
3. Состояние азотемии диагностируют по одному из небелковых азотистых компонентов плазмы крови. Назовите его:
 - A. Билирубин прямой
 - B. Билирубин непрямой
 - C. Мочевая кислота
 - D. Креатин
 - E. Мочевина

4. У больного определена концентрация мочевины в плазме крови (результат значительно превышает норму) и в моче (результат ниже нормы). Укажите возможную причину этих изменений у пациента:

- A. Острая почечная недостаточность
- B. Поражена паренхима печени
- C. Наблюдается обтурация желчных протоков
- D. Усилен гемолиз эритроцитов
- E. Пациент болен подагрой

5. Исследуемый фермент относится к классу оксидоредуктаз, содержит кофермент НАД⁺, участвует в окислительном дезаминировании одной из заменимых аминокислот и в восстановительном аминировании α -кетоглутарата. Найдите название данного фермента:

- A. D-оксидаза аланина
- B. Аланинтрансаминаза
- C. Глутаматдегидрогеназа
- D. Аспартаттрансаминаза
- E. Аргиназа

6. В нейронах головного мозга аммиак не утилизируется путем образования мочевины. Назовите конечный продукт утилизации NH₃ в головном мозге:

- A. Глутаминовая кислота
- B. Аспарагиновая кислота
- C. Карбамоилфосфат
- D. Глутамин
- E. Аланин

7. При наследственном нарушении синтеза одного из ферментов у ребенка определяют появление фенилпирувата в моче. Назовите данный фермент:

- A. Фенилаланингидроксилаза
- B. Тирозингидроксилаза
- C. 5-триптофангидроксилаза
- D. Глицинамидаза
- E. Пролингидроксилаза

8. В моче ребенка обнаружена большая концентрация гомогентизиновой кислоты, окисление которой кислородом воздуха изменяет окраску мочи до чёрно-бурого цвета. Выберите диагноз больного:

- A. Болезнь Хартнупа
- B. Фенилкетонурия
- C. Тирозиноз
- D. Базедова болезнь
- E. Алкаптонурия

9. Одним из важных показателей межучного обмена аминокислот является остаточный азот плазмы крови. Найдите определение этого показателя:

- A. Суммарный азот свободных аминокислот
- B. Суммарный азот биогенных аминов в плазме крови
- C. Суммарный азот всех небелковых азотистых соединений крови
- D. Разность между белковым азотом и азотом свободных аминокислот
- E. Суммарный азот общих фосфолипидов крови

10. Накопление биогенных аминов в тканях происходит при нарушении функции фермента, который способен дезаминировать их структуру. Назовите этот фермент:

- A. Дегидрогеназа аминокислот
- B. Оксидаза L-аминокислот
- C. Трансаминаза аланина
- D. Моноаминооксидаза
- E. α -Декарбоксилаза

9. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

1. Определение содержания мочевины в сыворотке крови

Принцип метода:

Мочевина с диацетилмонооксимом в присутствии ионов Fe^{3+} и тиосемикарбазида образует комплекс красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации мочевины в пробе.

Ход работы:

В пробирку отмеряют по 1мл растворов диацетилмонооксима и концентрированной серной кислоты. К полученной смеси прибавляют 0,01 мл сыворотки крови. Пробу перемешивают, пробирку закрывают алюминиевой фольгой и помещают в кипящую водяную баню на 10 минут. Аналогичным образом одновременно обрабатывают эталон и контрольную пробу. После кипячения содержимое пробирок быстро охлаждают в токе холодной воды и на фотоколориметре определяют оптическую плотность пробы (А) и этанола (Б) против контрольного раствора. Измерение проводят в течении 15 мин после охлаждения проб.

Приготовление проб	проба	эталон	контроль
Сыворотка (мл)	0,01	-	-
Эталон мочевины (мл)	-	0,01	-
Дистиллированная вода (мл)	-	-	0,01
Смесь реактивов (серная кислота + диацетилмонооксим) (мл)	2,0	2,0	2,0

Расчет по формуле: $X=8.32 \times (A/B)$ ммоль/л

В сыворотке крови здорового человека содержится 3,33-6,72 ммоль/л мочевины

2. Определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) в плазме крови

Принцип метода:

В результате трансаминирования аланина и α -кетоглутарата, которое происходит под действием АлАТ, образуются глутаминовая и пировиноградная кислоты. При добавлении 2,4-динитрофенилгидразина в щелочной среде образуется окрашенный раствор гидразона пировиноградной кислоты, интенсивность окраски которого пропорциональна активности фермента. Оптическую плотность раствора определяют фотоколориметрическим методом.

Ход работы:

Готовят реакционные смеси в соответствии со схемой:

Отмерить в пробирку, мл	Исследуемая проба	Контрольная проба
Субстратно-буферный раствор	0,5	0,5
Инкубация 3 минуты при 37 ⁰ С		
Стоп реагент	-	0,5
Плазма крови	0,1	0,1
Инкубация 30 минут при 37 ⁰ С		
Стоп реагент	0,5	-
Инкубация 20 минут при комнатной температуре		
0,4 N NaOH	5	5
Инкубация 10 минут при комнатной температуре		

Измеряют оптическую плотность исследуемой пробы против контрольной при 490-540 нм (светло-зеленый светофильтр) в кюветах с толщиной слоя 10 мм. Активность фермента проводят по калибровочному графику.

В плазме крови здоровых людей активность АлАТ составляет 5-30 ЕД/мл (0,1-0.7 мкмоль/мл·час

3. Определение активности аспаратаминотрансферазы (АсАТ)

Принцип метода:

Продукт АсАТ реакции – оксалоацетат включается в реакцию декарбоксилирования с образованием пирувата, который в дальнейшем дает с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде гидразон коричневого цвета. Интенсивность окраски пропорциональна количеству освободившейся в ходе реакции пировиноградной кислоты и активности определяемого фермента.

Ход работы:

В две пробирки наливают по 0,5 мл субстратно-буферного раствора для определения АСАТ. В опытную пробирку добавляют 0,1 мл сыворотки крови и инкубируют обе пробирки в суховоздушном термостате при 37° С в течении 30 минут. Вносят в контрольную пробирку 0,1 мл сыворотки. В обе пробирки добавляют по 0,5мл 2.4-динитрофенилгидразина и оставляют на 20 мин при комнатной температуре. Затем в обе пробирки добавляют по 5мл 0,4 М раствора NaOH. Перемешивают и оставляют на 10 мин для развития окраски. Оптическую плотность опытной пробы измеряют на фотоколориметре в кюветах с толщиной слоя 10 мм, против контроля при светло-зеленом светофильтре.

Расчет активности производят по формуле: $X=E \times 133$ (ЕД/мл)

где X – активность фермента; E-экстинкция; 133 – коэффициент пересчета 1 мкг ПВК (пировиноградная кислота)=0,0015 ЕД фермента: отсюда 1 ЕД = 133 мкг ПВК

В сыворотке крови здоровых людей активность АсАТ составляет 5-40 ЕД/мл (0.1-0.5 мкмоль/мл·час)

10. Перечень используемого оборудования при выполнении лабораторных работ

1. Фотоэлектроколориметр
2. Термостат
3. Секундомер
4. Водяная баня
5. Дозаторы с фиксированным объемом 0.1 мл; 0.01 мл (2 шт).

Литература:

1. Губський Ю.І. Біологічна хімія. - Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. - 508 с.
2. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. - Екатеринбург: Урал. рабочий, 1994. - 384 с.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник.-Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744 с.
4. Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н. и др. Биохимия. К.: Выща шк. Изд-во при КГУ, 1988. - 432 с.
5. Николаев А.Я. Биологическая химия. - М.: Мед. информац. агентство, 1998. - 496 с.
6. Хмелевский Ю.В, Губский Ю.И., Зайцева С.Д. и др. Биологическая химия: Практикум. - К.: Вища шк., 1985. - 212 с.
7. Лабораторні та семінарські заняття з біологічної хімії./ Л.М. Вороніна та ін.- Х.: Вид-во НфаУ; Оригінал, 2004.-384 с.
8. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. Основы патохимии. – Ч.2. – Санкт-Петербург: ЗЛБИ: СПб, 2000. – 688 с., ил.
9. Кушманова О. Д., Ивченко Г. М. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. – М.: Медицина, 1983. – 424 с.
10. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меншиков В.В. Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АЛЛ "Джангар", 1998. – 250 с., ил.
11. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под редакцией Е.С. Северина, А.Я. Николаева.–М.:ГЭОТАР–Мед., 2001.– 448 с.
12. Збірник тестових завдань з біологічної хімії для студентів вищих медичних навчальних закладів IV рівня акредитації./Під ред. проф.. Романенко М.І.- Запоріжжя. - вид. ЗДМУ.- 2005.-98с.
13. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т. - М.: Мир, 1993. - т.1 - 381 с.; т.2 - 414 с.

14. Боечко Л.Ф., Боечко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни: Навч. посібник. - К.: Вища шк., 1993. - 528 с.
15. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3 т.- М.: Мир, 1985. - 1056 с.
16. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. - М.: Мир, 1980. - 368 с.
17. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов. - М.: Медицина, 1985. - 432с.
18. Практикум з біологічної хімії. За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002.– 298 с.
19. Розен В.Б. Основы эндокринологии. - М.: Высш. шк., 1984. - 336 с.
20. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. - М.: Мир, 1986. - 374 с.
21. Halkerston I.D.K. Biochemistry: 2nd edition. The National medical series for independent study. - 1988. - 522 p.
22. Stryer L. Biochemistry. - W.H. Freeman and Company. New York. - 1995. - 1064 p.
23. R. K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell . Harper`s Illustrated Biochemistry., LANGE medical books, 26-edition, India, 2006.-868 p.
24. . Satyanarayana U., Chakrapani U. Biochemistry. – 3rd ed. - Kolkata:Books and Allied, India. – 2006. – 792 p.
25. Davidson V.L., Sittman D.B. Biochemistry. USA:Harwal Publishing. -1994. – 584 p.
26. William J Marshall, Stephen K Bangert. Clinical Chemistry. Fifth edition. – China:"Mosby". -2004. – 422 p.
27. Lieberman Michael; Marks Allan; Smith Colleen. Marks' Essential Medical Biochemistry, 2nd Edition. - Lippincott Williams & Wilkins. – 2007. – 540 p.
28. A. Lehninger. Principles of Biochemistry, fourth edition, 2000.(CD disk). – 1118 p.
29. Smith Colleen, Marks Allan, Lieberman Michael. Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach, 2nd Ed. - Lippincott Williams & Wilkins.- 920 p.

Підписано до друку _____ 2010 р.
Папір офсетний. Друк – ризограф.
Наклад _____ примірників
Замовлення № _____
Оригінал-макет виконаний на кафедрі біохімії та
лабораторної діагностики
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26