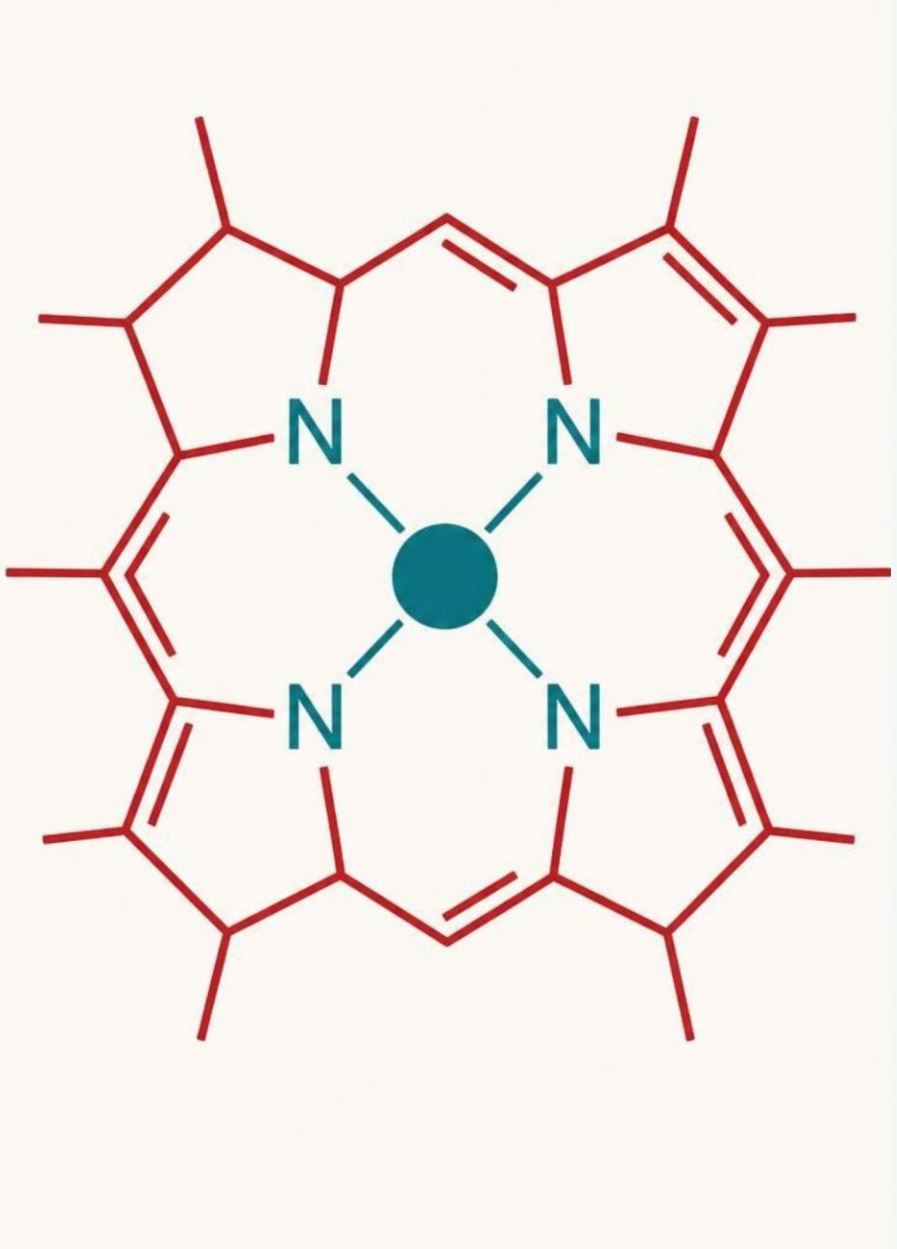
ОСНОВЫ БИОХИМИИ ЛЕКЦИЯ 12

Обмен хромопротеидов и нуклеопротеидов.



Лектор: к.х.н., ассоциированный профессор Литвиненко Ю.А.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ОБЗОР КЛАССОВ

Две группы сложных белков, два пути распада



Хромопротеиды

Белок + окрашенная простетическая группа: гем, флавины, каротиноиды.

Гем эритроцитов распадается в клетках мононуклеарной фагоцитарной системы. Желчный пигмент **билирубин** выводится со стулом (стеркобилин) и мочой.

Клинически: гипербилирубинемия, синдромы желтухи.



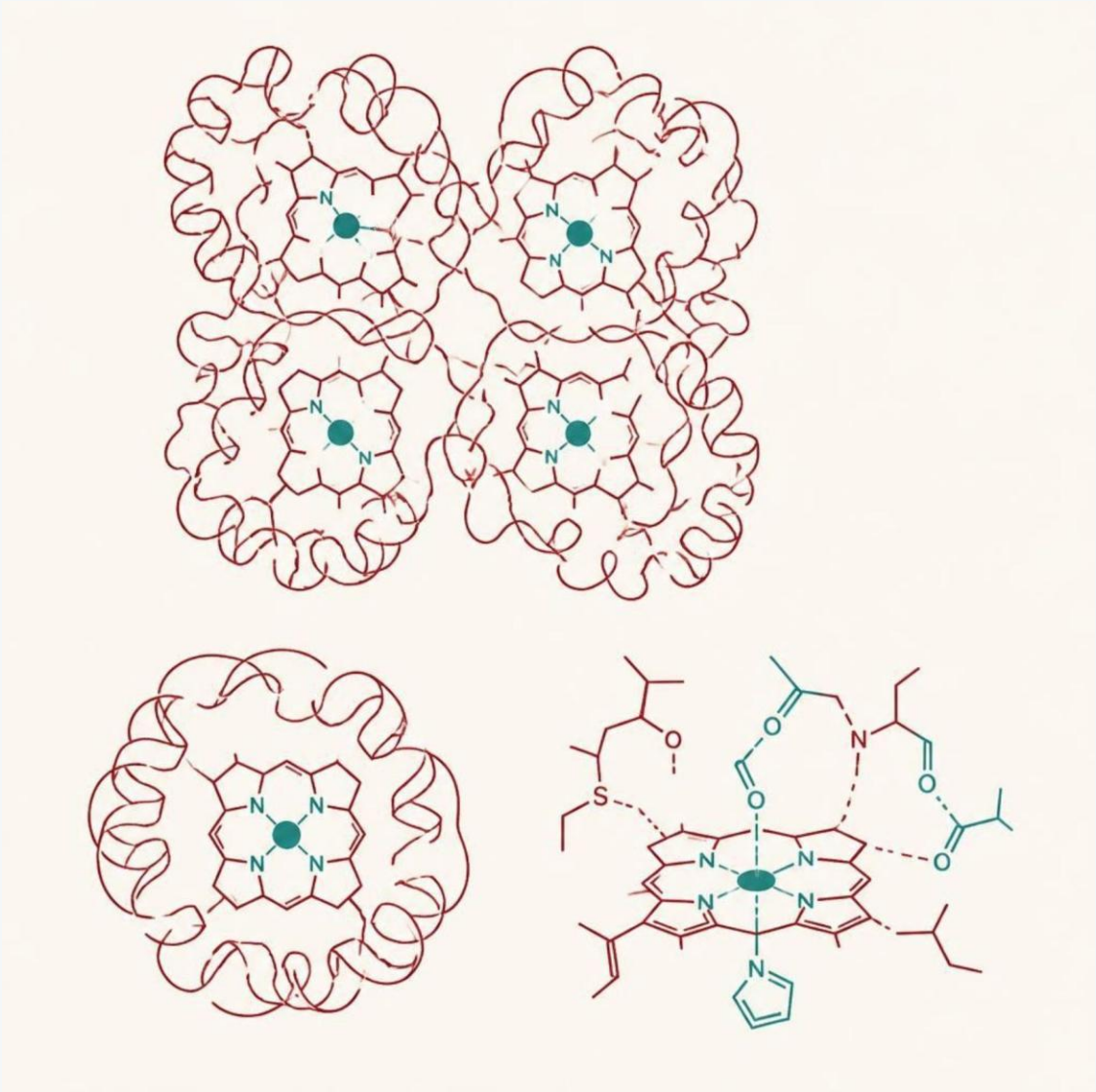
Нуклеопротеиды (ДНП и РНП)

Белок + нуклеиновая кислота: гистоны, рибосомы, вирусы.

Нуклеиновые кислоты расщепляются до свободных азотистых оснований; у человека пурины окисляются до малорастворимой **мочевой кислоты**.

Клинически: гиперурикемия, кристаллурия, подагрический артрит.

Хромопротеиды: гемопротеины в организме



Гемоглобин и миоглобин: транспорт и запас O_2. Гемоглобин эритроцитов обеспечивает системный кислородный обмен, миоглобин — резерв в скелетных мышцах и миокарде.

Цитохромы дыхательной цепи, каталаза, пероксидаза: цитохромы b, c_1, c, aa_3 переносят электроны в митохондриях; каталаза и пероксидаза нейтрализуют пероксид водорода до H_2O и O_2.

Цитохром P450 (CYP450) важен для фармации. Гемопротеин гладкого эндоплазматического ретикулума гепатоцитов катализирует I фазу биотрансформации гидрофобных лекарственных субстанций — микросомальное монооксигенирование.

АНАБОЛИЗМ ТЕТРАПИРРОЛОВ

Синтез гема идёт из глицина и сукцинил-КоА

АЛК-синтаза (B6). В митохондриях глицин и сукцинил-КоА образуют δ-аминолевулиновую кислоту. Фермент лимитирует процесс.

Порфобилиноген. В цитозоле АЛК-дегидратаза объединяет две молекулы АЛК в монопиррол — порфобилиноген (ПБГ).

Тетрапирролы. Четыре молекулы ПБГ циклизуются в уропорфириноген III, затем декарбоксилируются до копропорфириногена III.

Феррохелатаза. В митохондрии происходит окисление до протопорфирина IX; феррохелатаза внедряет Fe^{2+} с образованием гема.

МИТОХОНДРИЯ

АЛК-синтаза (B6)

Глицин + сукцинил-КоА → АЛК

→

ЦИТОЗОЛЬ

АЛК-дегидратаза

2 АЛК → порфобилиноген (ПБГ)

→

ДАЛЕЕ

Тетрапирролы

4 ПБГ → уропорфириноген III → копропорфириноген III

→

МИТОХОНДРИЯ

Феррохелатаза

Протопорфирин IX + Fe^{2+} → гем

Обратная связь: гем ингибирует δ-аминолевулинатсинтазу на уровне транскрипции и транспорта фермента в митохондрию. Кофермент — пиридоксальфосфат (витамин B_6).

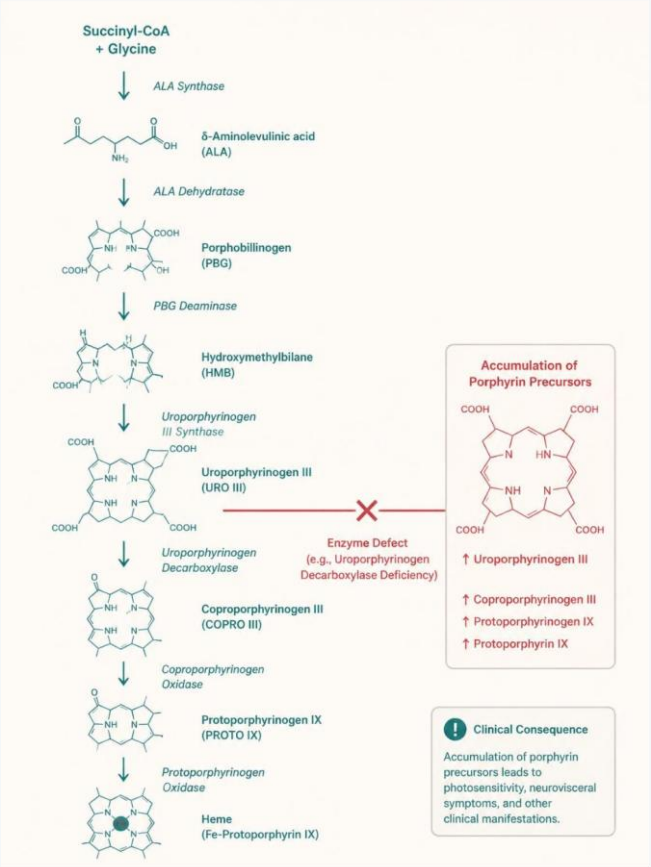
Нарушения синтеза гема: порфирии

Причина: наследственные или приобретённые порфирии связаны с генетическим дефектом ферментов синтеза гема и накоплением промежуточных метаболитов.

Фотосенсибилизация: порфириногены кожи под УФ-лучами окисляются в порфирины; синглетный кислород вызывает фотодерматозы, язвы и рубцевание.

Неврологические кризы: нейротоксичные АЛК и ПБГ вызывают острые схваткообразные боли в животе, полинейропатию и психозы.

Предостережение: барбитураты, сульфаниламиды, эстрогены и этанол индуцируют цитохром P450 и истощают свободный гем. Растормаживание АЛК-синтазы провоцирует жизнеугрожающий приступ острой порфирии.



КАТАБОЛИЗМ В МАКРОФАГАХ

Распад гема начинается в клетках макрофагов

Ежесуточно разрушается около **$1–2\times10^{11}$** стареющих эритроцитов (срок жизни ~120 дней). Утилизация идёт в клетках ретикулоэндотелиальной системы селезёнки и костного мозга, а также в купферовских клетках печени.

Гемоксигеназа

Окисляет α-метеновый мостик тетрапиррольного кольца гема: образуется линейный зелёный **биливердин**. Высвобождаются Fe^{2+} (идёт на ферритин) и токсичный монооксид углерода (CO).

Биливердинредуктаза

Цитозольный фермент за счёт НАДФН+H^+ восстанавливает центральный метениловый мостик биливердина в жёлто-оранжевый **билирубин** — неконъюгированный (непрямой), гидрофобный.

Связывание с альбумином

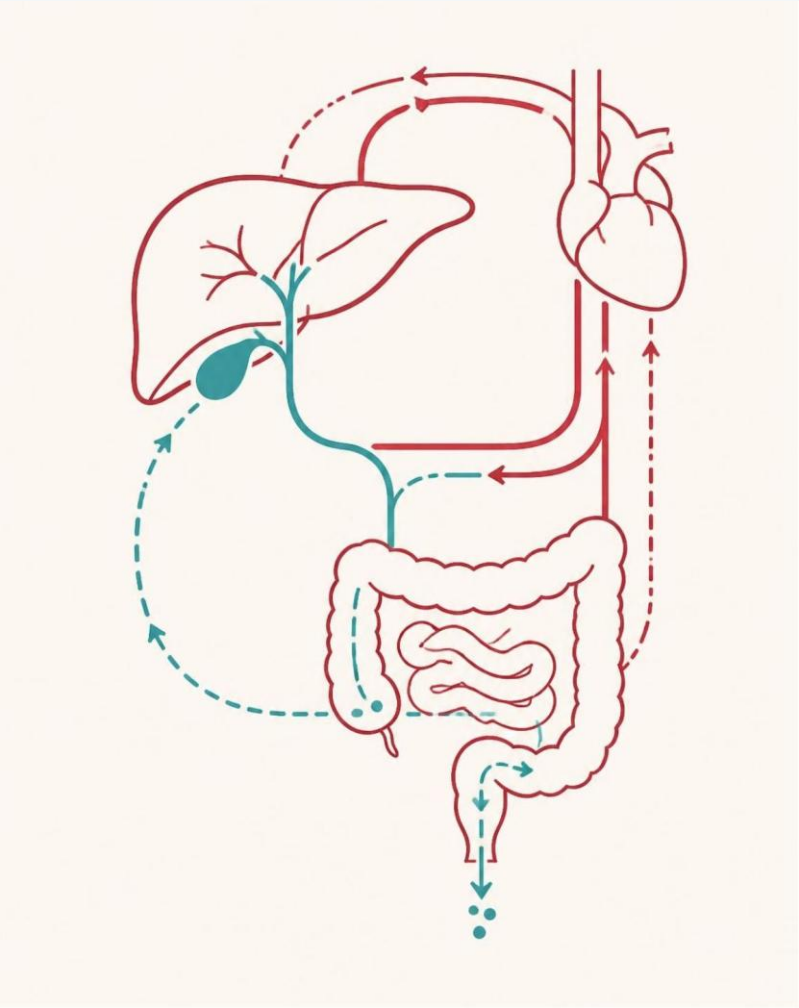
Из-за внутримолекулярных водородных связей билирубин нерастворим в воде и высокотоксичен для мембран нейронов. В крови переносится исключительно с альбумином сыворотки.

Билирубин: от крови до кала

Захват. Непрямой билирубин переносится альбумином. На синусоидальной мембране гепатоцита комплекс диссоциирует; билирубин связывается лигандинами (Y- и Z-протеины).

Конъюгация в ЭПР. УДФ-глюкуронилтрансфераза присоединяет два остатка глюкуроновой кислоты: получается водорастворимый билирубиндиглюкуронид (прямой билирубин).

Кишечник и выведение. Прямой билирубин активно секретируется в желчные канальцы. Бактериальные ферменты отщепляют кислоту и восстанавливают его до уробилиногена. Большая часть окисляется до стеркобилина, окрашивающего кал; меньшая всасывается и выводится почками как уробилин (моча).



Нормальные показатели билирубина

Общий билирубин: до 20 мкмоль/л; 8,5–20,5 мкмоль/л в сыворотке здорового взрослого — сумма двух циркулирующих фракций.



~75%

Непрямой

Свободный, липофильный; до 15,4 мкмоль/л. Переносится альбумином, не фильтруется почками; непрямая реакция с диазореактивом Ван ден Берга.



~25%

Прямой

Связанный глюкуронид; до 5,1 мкмоль/л. Конъюгирован с глюкуроновой кислотой, водорастворим; прямая реакция диазотирования без спирта.

Порог желтухи: склеры и кожа видимо желтеют при общем билирубине выше примерно **30–35 мкмоль/л**; субклиническая гипербилирубинемия — от 21 до 34 мкмоль/л.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ

Желтухи делят на три типа по месту нарушения

Надпечёночная

Гемолитическая

Массивный гемолиз эритроцитов: гемолитические яды, малярия, резус-конфликт. Образование билирубина многократно превышает мощность печёночной конъюгации; в крови резко повышен непрямой (свободный) билирубин.

Печёночная

Паренхиматозная

Повреждение мембран и ферментных систем гепатоцитов: вирусные гепатиты, алкогольный токсикоз, лекарственное поражение парацетамолом. В крови повышены обе фракции билирубина; регургитация пигментов в кровь.

Подпечёночная

Механическая / Обтурационная

Блок оттока желчи в двенадцатиперстную кишку: желчнокаменная болезнь, опухоль головки поджелудочной железы, спазм сфинктера Одди. В крови критически растёт прямой билирубин из-за обратного сброса в синусоиды.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ БИОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

Как отличить желтухи по анализам

Показатель	Гемолитическая	Печёночная	Механическая
Непрямой билирубин	↑↑	↑	N / ↑
Прямой билирубин	N	↑	↑↑
Билирубин в моче	нет	есть	есть
Уробилин в моче	↑↑	↑ / ↓	нет
Стеркобилин в кале	↑↑	↓	нет

Гемолитическая: тёмный кал, билирубина в моче нет. **Механическая:** тёмная моча, обесцвеченный кал.

Желтуха новорождённых и наследственные формы



Физиологическая желтуха. У 60% доношенных детей: временная незрелость УДФ-глюкуронилтрансферазы и усиленный распад фетального гемоглобина (HbF).

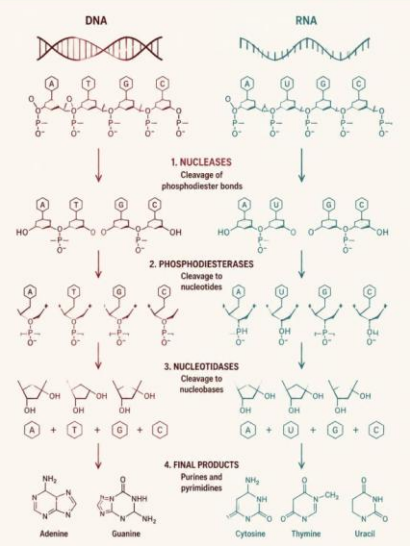
Фототерапия. Синий свет 420–470 нм превращает Z,Z-билирубин в растворимые стереоизомеры (люмирубин), выводимые с желчью и мочой без ферментативной конъюгации.

Синдром Жильбера. Доброкачественное снижение активности глюкуронилтрансферазы до ~30% нормы (мутация промотора UGT1A1). Провокаторы: стресс, голодание, некоторые ксенобиотики.

Синдром Криглера–Найяра. Тип I: отсутствие фермента; без трансплантации — фатальная ядерная желтуха. Тип II: мутация, активность фермента <10% нормы.

ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЙ ГИДРОЛИЗ НУКЛЕОПРОТЕИДОВ

Нуклеопротеиды: от ДНК до рибосом



С пищей поступает 1–2 г нуклеиновых кислот в сутки. Они не незаменимы: клетки синтезируют основания de novo.

Нуклеазы ЖКТ: ДНКазы и РНКазы панкреатического сока расщепляют полинуклеотидные тяжи до олиго- и мононуклеотидов.

Фосфатазы: фосфодиэстеразы и нуклеотидазы слизистой тонкого кишечника отщепляют фосфат, образуя нуклеозиды.

Нуклеозидазы: разрыв N-гликозидной связи высвобождает пуриновые и пиримидиновые основания и рибозу/дезоксирибозу. Основания всасываются; часть реутилизируется.

Большинство пищевых пуринов не включается в собственные нуклеиновые кислоты, а деградирует в энтероцитах до мочевой кислоты; ткани синтезируют нуклеотиды сами.

Синтез пуринов на рибозо-5-фосфате

Рибозо-5-фосфат → **ФРПФ** → **ИМФ** → **АМФ · ГМФ**

Путь de novo к ИМФ

Кольцо собирается поэтапно на рибозо-5-фосфате, а не свободно. ФРПФ-синтетаза с АТФ образует ФРПФ (5-фосфорибозил-1-пирофосфат).

Глутаминфосфорибозиламидотрансфераза переносит амидогруппу Gln — лимитирующая стадия.

Первый пуриновый нуклеотид — **инозинмонофосфат (ИМФ)**; из него образуются **АМФ** (ГТФ и аспартат) и **ГМФ** (АТФ и глутамин).

Доноры атомов кольца

Глицин целиком даёт C4, C5 и N7; **глутамин** — азот N3 и N9; **аспартат** — азот N1.

CO_2 (бикарбонат) — углерод C6; **N^{10}-формил-ТГФ (фолаты)** — углероды C2 и C8.

Метотрексат блокирует восстановление фолатов и репликацию опухолей — мишень химиотерапии.

КАТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ

Распад пуринов: мочевая кислота

Путь распада

АМФ → инозин → гипоксантин (дезаминирование и дефосфорилирование). ГМФ → гуанин → ксантин (гидролиз и дезаминирование).

Молибден-содержащая **ксантиноксидаза** окисляет гипоксантин до ксантина с участием кислорода и образованием H_2O_2, затем ксантин — до мочевой кислоты (2,6,8-триоксипурин), конечного продукта обмена пуринов у приматов.



Концентрация и растворимость

Норма в сыворотке: 0,12–0,42 ммоль/л (2,0–7,0 мг/дл). У женщин — до 0,36 ммоль/л, у мужчин — до 0,42 ммоль/л: половые стероиды влияют на почечный клиренс.

Предел растворимости: ~0,40 ммоль/л при pH 7,4 и 37°C. Превышение вызывает перенасыщение и преципитацию микрокристаллов моноурата натрия в тканях.

Выведение: почки — около 75%, кишечник — около 25% суточного выведения.

Подагра: когда мочевая кислота кристаллизуется

Стойкая гиперурикемия: игольчатые кристаллы моноурата натрия в синовиальной оболочке суставов и интерстиции почек вызывают острое фагоцитарное воспаление.

Первичная подагра: врождённые генетические дефекты — гиперактивность ФРПФ-синтетазы или дефект фермента реутилизации ГФРТ при синдроме Леша–Нихана.

Вторичная подагра: распад клеток при цитостатической терапии лейкозов (синдром лизиса опухоли), почечная недостаточность, избыток мяса и алкоголя в диете.

Фармакотерапия: Аллопуринол / Фебуксостат ингибируют ксантиноксидазу и образование мочевой кислоты; накапливаются более растворимые гипоксантин и ксантин.

Пробенецид, сульфинпиразон — урикозурики: блокируют реабсорбцию уратов в канальцах почек.



Пиримидины: синтез и распад



Синтез кольца и УМФ

В отличие от пуринов, кольцо замыкается до соединения с рибозофосфатом.

Карбамоилфосфатсинтаза II: глутамин и CO_2 → карбамоилфосфат в цитозоле. С аспартатом через дигидрооротат образуется шестичленное кольцо оротата.

ФРПФ: оротатфосфорибозилтрансфераза даёт ОМФ → УМФ. Из УМФ образуются УТФ, ЦТФ и ТМФ (дТМФ при участии тимидилатсинтазы).

Катаболизм и патология

Кольцо полностью расщепляется с раскрытием, без осаждения солей.

Растворимые продукты: β-аланин из урацила/цитозина, β-аминоизобутират из тимина, CO_2 и NH_3.

Оротатацидурия: наследственный блок синтеза УМФ; мегалобластная анемия и задержка развития. Терапия — пожизненный приём готового уридина.

Что важно для фармацевта-технолога

Мишени лекарств

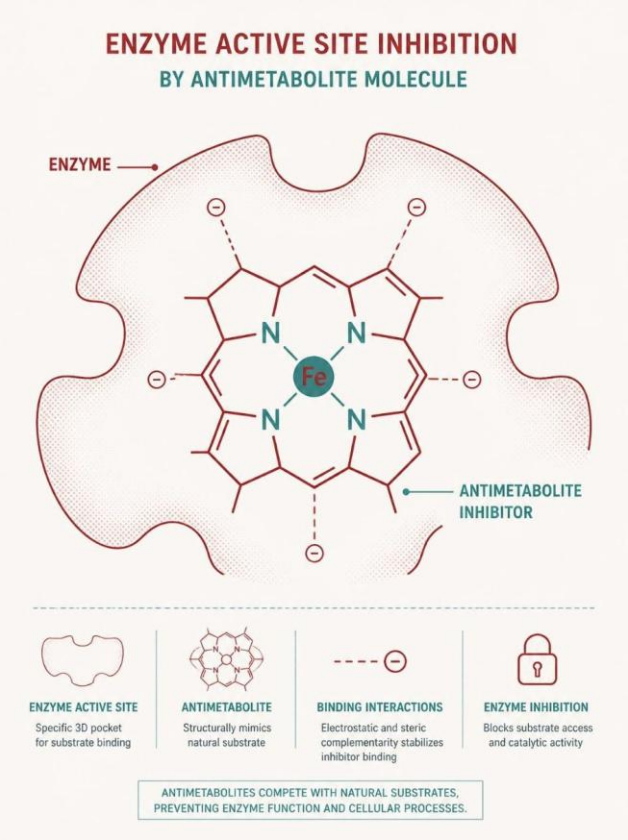
Ксантиноксидаза и противоопухолевые антиметаболиты: **5-фторурацил** — аналог урацила, блокирует тимидилатсинтазу и лишает клетку ТМФ; **6-меркаптопурин** — аналог гипоксантина, блокирует синтез АМФ и ГМФ; **метотрексат** ингибирует фолатный обмен.

Биотрансформация и взаимодействия

Цитохром Р450 определяет фармакокинетику более 50% всех лекарств. Индукторы (рифампицин, карбамазепин) ускоряют выведение других ЛС; ингибиторы (кетоконазол) вызывают передозировку.

Биохимический мониторинг

Сывороточный билирубин — обязательный тест на гепатотоксичность при клинических испытаниях новых субстанций. Мочевую кислоту контролируют при разработке цитостатиков; оба показателя — маркеры контроля терапии.



РЕЗЮМЕ ЛЕКЦИИ

Главное: два обмена, два маркера

Гем → биливердин → **билирубин**

Пурины → ксантин → **мочевая кислота**

ХРОМОПРОТЕИДЫ

Гем → биливердин → билирубин

Конъюгация с глюкуронатом в гепатоцитах. Желтухи: надпечёночная, печёночная и подпечёночная. Контроль активности CYP450 при синтезе лекарств.

НУКЛЕОПРОТЕИДЫ

Пурины → ксантин → мочевая кислота

Окисление ксантиноксидазой; гиперурикемия и подагра. Мишени современной химиотерапии: аллопуринол, 5-фторурацил, 6-меркаптопурин, метотрексат.

Практический вывод: оба пути образуют гидрофобные продукты распада, детоксикация и экскреция которых зависят от ферментных систем печени и почек. Знание путей помогает понять мишени лекарств.