

### 3. ФЕРМЕНТЫ КРОВИ

#### Креатинфосфокиназа

1. Адекватная работа мозга, сердца.
2. Обеспечение биоэнергетических процессов независимо от уровня кровоснабжения.
3. Синтез эндогенного неотона.
4. Снижение тромбообразования.
5. Регуляция количества внеклеточного фосфата.
6. Гомеостаз внутриклеточного кальция, стабилизация мембран, транспорт макроэргов.

#### Лактатдегидрогеназа

1. Триггер уровня глюкозы и липидов в плазме.
2. Маркер интеграции липидного и углеводного обменов.
3. Утилизация избытка лактата и пирувата.
4. Обеспечение гликолиза и глюконеогенеза.
5. Буферная роль для предотвращения ацидоза.
6. Регуляция внутриэритроцитарного pH и оксигенации гемоглобина.

#### Гамма-глутамилтранспептидаза

1. Адекватный уровень общего белка в плазме.
2. Антиоксидантные системы — глутатион.
3. Утилизация потенциально токсичных аминокислот из плазмы.
4. Обеспечение глюконеогенеза в условиях недостаточности инсулина.

5. Транспорт аминокислот через мембраны.
6. Маркер регенерации и онкогенеза.
7. Антигенные свойства.

#### Щелочная фосфатаза

1. Регуляция буферных систем.
2. Реципрокное обеспечение уровня внеклеточного кальция.
3. Уровень глюкозы в плазме.
4. Транспорт глюкозы в ткани.
5. Регуляция уровня внеклеточного фосфата.
6. Участие в мочевинообразовании.

#### Трансаминазы

1. Интеграция белкового обмена с липидным и углеводным.
2. Поддержание уровня общего белка.
3. Синтез аминокислот из метаболитов других видов обмена.
4. Синтез субстратов для гамма-глутамилтранспептидазы.
5. Участие в мочевинообразовании.
6. Вместе с коэффициент де Ритиса определяют уровень диспротеинемии.

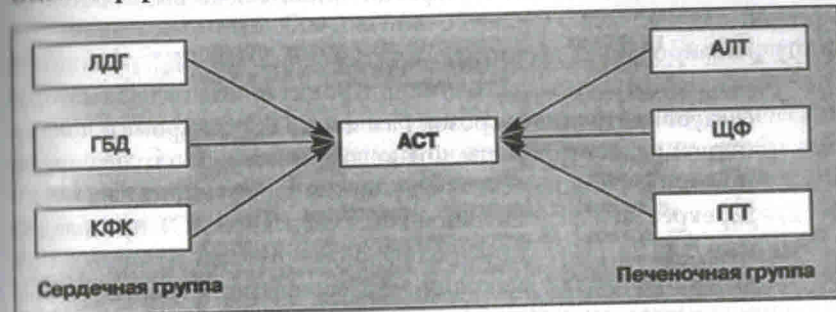
В норме ферментемия как важнейший элемент физиологической характеристики организма имеет несколько характерных типов:

- 1) банальная ферментемия в доклиническом варианте как эпизод встречи организма с вирусами, бактериями, токсинами, а также как показатель сбалансированности питания обычно на доклиническом этапе, когда нет симптомов заболевания или отравления;
- 2) индуцированная ферментемия как результат воздействия алкоголя, лекарственных средств чужеродных веществ;
- 3) онтогенетическая или возрастная, когда к моменту созревания активность ферментов снижается до оптимального уровня;
- 4) функциональная — чаще всего регистрируется по КФК и является результатом тахикардии при стрессе, высоких нагрузках и, например, беременности;
- 5) аферментемия как следствие несбалансированного питания или генетических особенностей. В клинике инфекционных болезней чаще всего встречается:
- 6) синдромальная;
- 7) токсическая — характеризует несостоятельность систем детоксикации;
- 8) парадоксальная ферментемия — усиление ферментемии на фоне клинического улучшения состояния;

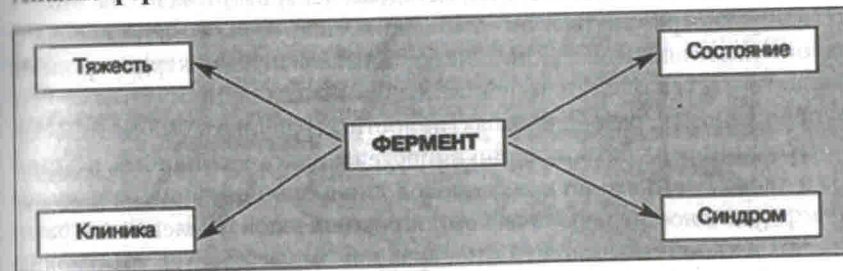
- 9) управляемая — ответ на воздействие терапии;
- 10) саногенетическая — наработка полезных метаболитов.

На доклиническом этапе у человека могут регистрироваться любые типы ферментемии, о которых следует знать и отличать их от истинно цитолитической.

#### Оценка ферментемии



#### Анализ ферментемии



#### Механизмы цитолиза

1. Вирусный.
2. Бактериальный.
3. Токсический.
4. Лекарственный.
5. ПОЛ — перекисное окисление липидов.
6. ИП — иммунокомплексное поражение.
7. ФМ — фосфолипазный механизм.
8. ОН — осмотическое набухание.
9. ЛП — лейкоцитарное повреждение.

Ферментемия как важнейший элемент клинической характеристики пока не заняла достойного места по следующим причинам: во-первых, нет полноценного курса клинической биохимии в систе-

ме подготовки врачей; во-вторых, поучаемые лабораторные данные несопоставимы в силу разнокачественности методов исследования; в-третьих, кровь как ткань имеет много функций, но важнейшая интегративно-информативная малопонятна; в-четвертых, только лабораторно-смысловая унифицированность позволит создать свой энзимолого-биохимический язык.

При патологии, особенно инфекционной, также выделяются характерные типы:

- 1) изолированная ферментемия, особенно по ЛДГ, как сигнал ранней тревоги за состояние эритроцитарного пула, за которой следует эритролиз с угрозой развития ТГС-синдрома и полиорганной недостаточности. Физиологически — это транспортная гипоксия, а клинически — тромбогеморрагические явления;
- 2) перекрестная ферментемия, когда сердечная АСТ преобладает над АЛТ в результате лихорадочно-интоксикационных проявлений в начале, а к концу заболевания регистрируются признаки поражения печени как результат сочетанного (бактерии, эндогенные метаболиты, мегадозы лекарств) токсикоза. Может регистрироваться по отношению АСТ/АЛТ, а не по абсолютным значениям. Клинически вначале нужны кардиотропные средства, а затем дезинтоксикационная терапия;
- 3) феномен разобщения активности сердечных КФК и АСТ характерен для ликворно-гипертензионного синдрома. Клинически объясняет ось: высокое ликворное давление → высокое удельное периферическое сопротивление → усиление сократительной способности миокарда или характеризует тахикардию лихорадочного периода. ЭКГ имеет гипоксический характер. Больному нужен коргликон, иногда ударная доза строфантина с сохранением на несколько дней поддерживающей терапии;
- 4) феномен разобщения активности печеночных АЛТ и ГГТ (глюконеогенез из аминокислот при помощи АЛТ требует последующего возврата аминокислот в клетки при помощи накапливающей ГГТ).

Таким образом, в анализе ферментемии должна соблюдаться вертикаль от клиники до молекулярного механизма, а часто и их соотношение. Любая форма инфекции имеет свое биохимическое лицо, часто соответствует тяжести состояния, что указывает на усиление поливалентного цитолиза. Ряд синдромов очень хорошо дополняется энзимологической картиной. Оценка ферментемии — это и учет функционально-генетического значения, которое объясняет энзимологические

сдвиги. Все это входит в понятие методологического и биохимического обоснования биохимических анализов.

Предложенная схема при всей условности кажется достаточно наглядной, так как выделяет центральные и периферические зоны метаболизма с их отчетливой специализацией. Особо видна биоэнергетическая роль КФК, роль ЩФ и ГГТ как внутриклеточных насосов и роль трансаминаз как важнейших регуляторов центральных метаболических путей. Совершенно очевидна более центральная роль АСТ, интегрированной в цикл трикарбоновых кислот. Биоэнергетика КФК вынесена за центр, чем и объясняется ее большая лабильность и адаптированность к разным физиологическим и патологическим ситуациям. Этой семерки ферментов вполне достаточно, чтобы дать основные представления о различных вариантах перестройки метаболизма в целом и, как на клавиатуре из семи нот, можно наиграть как марш Мендельсона, так и реквием Моцарта.

В практике клинических лабораторных исследований обычно используется определение семи наиболее популярных энзимологических параметров (см. табл. 6), которые имеют не только диагностический смысл, но и в большей степени отражают метаболические особенности любого организма. Именно метаболические сдвиги являются основой любых патогенетических проявлений заболевания и требуют первоначальной оценки, что связано с особым смыслом нахождения ферментов в крови. Выбор семи базовых ферментов позволяет хотя бы косвенно сопоставить уровни начальных и конечных метаболитов в крови в соответствии с активностью ферментов. Эта зловещая семерка ферментов фактически достаточна для получения полной биохимической информации о больном на основании биохимических сдвигов. «Семь раз отмерь — один раз отрежь, у семи няnek дитя без глаза, седьмая вода на киселе» — все это признаки информативной оптимальности числа 7 для получения достаточного знания по характеру ферментемии.

А исследование множества экзотических ферментов лишь подтверждает сложность метаболизма, а не определяет их конкретный физиологический смысл.

Кровь, помимо многочисленных фикций, является регулятором метаболических процессов. Особого внимания в клинике требуют следующие ферменты.

Обращает внимание разноуровненность ферментов, которая зависит от характера и интенсивности катализируемой реакции в метаболических путях. Ферменты являются одним из колебательных контуров живых систем, создающим стабильность основного биохимического

Таблица 1

## Сроки жизни ферментов и физиологический смысл ферментемии

| Название фермента     | Период полужизни | Физиологический смысл                               |
|-----------------------|------------------|---|
| АСТ                   | 17 ± 5 ч         | Субстратный контроль за циклом трикарбоновых кислот |
| АЛТ                   | 47 + 10 ч        | Глюкозоаланиновый шунт                              |
| Глутаматдегидрогеназа | 18 + 1 ч         | Интегратор метаболизма                              |
| ЛДГ <sub>1</sub>      | 113 + 60 ч       | Функционально полезна                               |
| ЛДГ <sub>5</sub>      | 10 + 2 ч         | Потенциально токсична                               |
| КФК                   | 15 ч             | Системная роль                                      |
| ЩФ                    | 3–7 дней         | Выход глюкозы из клетки                             |
| ГГТ                   | 3–4 дня          | Транспорт аминокислот и пептидов                    |
| Холинэстераза         | 10 дней          | Наработка ацетила                                   |
| Амилаза               | 3–6 ч            | Бессубстратна                                       |
| Липаза                | 3–6 ч            | Потенциально токсична                               |

## Лиганды плазмы Белки плазмы Глюкоза плазмы

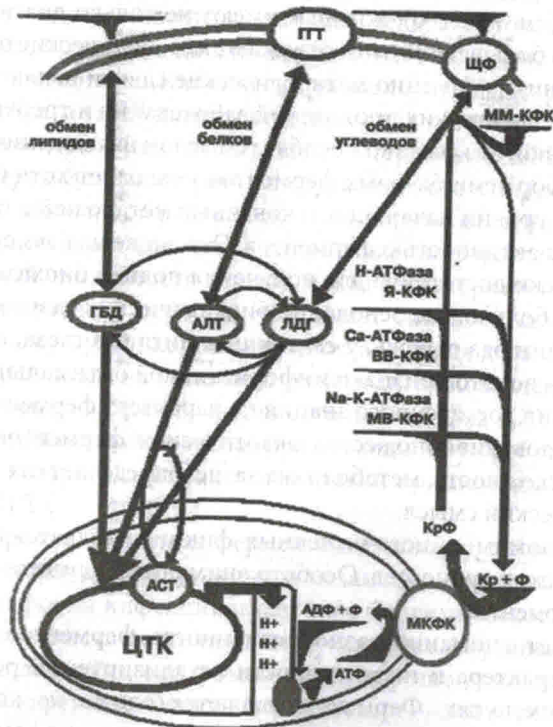


Таблица 6

## Средняя активность и характеристика ферментов

| Фермент                            | Активность | Характеристика |                  |
|------------------------------------|------------|----------------|------------------|
| АСТ — аспартаттрансаминаза         | 2.6.1.2    | 20–30 МЕ/л     | Стабильна        |
| АЛТ — аланинтрансаминаза           | 2.6.1.1    | 15–20 МЕ/л     | Стабильна        |
| АЛТ/АЛП — коэффициент де Ритиса    |            | 1,2–1,5        |                  |
| ЩФ — щелочная фосфатаза            | 3.1.3.1    | 100–120 МЕ/л   | Интервал ьна     |
| ГГТ — гамма-глутамилтранспептидаза | 2.3.2.2    | Около 10 МЕ/л  | Индукцируема     |
| ЛДГ — лактатдегидрогеназа          | 1.1.1.27   | 300–350 МЕ/л   | Константна       |
| ГДГ — гидроксibuтиратдегидрогеназа |            | 200–250 МЕ/л   | Константна       |
| КрФ — креатинфосфокиназа           | 2.7.3.2    | До 20 МЕ/л     | Очень вариативна |

нического параметра крови — общего белка. И только с учетом этого показателя возможно отслеживать нацеленное точечное воздействие экзогенных факторов. Мощность ферментных систем должна обеспечивать обновление белков печени наполовину за 10 дней, у инертных коллагеновых белков период обновления составляет 300 дней. Крысы с более высоким уровнем активности ферментов имеют средний период полуобновления белков в пределах 3,5 сут [23]. Коэффициент изнашивания (суточная потеря) по Рубнеру составляет 23 г белка на 70 кг веса. В сутки при этом выделяется 20–30 г мочевины при содержании в крови — 20–30 мг%. 100–120 г белка в сутки необходимо при общем калораже в 2500 ккал, и норма белка повышается на 10 г при увеличении калоража на 500 ккал. Мощность ферментов переваривания на примере пепсина составляет 50 кг белка за 2 ч — 1 г пепсина. Все ткани организма используют аминокислоты крови — 32–55 мг% — и накапливают их против градиента концентрации, так как в тканях их содержание значительно выше — до 500 мг%. Связано это не только с необходимостью использовать их для синтеза белка, но и стабилизировать их структуру и противояс мочевины. Однако только глицин, пролин и аланин не влияют на скорость ферментативных реакций, и поэтому для них должна быть избирательность. Глицин создает микроклеточную буферную среду для улучшения растворимости разных веществ. В лабораториях трис-глициновый буфер является оптимальным по растворимости буферным раствором для экспериментов. В сутки организм использует до 30 г аспарагиновой кислоты и до 40 г глицина, что не может быть обеспечено пищевыми белками [21]. Физиологическая мощность альбумина — 1 г удерживает 18 г воды.

Наибольший уровень активности приходится на ЛДГ и это связано с центральной ролью фермента в пересечении многих путей метабо-

лизма, особенно при переключении гликолиза на глюконеогенез. Сравнимую активность имеет ГБД не только в силу преимущественного образования пирувата (фактически ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>), но и в силу способности нейтрализовать избыток протонов (путем дегидрирования оксисиклот). Именно этим объясняется богатое представительство фермента в тканях с местной «буферной ролью» в клетках. В крови шаткая активность нужна для поддержания оптимального соотношения окисленного и восстановленного (выравнивание рН) субстратов.

ЛДГ способна катализировать образование как тупикового токсичного лактата, так и вариативного пирувата и фактически выполнять буферную роль по отношению к пулу кетокислот — полифункциональных метаболитов. ЛДГ создает фонд кетокислот для последующего трансаминирования, т.е. ферменты с большей активностью (ЛДГ) создают широкие метаболические возможности для ферментов с меньшей активностью и более узкой специфичностью (АСТ и АЛТ). Жесткий интервальный уровень активности фермента в крови необходим для создания оптимальной интенсивности и направленности потока важнейших метаболитов в зависимости от складывающихся физиологических условий.

ЛДГ (Е.С. 1.1.1.27 и 28) обнаруживается во всех тканях животных и человека, особенно в сердечной и скелетных мышцах, эритроцитах, печени и почках. Молекулярная масса ЛДГ равна приблизительно 140 000. Молекула ЛДГ представляет собой тетрамер, состоящий из одного или двух типов субъединиц Н и М, комбинации которых образуют 5 изоформ фермента: ЛДГ<sub>1</sub>, ЛДГ<sub>2</sub>, ЛДГ<sub>3</sub>, ЛДГ<sub>4</sub>, ЛДГ<sub>5</sub> [1]. Изоферменты ЛДГ типа М4 (ЛДГ<sub>5</sub>) и НМ3 (ЛДГ<sub>4</sub>) содержатся преимущественно в тех тканях, в которых энергия образуется за счет гликолиза (в белых скелетных мышцах или эмбриональных тканях). Изоферменты типа Н3М (ЛДГ<sub>2</sub>) и Н4 (ЛДГ<sub>1</sub>) встречаются в тканях, для которых характерен аэробный или дыхательный метаболизм [1]. Однако эритроциты с анаэробным гликолизом содержат ЛДГ<sub>1,2</sub>. В цитозоле герминативных клеток содержится тетрамерная ЛДГ-Х [2]. Существует гистологическая особенность распределения ЛДГ: так, в вентральной части прямой мышцы бедра (преимущественно красные мышечные волокна) содержание ЛДГ выше, чем в дорсальной части (преимущественно белые волокна). А при определении активности в срезе различия стираются и получают усредненные данные [24].

В физиологических условиях равновесие реакции, катализируемой ЛДГ, смещено в сторону образования лактата. В крови в норме содержание лактата 10–20 мг%, что на порядок выше, чем содержание

пирувата 0,8–1,2 мг% [22]. Восстановлением пирувата под действием ЛДГ завершается внутренний окислительно-восстановительный цикл гликолиза. Утомление мышц частично обусловлено развитием лактата в мышцах, и при гликолизе из каждой нейтральной молекулы глюкозы образуются две молекулы молочной кислоты, которая в анаэробных условиях поступает из мышц в кровь, где в печени превращается в глюкозу. В моче концентрация водородных ионов повышается в 800 раз.

Ферменты гликолиза образуют мультиферментные комплексы [3] и связаны с сократительными комплексами (F-актин и белок полиомерозин) [2, 3], а также сорбируются на мембранах и внутриклеточных компонентах с изменением их активности. Ассоциация ЛДГ и эритроцитарной мембраны зависит от рН среды. При увеличении рН каталитическая активность увеличивается, и оптимум рН для реакции восстановления пирувата в лактат — 6,5–7,5, а для обратной реакции (глюконеогенез) — 8,5–9,0 [2]. Связано это с особенностью строения активного центра: степень протонирования имидазола определяет способность фермента связываться с пируватом или лактатом. Арг-171 через гуанидиновую группу соединяется с карбоксильной группой пирувата, а карбонильная его группа соединяется с протонированным азотом гис-195 [23]. При нормальной рН крови (7,34–7,45) ЛДГ ассоциирована с эритроцитарной мембраной и активна в направлении гликолиза. В случае алкалоза ЛДГ теряет связь с эритроцитами и активируется в сторону глюконеогенеза в условиях дефицита энергетических метаболитов. При менингококковой инфекции развивается алкалоз и это ведет к значительной стимуляции гликолиза в эритроцитах, а если рН уменьшается или не изменяется, то гликолитическая активность эритроцитов остается константной [5].

Индукция ЛДГ — конечного фермента гликолиза — осуществляется эстрадиолом, прогестероном и тестостероном [6]. Инсулин, воздействуя на тирозинкиназу эритроцитов, проводит к росту активности гликолитических ферментов и особенно ЛДГ. В эритроцитах также содержится инсулиндеградирующий комплекс. Эритроциты, созревшие в условиях экспериментального и клинического диабета, обладают низкой активностью инсулиназы [8]. При диабете отмечается частое развитие кетоацидоза [9] и повышение активности ЛДГ для утилизации глюкозы тканями в условиях дефицита индуктора синтеза гликолитических ферментов — инсулина. Использование искусственной гипергликемии у больных раком легкого с повышением глюкозы до 22–30 ммоль/л сопровождалось изменением соотношения анаэробных и аэ-

## 8. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИИ КФК-СИСТЕМЫ

### 1. Компоненты КФК-системы

КФК-система является ключевой в обеспечении энергетического статуса клетки. КФК-система представляет динамичную структуру, осуществляющую транспорт макроэргов внутри клетки между различными органеллами, и состоит из четырех компонентов: креатина (Кр), креатинфосфокиназы (КФК), креатинфосфата (КрФ), креатинина (Кри).

Креатин является ключевым внутри- и внеклеточным метаболитом, который выполняет регуляторную роль в синтезе КФК, актина и тяжелых цепей миозина, активирует процессы дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях. Введение креатина извне приводит к ингибированию трансамидиназы, т.е. регуляция его синтеза протекает по типу отрицательной обратной связи [1, 2].

В мышечной и мозговой ткани при участии КФК креатин вступает в реакцию трансфосфорилирования с АТФ, превращаясь при этом в КрФ. Процессы, идущие в клетке с большим потреблением энергии — сокращение мышц, активный транспорт ионов в нервной ткани и саркоплазматическом ретикулуме мышечной ткани — сопровождаются расщеплением значительных количеств КрФ и накоплением креатина при постоянном уровне или небольших изменениях АТФ. КрФ относится к классу фосфагенов — высокоэнергетических фосфорилированных производных, играющих роль микроаккумулятора энергии в клетке. При физиологических условиях величина свободной энергии гидролиза фосфоамидиновой связи КрФ равна 9–10,8 ккал/моль (а у АТФ при распаде до АДФ всего 7,5 ккал/моль) [3].

Креатинин является продуктом распада креатина, у ряда одноклеточных организмов эта реакция катализируется креатининазой. Соотношение креатин/креатинин в норме жестко константно. В клинике инфекционных болезней, протекающих без поражения почек и со значительной активностью КФК, наблюдается следующая динамика соотношений креатин/креатинин. В начале и в разгаре болезни отмечается значительный подъем креатина, что совпадает с пиком активности КФК. Ближе к выздоровлению отмечается снижение уровня креатина, снижение активности КФК и значительный подъем уровня креатинина, что можно объяснить только особыми взаимодействиями в данной системе [4].

### 2. Функции и значение КФК-системы в соответствии с органеллами клетки

Большая часть клеток организма содержит полный спектр КФК-изоформ с преобладанием той или иной фракции в зависимости от функции органа. Выделяют по меньшей мере 5 внутриклеточных изоформ КФК: ММ-КФК, МВ-КФК, ВВ-КФК, Ми-КФК, Я-КФК.

Наибольшую важность для всех клеток представляет **Ми-КФК** (митохондриальная КФК). Эта изоформа является составной частью комплекса ААА (АТФ-АДФ-антипортер). ААА представляет собой микрокомпаратмент между внутренней и наружной мембраной митохондрий, осуществляющий транспорт макроэргов из матрикса митохондрий в цитозоль. Он состоит из порина, аденолиновой транслоказы и Ми-КФК. Между порином и Ми-КФК имеются прямые белок-белковые взаимодействия. Ми-КФК существует в двух формах — димерной и октамерной. ААА с помощью Ми-КФК осуществляет перенос фосфата с АТФ на Кр. КрФ является более предпочтительной формой транспорта макроэргов, чем АТФ, так как последняя имеет значительную молекулярную массу и при выходе в цитозоль быстро разрушается различными ферментами, не дойдя до места назначения. Необходимо также помнить о большей энергии, получаемой при распаде КрФ, чем при распаде АТФ. Выявлено два типа Ми-КФК: одна характерна для ткани мозга, другая — для миокарда [5, 8, 9].

**ММ-КФК** тесно сопряжена с миозиновой АТФазой, локализованной в области М-линии миофибриллы. Комплекс ММ-КФК и миозиновая АТФаза обеспечивают мышечное сокращение энергетическими субстратами. ММ-фракция выявляется в максимальном количестве в мышечной ткани, для которой характерна высокая структурная за-

груженность клетки, и для обеспечения нормального мышечного сокращения необходимо поддержание работы миозиновой АТФазы. Малое количество АТФ в цитозоле не способно обеспечить адекватные потребности различных клеточных АТФаз. Поэтому рядом с ними локализованы те или иные изоформы КФК, которые осуществляют дефосфорилирование КрФ, синтезированного с помощью Ми-КФК, с синтезом АТФ из АДФ [6].

Схожий механизм наблюдается и в случае **ВВ-КФК**. Данная изоформа тесно сопряжена с Na-K-АТФазой. Ионный статус клетки и ее рН имеют ведущее значение для протекания большинства биохимических реакций, необходимых для поддержания внутриклеточного гомеостаза. Наибольшее значение ионный статус имеет для адекватного функционирования нейронов, где и определяется максимальная активность ВВ-фракции. Синтез и распад КрФ также зависят от рН среды. На данном примере мы хорошо видим саморегулируемость КФК-системы [37]. ВВ-КФК определяется также в эндотелиальных клетках, клетках Купфера и синусоидах печени.

**МВ-фракция** в наибольшем количестве представлена в сердечной мышце. Однако в миокарде также представлены и другие фракции в значительно большем соотношении, чем в других тканях. МВ-изоформа сопряжена с саркоплазматическим ретикулумом и поддерживает гомеостаз  $Ca^{++}$ , являющегося основным фактором мышечного сокращения, что наиболее необходимо для сердечной мышцы. Кальций обладает выраженным действием на активность КФК, т.е. в данном случае тоже следует вести речь о саморегуляции КФК-системы [28].

**Я-КФК** — ядерная фракция КФК, также является составной частью одного из транспортных комплексов. В области ядерных пор локализована нуклеозидтрифосфатаза (НТФаза), для полноценной работы данного комплекса необходимо присутствие КФК [10].

**Ми-КФК** обеспечивает синтез КрФ в митохондриях, который является субстратом для работы всех фракций фермента. Комплексы КФК-АТФазы локализованы в основных структурно-биохимических узлах клетки. Преобладание той или иной изоформы КФК в различных тканях обусловлено необходимостью поддержания процессов, имеющих первостепенное значение для функционирования этих тканей.

### 3. КФК-система и регуляция биоэнергетики в клетке

Наличие митохондриальной КФК является обязательным условием для формирования механизма регуляции биоэнергетики при нали-

чи креатина, фосфокреатина и КФК, и ее содержание увеличивается как с возрастом, так и с возрастом культуры [12]. Октамер-димерные превращения митохондриальной КФК, так же как и различные ее субстраты, оказывают влияние на митохондриальную проницаемость интактных митохондрий. Кислородные продукты дестабилизируют октамерную структуру наряду с факторами, нарушающими энергетический гомеостаз, что сопровождается изменением проницаемости митохондриальных пор с повреждением тканей в период ишемии/реперфузии [13]. Ми-КФК синтезирует КрФ, который ингибирует гликолиз через фосфофруктокиназу, пируваткиназу, а также активирует глюкозо-1,6-фосфатазу, сохраняя глюкозу в организме [11]. Уровень рН, изменяя направление реакции, ведет к изменению соотношения АТФ/АДФ, что чрезвычайно важно для клетки.

На примере сердечного сокращения можно хорошо проследить взаимозависимость уровней КрФ и АТФ/АДФ. Динамика энергетического обмена в миокарде в течение сердечного цикла характеризуется максимальным содержанием АТФ и КрФ в миокарде в конце диастолы. Оно резко снижается за короткий промежуток времени, соответствующий началу систолы, когда сердечная мышца не успевает еще развить сколько-нибудь значительного мышечного усилия. В течение же механической систолы содержание АТФ практически не меняется, в то время как содержание КрФ продолжает снижаться. В течение диастолы содержание КрФ возвращается к исходному уровню. Изменения содержания неорганического фосфата проявляют тесную взаимосвязь с изменением содержания АТФ и КрФ. Содержание неорганического фосфата увеличивается в начале систолы, когда снижается содержание указанных субстратов, остается высоким в течение механической систолы и снижается в диастолу, когда содержание АТФ и КрФ увеличивается. КрФ обладает более быстрой диффузией в цитоплазме, что обеспечивается малым молекулярным весом и более низким зарядом в сравнении с АТФ, и поэтому КрФ играет важнейшую роль в сердечном сокращении, а также в ресинтезе АТФ в цитоплазме. Скорость обновления лабильного фосфора фосфорсодержащих соединений (прежде всего КрФ) различна в разных участках миокарда и возрастает в следующем порядке: левый желудочек > правый желудочек > левое предсердие > правое предсердие, что и соответствует объему выполняемой работы в каждом из этих отделов сердца [14].

Относительное содержание важнейших кислоторастворимых фосфорных соединений в скелетной мускулатуре следующее: неорганический фосфат — 10%, КрФ — 45%, АТФ — 35% и гексозомонофосфат — 5%.

Основным фосфорилированным соединением в мышце является КрФ, образующийся за счет АТФ в реакции:  $\text{Кр} + \text{АТФ} = \text{КрФ} + \text{АДФ}$ . В скелетных мышцах млекопитающих при нормальных концентрациях магния и калия и при физиологическом рН значение Кр равно около 25, т.е. отношение  $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}]$  примерно в 25 раз больше отношения  $[\text{КрФ}]/[\text{Кр}]$ . Покоящиеся мышцы содержат в 3–8 раз больше КрФ, чем АТФ, т.е. количество, достаточное для 30–100 сокращений. Только когда весь КрФ будет исчерпан, уровень АТФ начинает уменьшаться, и мышца прекращает работу, впадая в состояние контрактуры или вялого паралича [14]. Вымывание креатина из сердечной мышцы сопровождается снижением скорости синтеза КрФ и силы сокращения сердечной мышцы [15].

Митохондриальная КФК обеспечивает регуляцию сократительной активности миокарда через окислительное фосфорилирование митохондриальной системы, т.е. КрФ и креатин играют медиаторную роль, сообщая по количеству поступившего в митохондрию креатина после распада КрФ, а также по снижению АДФ в межмембранном пространстве о необходимом количестве АТФ для ресинтеза КрФ.

Клеточное дыхание фактически обеспечивается за счет митохондриальной КФК [16]. Этому способствует низкая проницаемость наружной митохондриальной мембраны для адениловых нуклеотидов через пориновые каналы, которая регулируется внутриклеточными факторами и достигается за счет равновесия креатина и аденилаткиназы. Равновесная цитоплазматическая реакция с аденилаткиназой усиливается в митохондриях, где Ми-КФК выполняет роль силового амплификатора [17]. Окислительный синтез АТФ контролируется околомитохондриальной (юкстамитохондриальное облако) концентрацией АДФ, и в упрощенном виде контроль обеспечивает взаимодействие между пориновыми белками внешней митохондриальной мембраны, Ми-КФК и адениловой транслоказы. Кр и АДФ имеют малый градиент снижения концентрации по направлению к митохондрии, в то время как АТФ и фосфокреатин имеют малый градиент концентрации по отношению к миозиновой АТФазе [18]. АДФ, образуемая  $\text{Ca}^{++}$ -АТФазой эффективно фосфорилируется КФК в присутствии КрФ. Это фосфорилирование функционально важно для взаимодействия с мембраной и влияния на поглощение  $\text{Ca}^{++}$  пузырьками саркоплазматического ретикулума [19]. КФК как октамер существует в комплексе с тетрамером гексокиназы, порином внешней мембраны и аденилатным транслокатором. При этом АТФ использует для синтеза внешний креатин или глюкозу [20]. Дыхательная система митохондрий обеспечивается трехкомпонентной системой:

- 1) окислительного фосфорилирования;
- 2) переноса адениловых нуклеотидов КФК;
- 3) активации КФК субстратом из среды.

КФК и транслоказа тесно связаны, первая при этом активируется АДФ или АТФ, не переходящей в среду с проявлением термодинамического эффекта [21]. Ингибирование креатинкиназной реакции с помощью 2,4-dinitrofluorobenzene приводит к росту активности аденилаткиназной реакции. В мышцах диафрагмы в нормальных условиях доля АТФ, синтезированной КФК, составляет 88%, а в результате аденилаткиназной реакции всего 7%. Однако при ингибировании КФК доля АТФ, синтезируемой в результате аденилаткиназной реакции, увеличивается до 98%. Обе системы находятся в тесном взаимодействии [22]. Из приведенных примеров становится ясной роль КФК в поддержании соотношения АТФ/АДФ и регуляции биоэнергетического статуса клетки.

#### 4. Взаимодействие КФК-системы и ферментов углеводного обмена

Обеспечивает более быструю адаптацию. Это так называемая «адаптация первого уровня». Белые быстрые гликолитические мышечные волокна с максимальным содержанием фракции ММ обеспечивают быстрое и мощное сокращение за счет трех систем. Первая система — самая быстрая и мощная, позволяющая за несколько секунд совершить огромную работу — подъем штанги в рывке, спринтерский бег — за счет ресинтеза АТФ из КрФ, пока наблюдается достаточно высокий уровень КрФ и происходит подавление гликолиза за счет ингибирования двух необратимых реакций, катализируемых фосфофруктокиназой и пируваткиназой. Целью данного процесса является сохранение пула глюкозы для возможного последующего ее использования по мере истощения КрФ, так как при максимальной нагрузке в очень короткий промежуток времени «включать такой дорогостоящий» процесс, как гликолиз, просто невыгодно», и поэтому используется КФК, локализованная на миозине в области М-белка (М-линии) для поддержания работы системы миозиновой АТФазы. Вторая система — анаэробное расщепление глюкозы — начинается в случае истощения запасов КрФ, образуется 2 АТФ на одну молекулу глюкозы и при этом накопление молочной кислоты ведет к инактивации ферментов гликолиза, что также ограничивает использование этой системы. Третья система — аэробное окисление глюкозы и жиров — обеспечивает