

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

**Б1.В.12. Биологическая и физколлоидная химия**

**Направление подготовки (специальность) 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции**

**Профиль подготовки:** Технология производства и переработки продукции животноводства

**Квалификация выпускника** бакалавр

**Форма обучения** очная

## **СОДЕРЖАНИЕ**

### **1. Конспект лекций**

- 1.1 Лекция № 1** Получение и свойства коллоидных растворов
  - 1.2 Лекция № 2** Растворы высокомолекулярных соединений
  - 1.3 Лекция № 3** Витамины: классификация и биологическая роль. Гиповитаминозы, гипервитаминозы
  - 1.4 Лекция № 4** Ферменты: классификация, биологическая роль, механизм действия
  - 1.5 Лекция № 5** Гормоны: классификация, механизм действия
  - 1.6 Лекция № 6** Обмен углеводов
  - 1.7 Лекция № 7** Обмен белков
  - 1.8 Лекция № 8** Обмен липидов
  - 1.9 Лекция № 9** Обмен нуклеиновых кислот
- 2. Методические указания по выполнению лабораторных работ**
  - 2.1 Лабораторная работа № ЛР-1** Буферные системы. Виды и механизм действия. Роль буферных систем в живых организмах.
  - 2.2 Лабораторная работа № ЛР-2.** Получение и свойства коллоидных растворов (белков и полисахаридов)
  - 2.3 Лабораторная работа № ЛР-3** Растворы высокомолекулярных соединений
  - 2.4 Лабораторная работа № ЛР-4** Витамины: классификация и биологическая роль. Гиповитаминозы, гипервитаминозы
  - 2.5 Лабораторная работа № ЛР-5** Ферменты: классификация, биологическая роль, механизм действия
  - 2.6 Лабораторная работа № ЛР-6** Гормоны: классификация, механизм действия
  - 2.7 Лабораторная работа № ЛР-7** Понятие обмена веществ и энергии в организме
  - 2.8 Лабораторная работа № ЛР-8** Углеводы. Классификация. Биологическая роль
  - 2.9 Лабораторная работа № ЛР-9** Обмен углеводов
  - 2.10 Лабораторная работа № ЛР-10** Белки. Классификация. Биологическая роль
  - 2.11 Лабораторная работа № ЛР-11** Обмен белков
  - 2.12 Лабораторная работа № ЛР-12** Липиды. Классификация. Биологическая роль
  - 2.13 Лабораторная работа № ЛР-13** Обмен липидов
  - 2.14 Лабораторная работа № ЛР-14** Обмен нуклеиновых кислот
  - 2.15 Лабораторная работа № ЛР-15** Водно-минеральный обмен
  - 2.16 Лабораторная работа № ЛР-16** Взаимосвязь обмена веществ

### **1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ**

## 1.1. Лекция № 1 (2 часа)

### Тема: Получение и свойства коллоидных растворов

#### 1.1.1. Вопросы лекции:

1. Классификация дисперсных систем.
2. Лиофобные золи (коллоидные растворы):
  - а) методы получения;
  - б) способы очистки;
  - в) строение коллоидной частицы (мицеллы);
  - г) свойства коллоидных растворов

#### 1.1.2 Краткое содержание вопросов

1. Классификация дисперсных систем.

### 2. Классификация по размеру частиц

Дисперсность  $D$  является основной характеристикой дисперсной системы и мерой раздробленности вещества. Математически дисперсность определяют как величину обратную размеру частицы:

$$D = \frac{1}{a} \quad a - \text{размер частицы, м}^{-1}$$

По дисперсности системы подразделяют на несколько типов

№	Название системы	Размер частиц, м
1	Грубодисперсные	$10^{-4} - 10^{-7}$
2	Коллоидно-дисперсные	$10^{-7} - 10^{-9}$
3	Молекулярные и ионные растворы	менее $10^{-9}$

#### Классификация дисперсных систем по агрегатному состоянию.

Наиболее распространена классификация дисперсных систем по агрегатному состоянию дисперсной фазы и дисперсионной среды.

Дисперсная фаза	Дисперсионная среда	Условное обозначение системы	Примеры дисперсных систем
Газ	Газ	—	Не существует
Жидкость	Газ	ж/г	Туман, облака, аэрозоли жидкого лекарств
Твердое тело	Газ	т/г	Дым, пыль, порошки
Газ	Жидкость	г/ж	Пены, газовые эмульсии
Жидкость	Жидкость	ж/ж	Эмульсии
Твердое тело	жидкость	т/ж	Сусpenзии, коллоидные растворы
Газ	Твердое тело	г/т	Твердые пены, пемза, силикагель, активированный уголь
Жидкость	Твердое тело	ж/т	Жемчуг, капиллярные системы, гели
Твердое тело	Твердое тело	т/т	Цветные стекла, минералы, сплавы

#### Классификация по отсутствию или наличию взаимодействия между частицами дисперсной фазы.

По кинетическим свойствам дисперсной фазы все дисперсные системы можно подразделить на два класса: свободно-дисперсные, в которых частицы дисперсной фазы не связаны между собой и могут свободно перемещаться (лиозоли, аэрозоли, супензии, эмульсии), и связно-дисперсные, в которых одна из фаз структурно закреплена и не может перемещаться свободно (гели, студни, пены, капиллярно-пористые тела (диафрагмы), твердые растворы)

## **Классификация по степени взаимодействия дисперсной фазы с дисперсионной средой**

Для характеристики взаимодействия между веществом дисперсной фазы и жидкой дисперсионной средой служат понятия «лиофильность» и «лиофобность». Под взаимодействием фаз дисперсных систем подразумеваются процессы сольватации (гидратации) оболочек из молекул дисперсионной среды вокруг частиц дисперсной фазы. Системы, в которых сильно выражено взаимодействие частиц дисперсной фазы с растворителем, называют лиофильными (по отношению к воде гидрофильными). Если частицы дисперсной фазы состоят из вещества, слабо взаимодействующего со средой, системы являются лиофобными (по отношению к воде гидрофобными).

### **2. Лиофобные золи (коллоидные растворы)**

#### **а) методы получения**

#### **Методы получения коллоидных систем**

Возможны два пути получения коллоидных растворов. Один путь состоит в укрупнении частиц при агрегации молекул или ионов – такой метод называют конденсационным. Второй путь заключается в измельчении крупных частиц до коллоидной дисперсности, его осуществляют методом диспергирования

#### **б) способы очистки**

#### **Методы очистки коллоидных растворов**

Очистку коллоидных растворов можно проводить либо методом диализа, либо ультрафильтрацией.

#### **в) строение коллоидной частицы (мицеллы)**

Строение коллоидных частиц лиофобных золей.

Согласно общепринятой мицеллярной теории строения коллоидных растворов, золь состоит из двух частей: мицелл и интермицеллярной жидкости. Мицелла – это структурная коллоидная частица, т.е. частица дисперсной фазы окруженная двойным электрическим слоем. Интермицеллярной жидкостью называют дисперсионную среду. Частицы дисперсной фазы имеют сложную структуру.

#### **Строение двойного электрического слоя**

Согласно современным представлениям, двойной электрический слой (ДЭС) – это образующийся на границе двух фаз тонкий поверхностный слой из пространственно разделенных электрических зарядов противоположного знака (потенциалобразующих ионов и противоинов).

#### **г) свойства коллоидных растворов**

#### **Молекулярно-кинетические свойства коллоидных систем**

Броуновское движение появляется в хаотическом и непрерывном движении частиц дисперсной фазы под действием ударов молекул растворителя. Частицы коллоидной дисперсности могут перемещаться поступательно в самых разнообразных направлениях. А.Эйнштейном и М.Смолуховским было показано, что среднее значение квадрата смещения частицы за время  $t$  равно

$$\overline{\Delta^2} = \frac{RT}{3\pi\eta r N_A} t$$

Диффузией называют самопроизвольный процесс выравнивания концентрации частиц по всему объему раствора или газа под влиянием теплового движения.

Эйнштейн нашел, что коэффициент диффузии связан с размерами диффундирующих частиц уравнением

$$D = \frac{RT}{6\pi\eta r N_A} \dots \dots \dots$$

..... Седиментацией (от лат. sedimentum - осадок) называют процесс оседания частиц дисперсной фазы в жидкой или газообразной среде под действием силы тяжести. Всплытие частиц носит название обратной седиментации.

Скорость оседания частиц не зависит от их природы, а определяется размером частиц  $r$ , разностью плотностей частиц  $\rho$  и среды  $\rho_0$  и вязкостью среды  $\eta$ . По закону Стокса, скорость оседания шарообразных частиц с радиусом  $r$  равна

$$v = \frac{2g(\rho - \rho_0)r^2}{9\eta}$$

Оптические свойства дисперсных систем

Особые оптические свойства дисперсных систем обусловлены главным их главными признаками: дисперсностью и гетерогенностью. На оптические свойства дисперсных систем в большой степени влияют структура, размер и форма частиц. Прохождение света через дисперсную систему сопровождается такими явлениями, как преломление, поглощение, отражение и рассеяние. В высокодисперсных золях частицы ( $10^{-7}$ – $10^{-9}$  м) соизмеримы с длиной волны видимого света, в результате чего преобладает светорассеяние.

С опалесценцией связано специфичное для коллоидных растворов явление – конус Тиндаля.

Теория светорассеяния была разработана Д.Рэлеем (1871).

Уравнение Рэлея для интенсивности рассеянного света  $I_p$  имеет вид

$$I_p = I_0 24\pi \left( \frac{n_1^2 - n_0^2}{n_1^2 - 2n_0^2} \right)^2 \frac{\nu V^2}{\lambda^4} = K \frac{\nu V^2}{\lambda^4}$$

Электрический заряд коллоидных частиц. Электрокинетические явления.

### Электрокинетические явления

Электрокинетические явления основаны на взаимосвязи между электрическими и кинетическими свойствами дисперсных систем. Эти явления подразделяются на две группы: прямые и обратные. К прямым относят те электрокинетические явления, которые возникают под действием внешнего электрического поля (электрофорез и электроосмос). Обратными называют электрокинетические явления, в которых при механическом перемещении одной фазы относительно другой возникает электрический потенциал (потенциал протекания и потенциал седиментации).

## 1.2. Лекция № 2 (2 часа)

### Тема: Растворы высокомолекулярных соединений

#### 1.2.1. Вопросы лекции:

1. Понятие о высокомолекулярных системах. Теории растворов ВМС.
2. Свойства растворов ВМС.
3. Набухание и растворение ВМС.
4. Защитное действие ВМС.
5. Физико-химические свойства белковых растворов.
6. Понятие о гелях и студнях. Получение и свойства.

#### 1.2. 2 Краткое содержание вопросов

1. Понятие о высокомолекулярных системах. Теории растворов ВМС.

К высокомолекулярным веществам относят соединения с молекулярной массой  $10^4$ – $10^6$  и выше. Они могут быть природного происхождения (белки, высшие полисахариды, пектины, натуральный каучук) или получаются синтетически в процессах полимеризации и поликонденсации (пластмассы, синтетические волокна). Молекулы ВМВ чрезвычайно велики и носят название макромолекул. Природные ВМВ (биополимеры) характеризуются постоянным значением молекулярной массы.

Количественное изменение молекулярной массы приводит к качественному скачку – появлению новых свойств полимера: высокой пластичности и эластичности.

.....

## 2. Свойства растворов ВМС.

Практически важные свойства ВМВ связаны с их строением. Различают три типа структуры цепей: линейная, разветвленная, пространственная.

Специфические особенности полимеров обусловлены главным образом двумя особенностями: 1) существование двух типов связей – химических и межмолекулярных, удерживающих макромолекулярные цепи друг около друга; 2) гибкостью цепей, связанной с внутренним вращением звеньев.

.....

## 3. Набухание и растворение ВМС.

Истинному растворению полимеров предшествует процесс набухания. Он заключается в увеличении объема и массы полимера за счет поглощения им какого-то количества растворителя. При контакте полимера с растворителем начинается взаимная диффузия молекул растворителя в полимер, а молекул полимера в растворитель. Однако скорость диффузии в одном и в другом направлениях будет различаться в той же пропорции, что и размеры, а также подвижности диффундирующих частиц. Резкое различие в подвижностях молекул растворителя и макромолекул ВМВ является причиной набухания.

Количественной мерой набухания является степень набухания  $\alpha$ , которая может иметь объемное или массовое выражение:

$$\alpha = \frac{V - V_0}{V_0} \text{ или } \alpha = \frac{m - m_0}{m_0}$$

.....

## 4. Защитное действие ВМС.

Способность защищать золи от коагуляции количественно выражают защитным числом, равным числу миллиграммов сухого ВМВ, защищающего 10 мл золя от коагуляции при приливании к золю 1 мл 10% раствора NaCl. В зависимости от природы золя защитное число называют «золотым», если оно относится к золю золота, «серебряным» – для золя серебра, «железным» для золя Fe(OH)<sub>3</sub>.

.....

## 5. Физико-химические свойства белковых растворов.

Полиэлектролитами называют ВМВ, имеющие в своем составе ионогенные группы. По характеру образуемых ионов полиэлектролиты делят на три группы.

1. Полиэлектролиты, кислотного типа содержащие группы  $-\text{COO}^-$  или  $-\text{OSO}_3^-$ .
2. Полиэлектролиты основного типа, имеющие, например, группу  $-\text{NH}_2$ .
3. Полиамфолиты – ВМВ, содержащие и кислотную, и основную группы (белки с группами  $-\text{COO}^-$  и  $-\text{NH}_3^+$ )

Наиболее полно изучены свойства белков. В зависимости от pH раствора макроионы белков имеют положительный заряд (в кислой среде за счет групп  $-\text{NH}_3^+$ ) или отрицательный заряд (в щелочной среде за счет групп  $-\text{COO}^-$ ). Между этими состоя-

яниями белка существует состояние, при котором число ионизированных основных групп равно числу ионизированных кислотных групп. Это равнозарядное состояние называют изоэлектрическим, а значение pH, отвечающее этому состоянию — изоэлектрической точкой (ИЭТ).

## 6. Понятие о гелях и студнях. Получение и свойства.

Для наименования структурированных систем приняты названия гель и студень. Понятие гель и гелеобразование обычно относится к переходу лиофобных дисперсных систем в вязкодисперсное состояние. Гели являются гетерогенными системами. Переход растворов к нетекучей эластичной форме обозначают понятием студнеобразование и студень. Полимерные студни могут быть как гомогенными так и гетерогенными.

### 1.3 Лекция № 3 (2 часа).

**Тема:** Витамины

#### 1.3.1. Вопросы лекции:

1. Понятие о витаминах. История открытия.
2. Номенклатура.
3. Классификация витаминов.
4. Характеристика жир- и водорастворимых витаминов.

#### 1.3.2 Краткое содержание вопросов:

##### 1. Понятие о витаминах. История открытия.

*Витамины* – особая группа органических веществ, выполняющая важные биологические и биохимические функции в живых организмах. Эти органические соединения различной химической природы синтезируются главным образом растениями, а также микроорганизмами. Человеку и животному, в организме которого витамины не синтезируются, они требуются по сравнению с питательными веществами (белками, углеводами, жирами) в очень малых количествах.

Развитие учения о витаминах связано с именем отечественного врача Н. И. Лунина. Он пришел к заключению, что, кроме белков, жиров, молочного сахара, солей и воды, животные нуждаются в каких – то еще неизвестных веществах, незаменимых для питания. В своей работе «О значении минеральных солей в питании животных» Лунин писал: « ... представляет большой интерес исследовать эти вещества и изучить их значение для питания». В 1912 году был открыт первый витамин К. Функом. Он предложил называть эти неизвестные вещества витаминами.

Витамины (от лат. Vita – жизнь) - пищевые факторы, которые, присутствуя в небольших количествах в пище, обеспечивают нормальное протекание биохимических и физиологических процессов путем участия в регуляции обмена целостного организма.

Нарушение нормального процесса обмена часто связаны с недостаточным поступлением витаминов в организм, полным отсутствием их в потребляемой пище или нарушением их всасывания. Транспорта. В результате развиваются авитаминозы – болезни, возникающие на почве полного отсутствия в пище или полного нарушения усвоения какого-либо витамина, и гиповитаминозы, обусловленные недостаточным поступлением витаминов с пищей. Многие расстройства обмена при авитаминозах обусловлены нарушениями деятельности или активности ферментных систем. Поскольку многие витамины входят в состав простетических групп ферментов.

##### 2. Номенклатура.

Исторически витамины обозначали латинскими буквами по порядку их научного описания. В дальнейшем оказалось, что ряд веществ, изначально отнесенных к витаминам, таковыми не являются. К примеру, флавоноиды ранее выделяли в группу витамина Р, а незаменимые жирные кислоты — в группу витамина F. С другой стороны, фракция, изначально обозначенная как витамин В, при более пристальном исследовании оказалась

смесью веществ, которым пришлось присвоить индексы начиная с В<sub>1</sub>. Более того, ряд витаминов оказался химически сходным с витаминами группы В — их перенесли в эту группу. Витамин, изначально названный PP (сокращение от **Pellagra Preventing factor** — фактор, предотвращающий пеллагру), теперь обозначают как витамин В<sub>3</sub>. На сегодняшний день в официально утвержденный список витаминов входят девять водорастворимых витаминов (витамин С и восемь витаминов группы В) и восемь жирорастворимых витаминов (витамины А, Е, К и пять витаминов группы D). В отечественных публикациях можно по прежнему встретить такие названия, как витамины F, Р или PP (публикации о растениях на этом сайте — не исключение), но эти обозначения не имеют официального статуса и сохранились исключительно по историческим причинам. В научной литературе, а зачастую и в популярных публикациях, наряду с индексами используют тривиальные названия витаминов. Так, витамин С достаточно широко известен под названием «аскорбиновая кислота». Интересная история связана с вышеупомянутым витамином PP, ныне В<sub>3</sub>. Химически это соединение представляет собой никотиновую кислоту — окисленное производное никотина. Чтобы избежать нежелательных ассоциаций в массовом сознании витамина В<sub>3</sub> с никотином (который витамином отнюдь не является!) был изобретен термин «ниацин» (niacin = **nicotinic acid + vitamin**)

### 3. Классификация витаминов.

Витамин	Витамеры	Активные формы витаминов	Специфические функции витаминов
<b>Водорастворимые витамины</b>			
<b>Витамин С</b>	Аскорбиновая кислота, дегидро-аскорбиновая кислота	Не известны	Участвует в гидроксилировании пролина в оксипролин в процессе созревания коллагена
<b>Тиамин (витамин В<sub>1</sub>)</b>	Тиамин	Тиаминидифосфат (ТДФ, тиаминпирофосфат, ко-карбоксилаза)	В форме ТДФ является коферментом ферментов углеводно-энергетического обмена
<b>Рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>)</b>	Рибофлавин	Флавинмононуклеотид (ФМН), флавинадениндинуклеотид (ФАД)	В форме ФМН и ФАД образует простетические группы флавиновых оксидоредуктаз - ферментов энергетического, липидного, аминокислотного обмена
<b>Пантотеновая кислота (устаревшее название - витамин В<sub>5</sub>)</b>	Пантотеновая кислота	Кофермент А (коэнзим А; КоА)	В форме КоА участвует в процессах биосинтеза, окисления и других превращениях жирных кислот и стеринов (холестерина, стероидных гормонов), в процессах ацетилирования, синтезе ацетилхолина
<b>Витамин В<sub>6</sub></b>	Пиридоксал, пиридоксин, пиридоксамин	Пиридоксальфосфат (ПАЛФ)	В форме ПАЛФ является коферментом большого числа ферментов азотистого

<b>Витамин В<sub>12</sub> (кобаламины)</b>	Цианокоба- ламин, окси- кобаламин	Метилcobаламин (CH <sub>3</sub> B <sub>12</sub> ), дезоксиадено- зилкобаламин (дАВ <sub>12</sub> )	обмена (трансаминаz, де- карбоксилаз аминокислот) и ферментов, участвующих в обмене серосодержащих аминокислот, триптофана, синтезе гема
<b>Ниацин (ви- тамин PP)</b>	Никотиновая кислота, никоти- намид	Никотинамидаденин- динуклеотид (НАД); ни- котинамида- дениндинуклеотид- фосфат (НАДФ)	В форме CH <sub>3</sub> B <sub>12</sub> участвует в синтезе метионина из гомоцистеина; в форме дАВ <sub>12</sub> участвует в рас- щеплении жирных кислот и аминокислот с разветвлен- ной цепью или нечетным числом атомов углерода
<b>Фолат (уста- ревшее назва- ние - витамин B<sub>c</sub>)</b>	Фолиевая кислота, полиглю- таматы фолиевой кислоты	Тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)	В форме НАД и НАДФ яв- ляется первичным акцепто- ром и донором электронов и протонов в окисительно- восстановительных реакци- ях, катализируемых различ- ными дегадрогеназами
<b>Биотин (уста- ревшее назва- ние - витамин H)</b>	Биотин	Остаток биотина, свя- занный с ε-аминогруппой остатка лизина в молекуле апофермента	В форме ТГФК осуществля- ет перенос одноуглеродных фрагментов при биосинтезе пуриновых оснований, ти- мицина, метионина
<b>Жирораство- римые витами- ны</b>			Входит в состав карбокси- лаз, осуществляющих начальный этап биосинтеза жирных кислот
<b>Витамин А</b>	Ретинол, рети- наль, ретиноевая кислота, ретино- ла ацетат	Ретиналь, ретинил- фосфат	В форме ретиналя входит в состав зрительного пигмен- та родопсина, обеспе- чивающего восприятие све- та (превращение светового импульса в электрический). В форме ретинилфосфата участвует как переносчик остатков сахаров в биосин- тезе гликопротеидов
<b>Витамин D (кальци- феролы)</b>	Эргокальци- ферол (витамин D <sub>2</sub> ); холекальци- ферол (витамин	1,25-Диоксихоле- кальциферол (1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> )	Гормон, участвующий в поддержании гомеостаза кальция в организме; уси- ливает всасывание кальция

**Витамин Е** а-, б-, г-, д-токоферолы Наиболее активная форма а-токоферол

и фосфора в кишечнике и его мобилизацию из скелета; влияет на дифференцировку клеток эпителиальной и костной ткани, кроветворной и иммунной систем

Выполняет роль биологического антиоксиданта, инактивирующего свободнорадикальные формы кислорода, защищает липиды биологических мембран от перекисного окисления

**Витамин К** Филлохинон (витамин K<sub>1</sub>); менахиноны (витамины K<sub>2</sub>); 2-метил-1, 4-нафтохинон (менадион, витамин K3) Дигидровитамин К

Участвует в превращении препротромбина в протромбин, а также в аналогичных превращениях некоторых белков, участвующих в процессе свертывания крови, и костного белка остеокальцина

#### 4. Характеристика жиро- и водорастворимых витаминов.

В связи с различием механизма всасывания в желудочно-кишечном тракте человека витамины разделяют на водо- и жирорастворимые. К жирорастворимым витаминам относятся четыре витамина, обозначаемых латинскими буквами А, Д, Е и К. Остальные входят в группу водорастворимых. Это разделение лежит в основе целого ряда важных биологических различий. Во-первых, это способность к накоплению.

*Жирорастворимые витамины* могут депонироваться в организме, в основном в жировой ткани и печени. Поэтому их можно принять в избыточном количестве и запастись впрок, хотя и не на длительный период. Однако при приеме в слишком большом количестве проявляются симптомы передозировки.

*Водорастворимые витамины* в существенных количествах не запасаются и поэтому должны поступать извне практически ежедневно, а при избытке они достаточно быстро выводятся с мочой. Со способностью быстрого выведения связано второе различие: более частое развитие гиповитаминозов для водорастворимых витаминов, а гипервитаминозов - для жирорастворимых витаминов. Различаются и источники витаминов двух данных категорий. Так, зелень и нежирные овощи содержат немало водорастворимых, но не жирорастворимых витаминов. Уникальные комплексы жирорастворимых витаминов содержатся в печени зверей и рыб, что делает печень бесценным пищевым продуктом. Соответственно, и правила кулинарной обработки пищи и приема этих групп витаминов (как в форме препаратов, так и в натуральных продуктах питания) имеют свои характерные особенности. Для усвоения жирорастворимых витаминов требуется наличие определенных количеств жира, поэтому, к примеру, морковь (источник бета-каротина, он же провитамин А) лучше есть одновременно с маслом или сметаной. Водорастворимые витамины одновременного приема жира не требуют, но они чувствительны к окислителям и ионам металлов. Вот почему овощи и зелень, источники витамина С, лучше нарезать не стальным, а керамическим ножом. Также следует помнить, что в отличие от жирорастворимых, водорастворимые витамины распадаются при термической обработке. После попадания внутрь метаболические пути и роль в организме у жирорастворимых и водорастворимых витаминов также различаются. Большинство водорастворимых активируются в

клетках нашего тела посредством реакций фосфорилирования. Активированные формы этих витаминов выступают в реакциях обмена веществ в роли кофермента, то есть, небелкового компонента ферментного комплекса, без которой фермент не работает. Для жирорастворимых коферментной функция не характерна (кроме витамина К). Зато все они входят в состав клеточных мембран и демонстрируют антиокислительное действие. Их значение для защиты клетки от губительных активных форм кислорода (кислородных радикалов) трудно переоценить.

#### 1.4. Лекция № 2 (2 часа).

Тема: «Ферменты. Классификация. Биологическая роль. Механизм действия»

##### 1.4.1 Вопросы лекции:

1. Строение и функции ферментов.
2. Классификация ферментов.
3. Участие ферментов в биохимических процессах.
4. Кинетика ферментативных процессов.

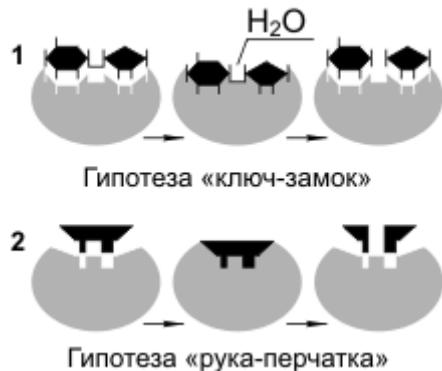
##### 1.4.2 Краткое содержание вопросов:

###### 1. Строение и функции ферментов.

*Ферменты, или энзимы, — особый класс белков, являющихся биологическими катализаторами. Благодаря ферментам биохимические реакции протекают с огромной скоростью. Скорость ферментативных реакций в десятки тысяч раз (а иногда и в миллионы) выше скорости реакций, идущих с участием неорганических катализаторов. Вещество, на которое оказывает свое действие фермент, называют субстратом.*

Ферменты — глобулярные белки, по особенностям строения ферменты можно разделить на две группы: простые и сложные. Простые ферменты являются простыми белками, т.е. состоят только из аминокислот. Сложные ферменты являются сложными белками, т.е. в их состав помимо белковой части входит группа небелковой природы — кофактор. У некоторых ферментов в качестве кофакторов выступают витамины. В молекуле фермента выделяют особую часть, называемую активным центром. Активный центр — небольшой участок фермента (от трех до двенадцати аминокислотных остатков), где и происходит связывание субстрата или субстратов с образованием фермент-субстратного комплекса. По завершении реакции фермент-субстратный комплекс распадается на фермент и продукт (продукты) реакции. Некоторые ферменты имеют (кроме активного) аллостерические центры — участки, к которым присоединяются регуляторы скорости работы фермента (аллостерические ферменты).

###### Соответствие фермента и субстрата:



Для реакций ферментативного катализа характерны: 1) высокая эффективность, 2) строгая избирательность и направленность действия, 3) субстратная специфичность, 4) тонкая и точная регуляция. Субстратную и реакционную специфичность реакций ферментативного катализа объясняют гипотезы Э. Фишера (1890 г.) и Д. Кошланда (1959 г.).

Э. Фишер (гипотеза «ключ-замок») предположил, что пространственные конфигурации активного центра фермента и субстрата должны точно соответствовать друг другу. Субстрат сравнивается с «ключом», фермент — с «замком».

Д. Кошланд (гипотеза «рука-перчатка») предположил, что пространственное соответствие структуры субстрата и активного центра фермента создается лишь в момент их взаимодействия друг с другом. Эту гипотезу еще называют гипотезой индуцированного соответствия.

Скорость ферментативных реакций зависит от: 1) температуры, 2) концентрации фермента, 3) концентрации субстрата, 4) рН. Следует подчеркнуть, что поскольку ферменты являются белками, то их активность наиболее высока при физиологически нормальных условиях.

Большинство ферментов может работать только при температуре от 0 до 40 °C. В этих пределах скорость реакции повышается примерно в 2 раза при повышении температуры на каждые 10 °C. При температуре выше 40 °C белок подвергается денатурации и активность фермента падает. При температуре, близкой к точке замерзания, ферменты инактивируются.

При увеличении количества субстрата скорость ферментативной реакции растет до тех пор, пока количество молекул субстрата не станет равным количеству молекул фермента. При дальнейшем увеличении количества субстрата скорость увеличиваться не будет, так как происходит насыщение активных центров фермента. Увеличение концентрации фермента приводит к усилению каталитической активности, так как в единицу времени преобразованиям подвергается большее количество молекул субстрата.



#### **Аллостерические фрагменты:**

- 1 – аллостерический активатор;
- 2 – аллостерический ингибитор.

Для каждого фермента существует оптимальное значение рН, при котором он проявляет максимальную активность (пепсин — 2,0, амилаза слюны — 6,8, липаза поджелудочной железы — 9,0). При более высоких или низких значениях рН активность фермента снижается. При резких сдвигах рН фермент денатурирует.

Скорость работы аллостерических ферментов регулируется веществами, присоединяющимися к аллостерическим центрам. Если эти вещества ускоряют реакцию, они называются активаторами, если тормозят — ингибиторами.

#### **2. Классификация ферментов.**

По типу катализируемых химических превращений ферменты разделены на 6 классов:

- **оксиредуктазы** (перенос атомов водорода, кислорода или электронов от одного вещества к другому — дегидрогеназа),
- **трансферазы** (перенос метильной, ацильной, фосфатной или аминогруппы от одного вещества к другому — трансаминаза),
- **гидролазы** (реакции гидролиза, при которых из субстрата образуются два продукта — амилаза, липаза),
- **лиазы** (негидролитическое присоединение к субстрату или отщепление от него группы атомов, при этом могут разрываться связи C–C, C–N, C–O, C–S — декарбоксилаза),
- **изомеразы** (внутримолекулярная перестройка — изомераза),
- **лигазы** (соединение двух молекул в результате образования связей C–C, C–N, C–O, C–S — синтетаза).

Классы в свою очередь подразделены на подклассы и подподклассы. В действующей международной классификации каждый фермент имеет определенный шифр, состоящий из четырех чисел, разделенных точками. Первое число — класс, второе — подкласс, тре-

тье — подподкласс, четвертое — порядковый номер фермента в данном подподклассе, например, шифр аргиназы — 3.5.3.1.

### 3. Участие ферментов в биохимических процессах.

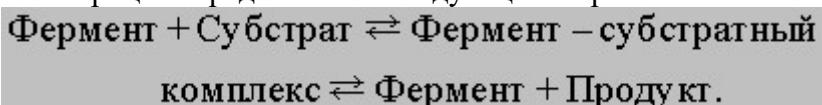
Ферменты - необходимые участники процесса пищеварения. Только низкомолекулярные соединения могут проходить через стенку кишечника и попадать в кровоток, поэтому компоненты пищи должны быть предварительно расщеплены до небольших молекул. Это происходит в ходе ферментативного гидролиза (расщепления) белков до аминокислот, крахмала до сахаров, жиров до жирных кислот и глицерина. Гидролиз белков катализирует фермент пепсин, содержащийся в желудке. Ряд высокоеффективных пищеварительных ферментов секретирует в кишечник поджелудочная железа. Это трипсин и химотрипсин, гидролизующие белки; липаза, расщепляющая жиры; амилаза, катализирующая расщепление крахмала. Пепсин, трипсин и химотрипсин секретируются в неактивной форме, в виде т.н. зимогенов (проферментов), и переходят в активное состояние только в желудке и кишечнике. Это объясняет, почему указанные ферменты не разрушают клетки поджелудочной железы и желудка. Стенки желудка и кишечника защищают от пищеварительных ферментов и слой слизи. Некоторые важные пищеварительные ферменты секретируются клетками тонкого кишечника. Большая часть энергии, запасенной в растительной пище, такой, как трава или сено, сосредоточена в целлюлозе, которую расщепляет фермент целлюлаза. В организме травоядных животных этот фермент не синтезируется, и жвачные, например крупный рогатый скот и овцы, могут питаться содержащей целлюлозу пищей только потому, что целлюлазу вырабатывают микроорганизмы, заселяющие первый отдел желудка - рубец. С помощью микроорганизмов происходит переваривание пищи и у термитов. Ферменты находят применение в пищевой, фармацевтической, химической и текстильной промышленности. В качестве примера можно привести растительный фермент, получаемый из папайи и используемый для размягчения мяса. Ферменты добавляют также в стиральныепорошки.

Ферменты в медицине и сельском хозяйстве. Осознание ключевой роли ферментов во всех клеточных процессах привело к широкому их применению в медицине и сельском хозяйстве. Нормальное функционирование любого растительного и животного организма зависит от эффективной работы ферментов. В основе действия многих токсичных веществ (ядов) лежит их способность ингибиовать ферменты; таким же эффектом обладает и ряд лекарственных препаратов. Нередко действие лекарственного препарата или токсичного вещества можно проследить по его избирательному влиянию на работу определенного фермента в организме в целом или в той или иной ткани. Например, мощные фосфорорганические инсектициды и нервно-паралитические газы, разработанные в военных целях, оказывают свой губительный эффект, блокируя работу ферментов - в первую очередь холинэстеразы, играющей важную роль в передаче нервного импульса. Чтобы лучше понять механизм действия лекарственных препаратов на ферментные системы, полезно рассмотреть, как работают некоторые ингибиторы ферментов. Многие ингибиторы связываются с активным центром фермента - тем самым, с которым взаимодействует субстрат. У таких ингибиторов наиболее важные структурные особенности близки к структурным особенностям субстрата, и если в реакционной среде присутствуют и субстрат и ингибитор, между ними наблюдается конкуренция за связывание с ферментом; при этом, чем больше концентрация субстрата, тем успешнее он конкурирует с ингибитором. Ингибиторы другого типа индуцируют в молекуле фермента конформационные изменения, в которые вовлекаются важные в функциональном отношении химические группы. Изучение механизма действия ингибиторов помогает химикам создавать новые лекарственные препараты.

### 4. Кинетика ферментативных процессов.

Многие ферменты с большой молекулярной массой проявляют каталитическую активность только в присутствии специфических низкомолекулярных веществ, называемых коферментами (или кофакторами). Роль коферментов играют большинство витаминов и

многие минеральные вещества; именно поэтому они должны поступать в организм с пищей. Витамины РР (никотиновая кислота, или ниацин) и рибофлавин, например, входят в состав коферментов, необходимых для функционирования дегидрогеназ. Цинк - кофермент карбоангидразы, фермента, катализирующего высвобождение из крови диоксида углерода, который удаляется из организма вместе с выдыхаемым воздухом. Железо и медь служат компонентами дыхательного фермента цитохромоксидазы. Вещество, подвергающееся превращению в присутствии фермента, называют субстратом. Субстрат при соединяется к ферменту, который ускоряет разрыв одних химических связей в его молекуле и создание других; образующийся в результате продукт отсоединяется от фермента. Этот процесс представляют следующим образом:



Продукт тоже можно считать субстратом, поскольку все ферментативные реакции в той или иной степени обратимы. Правда, обычно равновесие сдвинуто в сторону образования продукта, и обратную реакцию бывает трудно зафиксировать.

Механизм действия ферментов. Скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата  $[S]$  и количества присутствующего фермента. Эти величины определяют, сколько молекул фермента соединится с субстратом, и именно от содержания фермент-субстратного комплекса зависит скорость реакции, катализируемой данным ферментом. В большинстве ситуаций, представляющих интерес для биохимиков, концентрация фермента очень мала, а субстрат присутствует в избытке. Кроме того, биохимики исследуют процессы, достигшие стационарного состояния, при котором образование фермент-субстратного комплекса уравновешивается его превращением в продукт. В этих условиях зависимость скорости ( $v$ ) ферментативного превращения субстрата от его концентрации  $[S]$  описывается уравнением Михаэлиса - Ментен:

$$v = \frac{V[S]}{K_M + [S]},$$

где  $K_M$  - константа Михаэлиса, характеризующая активность фермента,  $V$  - максимальная скорость реакции при данной суммарной концентрации фермента. Из этого уравнения следует, что при малых  $[S]$  скорость реакции возрастает пропорционально концентрации субстрата. Однако при достаточно большом увеличении последней эта пропорциональность исчезает: скорость реакции перестает зависеть от  $[S]$  - наступает насыщение, когда все молекулы фермента оказываются занятymi субстратом. Выяснение механизмов действия ферментов во всех деталях - дело будущего, однако некоторые важные их особенности уже установлены. Каждый фермент имеет один или несколько активных центров, с которыми и связывается субстрат. Эти центры высокоспецифичны, т.е. "узнают" только "свой" субстрат или близкородственные соединения. Активный центр формируют особые химические группы в молекуле фермента, ориентированные друг относительно друга определенным образом. Происходящая так легко потеря ферментативной активности связана именно с изменением взаимной ориентации этих групп. Молекула субстрата, связанного с ферментом, претерпевает изменения, в результате которых разрушаются одни и образуются другие химические связи. Чтобы этот процесс произошел, необходима энергия; роль фермента состоит в снижении энергетического барьера, который нужно преодолеть субстрату для превращения в продукт. Как именно обеспечивается такое снижение

- до конца не установлено.

Ферментативные реакции и энергия. Высвобождение энергии при метаболизме питательных веществ, например при окислении шестиуглеродного сахара глюкозы с образованием диоксида углерода и воды, происходит в результате последовательных согласованных ферментативных реакций. В животных клетках в превращениях глюкозы в пировиноградную кислоту (пируват) или молочную кислоту (лактат) участвуют 10 разных ферментов.

Этот процесс называется гликолизом. Первая реакция - фосфорилирование глюкозы - требует участия АТФ. На превращение каждой молекулы глюкозы в две молекулы пировиноградной кислоты расходуются две молекулы АТФ, но при этом на промежуточных этапах из аденоzinидифосфата (АДФ) образуются 4 молекулы АТФ, так что весь процесс в целом дает 2 молекулы АТФ. Далее пировиноградная кислота окисляется до диоксида углерода и воды при участии ферментов, ассоциированных с митохондриями. Эти превращения образуют цикл, называемый циклом трикарбоновых кислот, или циклом лимонной кислоты.

Окисление одного вещества всегда сопряжено с восстановлением другого: первое отдает атом водорода, а второе его присоединяет. Катализируют эти процессы дегидрогеназы, обеспечивающие перенос атомов водорода от субстратов к коферментам. В цикле трикарбоновых кислот одни специфические дегидрогеназы окисляют субстраты с образованием восстановленной формы кофермента (никотинамиддинуклеотида, обозначаемого НАД), а другие окисляют восстановленный кофермент (НАДЧН), восстанавливая другие дыхательные ферменты, в том числе цитохромы (железосодержащие гемопротеины), в которых атом железа попаременно то окисляется, то восстанавливается. В конечном итоге восстановленная форма цитохромоксидазы, одного из ключевых железосодержащих ферментов, окисляется кислородом, попадающим в наш организм с вдыхаемым воздухом. Когда происходит горение сахара (окисление кислородом воздуха), входящие в его состав атомы углерода непосредственно взаимодействуют с кислородом, образуя диоксид углерода. В отличие от горения, при окислении сахара в организме кислород окисляет собственно железо цитохромоксидазы, но в конечном итоге его окислительный потенциал используется для полного окисления сахаров в ходе многоступенчатого процесса, опосредуемого ферментами. На отдельных этапах окисления энергия, заключенная в питательных веществах, высвобождается в основном маленькими порциями и может запасаться в фосфатных связях АТФ. В этом принимают участие замечательные ферменты, которые сопрягают окислительные реакции (дающие энергию) с реакциями образования АТФ (запасающими энергию). Этот процесс сопряжения известен как окислительное фосфорилирование. Не будь сопряженных ферментативных реакций, жизнь в известных нам формах была бы невозможна. Ферменты выполняют и множество других функций. Они катализируют разнообразные реакции синтеза, включая образование тканевых белков, жиров и углеводов. Для синтеза всего огромного множества химических соединений, обнаруженных в сложных организмах, используются целые ферментные системы. Для этого нужна энергия, и во всех случаях ее источником служат фосфорилированные соединения, такие, как АТФ.

## 1.5 Лекция № 3 (2 часа).

Тема: «Гормоны: классификация, механизм действия»

### 1.5.1 Вопросы лекции:

1. Понятие о гормонах. История открытия.
2. Номенклатура.
3. Классификация гормонов.
4. Характеристика некоторых гормонов.

### 1.5.2 Краткое содержание вопросов:

#### 1. Понятие о гормонах. История открытия.

Гормоны - специфические, физиологически активные вещества, вырабатываемые железами внутренней секреции. Гормоны обладают высокой биологической активностью. Размер молекул гормонов сравнительно небольшой это обеспечивает их проникновение через стенки капилляров из кровяного русла в ткани. Малые размеры молекул облегчают гормонам выход из клеток через клеточные мембранны. Гормоны сравнительно быстро раз-

рушаются тканями, поэтому для обеспечения длительного действия необходимо их постоянное выделение в кровь. Только в этом случае возможно поддержание постоянной концентрации гормонов в крови. Гормоны обладают относительной видовой специфичностью, что имеет важное значение, так как позволяет недостаток того или иного гормона в организме человека компенсировать введением гормональных препаратов, получаемых из соответствующих желез животных. В настоящее время удалось не только выделить многие гормоны, но даже получить некоторые из них синтетическим путем. По химическому строению некоторые гормоны относятся к полипептидам (инсулин и большинство гормонов гипофиза). Гормоны щитовидной железы - тироксин и трийодтиронин, а также адреналин и норадреналин, вырабатываемые в мозговом слое надпочечников, являются производными аминокислот. Гормоны коры надпочечников и половых желез по своей природе являются стероидами. Гормоны действуют на обмен веществ, регулируют клеточную активность, способствуют проникновению продуктов обмена веществ через клеточные мембранны. Гормоны влияют на дыхание, кровообращение, пищеварение, выделение; с гормонами связана функция размножения. Рост и развитие организма, смена различных возрастных периодов связаны с деятельностью желез внутренней секреции. Гормоны влияют на рост и дифференцировку тканей. Так, при снижении функции передней доли гипофиза резко снижается активность синтеза белка в организме вследствие этого наступает задержка роста. При недостатке гормонов щитовидной железы нарушается дифференцировка тканей. В этом можно легко убедиться, если у головастика удалить щитовидную железу: головастик растет, но его метаморфоз в зелую лягушку не происходит. При задержке развития половых желез запаздывают или слабо развиваются вторичные половые признаки, а при недостаточной выработке гонадотропных гормонов гипофиза нарушается созревание половых желез и образование специфических половых клеток. Иодосодержащие гормоны щитовидной железы оказывают стимулирующее влияние на процесс регенерации. Под их влиянием ускоряется заживление кожных и мышечных ран, костных переломов.

## 2. Номенклатура.

Химическая природа почти всех известных гормонов выяснена в деталях (включая первичную структуру белковых и пептидных гормонов), однако до настоящего времени не разработаны общие принципы их номенклатуры. Химические наименования многих гормонов точно отражают их химическую структуру и очень громоздкие. Поэтому чаще применяются тривиальные названия гормонов. Принятая номенклатура указывает на источник гормона (например, инсулин – от лат. *insula* – островок) или отражает его функцию (например, пролактин, вазопрессин). Для некоторых гормонов гипофиза (например, лютеинизирующего и фолликулостимулирующего), а также для всех гипоталамических гормонов разработаны новые рабочие названия.

Аналогичное положение существует и в отношении классификации гормонов. Гормоны классифицируют в зависимости от места их природного синтеза, в соответствии с которым различают гормоны гипоталамуса, гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, поджелудочной железы, половых желез, зобной железы и др. Однако подобная анатомическая классификация недостаточно совершенна, поскольку некоторые гормоны или синтезируются не в тех железах внутренней секреции, из которых они секретируются в кровь (например, гормоны задней доли гипофиза, вазопрессин и окситоцин синтезируются в гипоталамусе, откуда переносятся в заднюю долю гипофиза), или синтезируются и в других железах (например, частичный синтез половых гормонов осуществляется в коре надпочечников, синтез простагландинов происходит не только в предстательной железе, но и в других органах) и т.д. С учетом этих обстоятельств были предприняты попытки создания современной классификации гормонов, основанной на их химической природе. В соответствии с этой классификацией различают три группы истинных гормонов: 1) пептидные и белковые гормоны, 2) гормоны – производные аминокислот и 3) гормоны стероидной природы. Четвертую группу составляют эйказаноиды – гормоноподобные вещества, оказывающие местное действие. Пептидные и белковые гормоны включают от 3

до 250 и более аминокислотных остатков. Это гормоны гипоталамуса и гипофиза (тиролиберин, соматолиберин, соматостатин, гормон роста, кортикотропин, тире-отропин и др. – см. далее), а также гормоны поджелудочной железы (инсулин, глюкагон). Гормоны – производные аминокислот в основном представлены производными аминокислоты тирозина. Это низкомолекулярные соединения адреналин и норадреналин, синтезирующиеся в мозговом веществе надпочечников, и гормоны щитовидной железы (тиroxин и его производные). Гормоны 1-й и 2-й групп хорошо растворимы в воде.

Гормоны стероидной природы представлены жирорастворимыми гормонами коркового вещества надпочечников (кортикоиды), половыми гормонами (эстрогены и андрогены), а также гормональной формой витамина D.

Эйказаноиды, являющиеся производными полиненасыщенной жирной кислоты (арахидоновой), представлены тремя подклассами соединений: простагландины, тромбоксаны и лейкотриены. Эти нерастворимые в воде и нестабильные соединения оказывают свое действие на клетки, находящиеся вблизи их места синтеза.

### 3. Классификация гормонов.

Все гормоны классифицируют по химическому строению, биологическим функциям и механизму действия.

#### *1. Классификация гормонов по химическому строению*

По химическому строению гормоны делят на 3 группы: пептидные (или белковые), стероидные и непептидные производные аминокислот (табл. 11-1).

#### *2. Классификация гормонов по биологическим функциям*

По биологическим функциям гормоны можно разделить на несколько групп (табл. 11-2). Эта классификация условна, поскольку одни и те же гормоны могут выполнять разные функции. Например, адреналин участвует в регуляции обмена жиров и углеводов и, кроме этого, регулирует частоту сердечных сокращений, АД, сокращение гладких мышц. Кортизол не только стимулирует глюконеогенез, но и вызывает задержку NaCl.

Таблица 11-1. Классификация гормонов по химическому строению

Пептидные гормоны	Стероиды	Производные аминокислот
Адренокортикотропный гормон (кортикотропин, АКТГ)	Альдостерон	Адреналин
Гормон роста (соматотропин, ГР, СТГ)	Кортизол	Норадреналин
Тиреотропный гормон (тиреотропин, ТТГ)	Кальцитриол	Трийодтиронин ( $T_3$ )
Лактогенный гормон (пролактин, ЛТГ)	Тестостерон	Тироксин ( $T_4$ )
Лютеинизирующий гормон (лютропин, ЛГ)	Эстрадиол	
Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)	Прогестерон	
Меланоцитстимулирующий гормон (МСГ)		
Хорионический гона-		

дотропин (ХГ)		
Антидиуретический гормон (вазопрессин, АДГ)		
Окситоцин		
Паратиреоидный гормон (паратгормон, ПТГ)		
Кальцитонин		
Инсулин		
Глюкагон		

Таблица 11-2. Классификация гормонов по биологическим функциям

Регулируемые процессы	Гормоны
Обмен углеводов, липидов, аминокислот	Инсулин, глюкагон, адреналин, кортизол, тироксин, соматотропин
Водно-солевой обмен	Альдостерон, антидиуретический гормон
Обмен кальция и фосфатов	Паратгормон, кальцитонин, кальцитриол
Репродуктивная функция	Эстрадиол, тестостерон, прогестерон, гонадотропные гормоны
Синтез и секреция гормонов эндокринных желёз	Тропные гормоны гипофиза, либерины и статины гипоталамуса
Изменение метаболизма в клетках, синтезирующих гормон	Эйказаноиды, гистамин, секретин, гастрин, соматостатин, вазоактивный интестинальный пептид (ВИП), цитокины

#### 4. Характеристика некоторых гормонов.

Щитовидная железа продуцирует йодсодержащие тиреоидные Г. Характерной особенностью клеток этой железы является их способность избирательно накапливать йод. При недостатке йода, необходимого для синтеза Г. щитовидной железы, ткань железы разрастается, образуется зоб. В клетках железы йод используется Для синтеза монойодтирозина и дийодтирозина, которые образуют в спец. клетках щитовидной железы соединение с белком - тиреоглобулин. При расщеплении тиреоглобулина спец. ферментом, вырабатываемым железой, - протеиназой образуются активные Г. щитовидной железы- трийодтиронин и тетраийодтиронин, или тироксин. Они переходят в кровь, где связываются с белками сыворотки крови (с сглобулинами), которые являются их переносчиками. В тканях эти комплексы распадаются, освобождая тироксин и трийодтиронин. Трийодтиронин физиологически более активен, чем тироксин, но количество его в сыворотке крови в 20 раз меньше. Высокая физиологическая активность трийодтиронина объясняется тем, что он легче отщепляется от белковпереносчиков. Срок полураспада тироксина, находящегося в свободном состоянии в крови, ок. 6 дней, а трийодтиронина - ок. 2\*/г дней. Характерное действие Г. щитовидной железы - усиление энергетического обмена, которое при введении тироксина начинается не сразу, а через 24 часа и достигает максимума к 10-12-му дню. При введении трийодтиронина энергетический обмен усиливается раньше - через 6-12 час. При введении человеку 1 мг тироксина суточный расход энергии повышается примерно на 1000 ккал. Тироксин

роксин увеличивает расходование всех питательных веществ - углеводов, жиров и белков. Под его влиянием повышается потребление тканями глюкозы крови, к-рое компенсируется увеличением распада гликогена в печени. Г. щитовидной железы влияют не только на энергетич. процессы в организме, но и на пластич., в результате чего ускоряется рост организма. Кроме того, Г. щитовидной железы стимулируют центральную нервную систему, под их влиянием рефлексы становятся более выраженным (напр., сухожильный), при физиологич. повышении продукции Г. щитовидной железы появляется дрожание (тремор) конечностей. Кроме йодсодержащих Г., в щитовидной железе образуется еще один Г.- тирокальцитонин, контролирующий обмен кальция в организме. Под его влиянием угнетается функция спец. клеток остеокластов, разрушающих костную ткань, и активируется функция остеобластов, строящих костную ткань. Тирокальцитонин называют Г., сберающим кальций в организме. Он обладает чрезвычайно высокой физиологич. активностью. Введение его здоровым людям малоэффективно, а у больных с повышенным содержанием кальция в крови и увеличенным его выходом из костной ткани при введении этого Г. значительно снижается концентрация кальция в крови.

Гормон паращитовидных желез. Эти железы продуцируют так наз. паратгормон, вызывающий повышение содержания кальция в крови. При недостатке этого гормона содержание кальция и фосфатов в крови понижается, а выведение фосфатов с мочой увеличивается. При избытке паратгормона содержание фосфатов в крови увеличивается, а их выведение с мочой уменьшается. Паратгормон стимулирует действие остеокластов, разрушающих костную ткань, выходящий из нее кальций поступает в кровь, и его содержание в ней резко повышается. Вообще этот Г. стимулирует все процессы, вызывающие увеличение концентрации кальция в крови: он усиливает его всасывание в кишечнике и процессы обратного всасывания кальция в почечных канальцах.

Гормоны поджелудочной железы. При изучении строения тканей поджелудочной железы было установлено, что в ней существуют особые группы клеток, получившие название островков Лангерганса по имени открывшего их исследователя. Эти клетки выделяют секрет в кровь, т. е. являются железами внутренней секреции. Островки Лангерганса состоят из трех видов клеток: альфа, бета и гамма. Бетаклетки продуцируют гормон инсулин, альфа-клетки - гормон глюкагон. Инсулин - гормон полипептидной природы. Это первый Г., который удалось синтезировать химич. путем.

Инсулин резко повышает проницаемость стенок мышечных и жировых клеток для глюкозы. Т. к. все процессы усвоения глюкозы происходят внутри клеток, а инсулин способствует транспорту глюкозы в них, то он обеспечивает утилизацию глюкозы организмом, синтез гликогена (резервного углевода) и накопление его в мышечных волокнах. Увеличивая поступление глюкозы в клетки жировой ткани, инсулин стимулирует образование жира в организме.

Кроме того, инсулин стимулирует и синтез белка в клетке, увеличивая проницаемость клеточных стенок для аминокислот.

После введения больших доз инсулина значительное количество глюкозы переходит из крови внутрь клеток скелетной мускулатуры, мышцы сердца и т. д., а также в клетки молочной железы и других органов. Это вызывает резкое падение концентрации глюкозы в крови и вследствие этого недостаточное поступление глюкозы в клетки нервной системы, на проницаемость стенок которых инсулин не действует. Поэтому головной и спинной мозг начинает испытывать острый недостаток глюкозы, являющейся основным источником энергии для деятельности нервных клеток, результатом этого бывает острое нарушение деятельности мозга - инсулиновый, или гипогликемический, шок. Явления шока наступают, когда содержание сахара (глюкозы) в крови падает до 45-50 мг% (норма 80-120 мг%). Гипогликемический шок может наступить даже при небольшой дозе инсулина, если его вводят натощак; внутривенное введение р-ра глюкозы немедленно прекращает инсулиновый шок. Недостаточность инсулина в организме является причиной развития сахарного диабета.

Глюкагон - второй Г. поджелудочной железы - стимулирует расщепление гликогена до глюкозы внутри клеток (активируя соответствующие ферменты) и повышает содержание сахара в крови. Глюкагон стимулирует также расщепление жира в жировой ткани. Т. о., по результатам своего действия глюкагон является антагонистом (т. е\* веществом, действующим противоположно) инсулина.

Гормоны надпочечников. Надпочечники состоят из мозгового и коркового вещества, к-рые представляют собой разные по структуре и функции железы внутренней секреции. Г. мозгового слоя надпочечников - адреналин и его предшественник норадреналин влияют на многие функции организма, в т. ч. на внутренние процессы обмена веществ. Они усиливают расщепление гликогена и уменьшают его запасы в мышцах и печени, являясь в этом отношении антагонистами инсулина. Вследствие действия адреналина освободившаяся после расщепления гликогена глюкоза переходит в кровь и возникает так наз. адреналиновая гипергликемия. Адреналин вызывает усиление и учащение сердечных сокращений, улучшает проведение нервных импульсов в сердце. Адреналин снижает тонус гладких мышц желудка и кишечника, уменьшая их перистальтику. Однако некоторые гладкие мышцы под действием адреналина сокращаются; напр., сокращаются радиальные мышцы радужной оболочки, в результате чего зрачки расширяются; вследствие сокращения гладких мышц кожи, поднимающих волосы, появляется «гусиная кожа», а волосы «встают дыбом».

Введение адреналина повышает работоспособность скелетных мышц при их утомлении, повышает возбудимость зрительных и слуховых рецепторов. Т. о., адреналин может вызвать экстренное повышение работоспособности организма в чрезвычайных условиях. При всех состояниях, к-рые сопровождаются активной деятельностью организма и усиленiem обмена веществ, напр. при эмоциональном возбуждении, мышечной работе, охлаждении и т. п., усиливается секреция адреналина надпочечниками. Г. коры надпочечников являются минералокортикоиды - альдостерон, кортикостерон, дезоксикортикостерон, к-рые регулируют минерал, обмен; глюкокортикоиды - гидрокортизон, кортизон и кортикостерон, влияющие прежде всего на углеводный, белковый и жировой обмен; половые гормоны - андрогены, эстрогены, прогестерон. Наиболее активный из минералокортикоидов альдостерон регулирует уровень натрия и калия в крови. Увеличение под влиянием альдостерона концентрации хлористого натрия в крови и тканевой жидкости приводит к задержке жидкости в организме и способствует повышению артериального давления. Недостаток минералокортикоидов приводит к обратному явлению - потере воды и обезвоживанию организма, т. е. наступают изменения, несовместимые с жизнью. Поэтому минералокортикоиды называют «гормонами, сохраняющими жизнь». Глюкокортикоиды и наиболее активный из них гидрокортизон стимулируют образование глюкозы в печени и повышают тем самым уровень сахара в крови. Содержание гликогена в печени при этом может даже нарастать. Этим действие глюкокортикоидов отличается от действия адреналина. При введении глюкокортикоидов даже при достаточном поступлении белков с пищей возникает отрицательный азотистый баланс, что свидетельствует о преобладании распада белков в организме над их синтезом, однако в печени синтез белков и особенно ферментов ускоряется. Глюкокортикоиды усиливают мобилизацию жира из жировых депо и его использование в процессах энергетического обмена. При недостаточной секреции этих Г. понижается сопротивляемость организма, поэтому инф. заболевания и другие неблагоприятные воздействия переносятся особенно тяжело. Глюкокортикоиды снижают реакции организма, наблюдающиеся при ревматизме, воспалении и некоторых других заболеваниях. На этом основано их клинич. применение. Т. к. эти Г. угнетают развитие воспалительных процессов, их называют «противовоспалительными гормонами». Установлено, что при боли, травме, кровопотере, перегревании, переохлаждении, некоторых отравлениях, инф. заболеваниях, тяжелых психич. переживаниях выделение глюкокортикоидов усиливается. При этих состояниях усиливается секреция в кровь адреналина, который, действуя на гипоталамус, вызывает в его клетках образование так наз. корти-

котропиносвобождающего фактора, к-рый, в свою очередь, вызывает образование в передней доле гипофиза адренокортикотропного Г. (АКТГ). Этот Г. стимулирует выработку в коре надпочечников глюкокортикоидов. Состояние, возникающее под влиянием неблагоприятных факторов и ведущее к повышенному образованию глюкокортикоидов, канадский исследователь Селье назвал «напряжение» или «стресс». В развитии этого состояния он различает три стадии, или фазы: 1) фаза «тревоги», когда начинают действовать неблагоприятные факторы, происходит усиленная экскреция (выведение в кровь) АКТГ и глюкокортикоидов; 2) фаза резистентности, когда повышенное количество циркулирующих в крови глюкокортикоидов способствует развитию устойчивости организма к неблагоприятным воздействиям; 3) фаза «истощения», когда надпочечники не могут обеспечить достаточного образования глюкокортикоидов, «защищающих» организм, и его состояние ухудшается. Однако сопротивляемость организма неблагоприятным воздействиям зависит от многих факторов, а не только от продукции глюкокортикоидов надпочечниками. Половые Г. коры надпочечников -н- андрогены и эстрогены - играют значительную роль в развитии половых органов в детском возрасте, т. е. тогда, когда внутрисекреторная функция половых желез еще незначительна. После достижения половой зрелости роль этих Г. у человека уменьшается.

Гормоны половых желез. Физиологическая роль половых Г., синтезируемых половыми железами, андрогенов (мужских половых гормонов) и эстрогенов (женских половых гормонов) - состоит в обеспечении половой функции организма. Благодаря этим Г. осуществляется развитие вторичных половых признаков, являющихся характерными отличиями мужского и женского организмов. В женском организме половые Г. играют большую роль в возникновении половых циклов, в обеспечении нормального протекания беременности и в подготовке к кормлению новорожденного.

Гормоны гипофиза по своему физиологическому значению подразделяются на два типа. Одни активируют деятельность других эндокринных желез, следовательно, обладают пусковым эффектом. К таким Г. относится: адренокортикотропный гормон (АКТГ), действующий на надпочечники; тиреотропный гормон (ТТГ) - на щитовидную железу; фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лутеинизирующий гормон (ЛГ) и лактотропный гормон (ЛТТ), регулирующие функции половых желез. Другие Г. гипофиза оказывают общее действие на организм. Среди них следует особо выделить гормон роста (соматотропный гормон - СТГ). Одним из наиболее значительных последствий удаления, разрушения или недоразвития гипофиза является ослабление или даже прекращение роста. Наоборот, избыточная функция гипофиза, например, вследствие развития в нем опухоли, приводит к чрезмерному усилению процессов роста, иногда равномерному, но чаще неравномерному, поражающему преимущественно некрые части тела (см. Акромегалия). Меланостимулирующий Г. (и н т е р-м е д и н) принимает участие в процессах пигментации (окраски) кожи и слизистой оболочки. Возрастание концентрации в крови этого Г., действие которого тесно связано с АКТГ, наблюдается при беременности, бронзовой болезни. Антидиуретический гормон (АДГ) влияет на интенсивность мочеотделения, регулируя количество воды, выделяемой из организма. Гормон окситоцин стимулирует сокращение матки, родовую деятельность, участвует в выделении молока. Он образуется не только в женском организме, но и в мужском, где роль его пока еще не выяснена. Гормоны местного действия (тканевые гормоны) вырабатываются не железами внутренней секреции, а специализированными клетками, расположенными в самых различных органах. Физиологическое значение этих Г. состоит в том, что они контролируют, в первую очередь, деятельность того органа, в котором образуются. Примерами могут служить гастрин, образующийся в клетках желудка и способствующий выделению желудочного сока; гистамин, который, выделяясь в каком-либо участке кожи, вызывает местное расширение кровеносных сосудов, зуд и боль; паротин, образующийся в околоушной слюнной железе и влияющий на развитие зубов, хрящевой и костной ткани и т. д.

## 1.6. Лекция № 6 (2 часа).

Тема: «Обмен углеводов»

### 1.6.1 Вопросы лекции:

1. Общая схема обмена углеводов
2. Пути распада полисахаридов и олигосахаридов
3. Метаболизм моносахаров.

### 1.6.2 Краткое содержание вопроса:

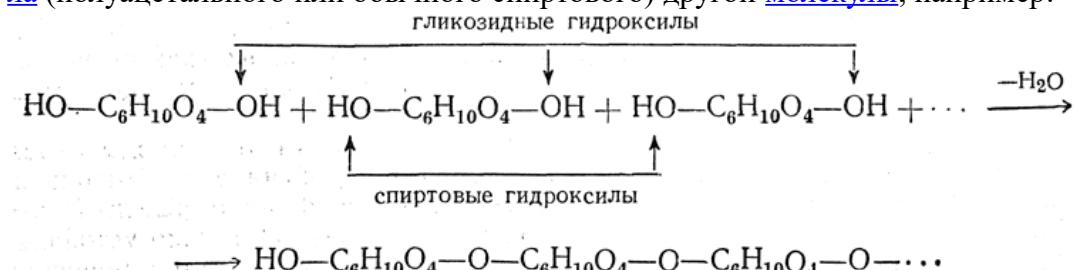
#### 1. Общая схема обмена углеводов

#### 2. Пути распада полисахаридов и олигосахаридов.

Полисахаридами называются углеводы, которые при гидролизе распадаются с образованием нескольких молекул моносахаридов, далее не гидролизующихся. Таким образом, это ангидридоподобные соединения, образующиеся при выделении воды из нескольких молекул моносахаридов:

n молекул моносахаридов —  $(n - 1)H_2O \rightarrow 1 \text{ молекула полисахарида}$

Все полисахариды построены по типу гликозидов. При их образовании выделяется вода, как правило за счет полуацетального гидроксила одной молекулы и какого-либо гидроксила (полуацетального или обычного спиртового) другой молекулы, например:



Желая подчеркнуть такое строение полисахаридов, их иногда называют гомозидами, в отличие от гетерозидов — обычных гликозидов, при гидролизе распадающихся на простые сахара и вещества неуглеводного характера (агликоны). Гомозиды, или сложные сахара, при гидролизе образуют лишь молекулы простых сахаров.

Важнейшая реакция полисахаридов — это реакция гидролиза, обратная реакции их образования:

1 молекула полисахарида +  $(n - 1)H_2O \rightarrow n \text{ молекул} моносахаридов$

Кроме изображенного этим уравнением полного гидролиза, возможны промежуточные реакции неполного гидролиза. Если к полисахариду присоединяется вода в количестве, недостаточном для полного расщепления молекулы полисахарида на молекулы моносахаридов, то из молекулы более сложного полисахарида получаются две или несколько молекул менее сложных углеводов.

Гидролиз полисахаридов, называемый иногда инверсией (по аналогии с гидролизом тростникового сахара, в результате которого изменяется направление вращения плоскости поляризации), происходит или под катализитическим влиянием минеральных кислот, или под действием природных катализаторов — энзимов.

Скорость кислотного гидролиза полисахаридов в значительной степени зависит от их строения, в частности от того, в каком виде входят в них остатки моносахаридов: в виде пиранозных или фуранозных колец,  $\alpha$ - или  $\beta$ -конфигураций и т. д.

Особенно специфичен ферментативный гидролиз полисахаридов. Ферменты, каталитически ускоряющие гидролиз полисахаридов (носящие общее название карбогидразы), действуют строго избирательно, например только на  $\alpha$ -гликозидную связь ( $\alpha$ -гликозидазы) или только на  $\beta$ -гликозидную связь ( $\beta$ -гликозидазы). Избирательность действия карбогидраз зависит также от ряда других, более тонких особенностей структур полисахарида. Так, например, некоторые ферменты вызывают гидролиз только тех гликозидных связей, которые находятся на определенном по счету месте от конца полигликозидной цепи (известны

карбогидразы, гидролизующие каждую вторую гликозидную связь, каждую пятую или каждую шестую гликозидную связь). В связи с избирательным действием карбогидраз ферментативный гидролиз полисахаридов является важным методом изучения их строения

К полисахаридам относятся весьма различные по молекулярному весу и свойствам вещества, и поэтому обычно полисахариды делят на две подгруппы:

1. Олигосахариды — низкомолекулярные полисахариды, растворимые в воде и способные кристаллизоваться.

2. Высшие полиозы — высокомолекулярные полисахариды, мало растворимые или вовсе нерастворимые в воде, в большинстве случаев не кристаллизующиеся.

Олигосахариды обладают, как правило, сладким вкусом; при гидролизе каждая молекула олигосахарида распадается на небольшое число молекул моносахарида (от двух до шести). Общеизвестным примером олигосахаридов является тростниковый, или свекловичный, сахар, гидролизующийся с образованием одной молекулы глюкозы и одной молекулы фруктозы.

Высшие полиозы (высшие полисахариды) сладким вкусом не обладают; при гидролизе каждая молекула полиозы распадается на очень большое число молекул моноз, исчисляемых иногда десятками и сотнями тысяч. Самыми важными представителями высших полиоз, широко распространенными в природе, являются крахмал и целлюлоза.

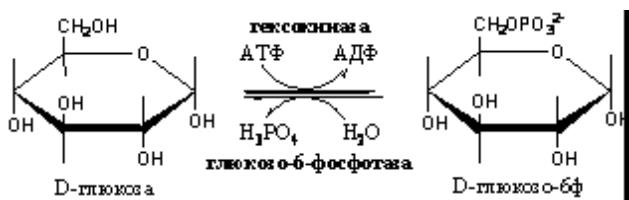
### 3. Метаболизм моносахаров.

После всасывания в кишечнике глюкоза и другие моносахариды поступают в воротную вену и далее в печень. Моносахариды в печени превращаются в глюкозу или продукты её метаболизма. Часть глюкозы в печени депонируется в виде гликогена, часть идет на синтез новых веществ, а часть через кровоток, направляется в другие органы и ткани. При этом печень поддерживает концентрацию глюкозы в крови на уровне 3,3-5,5 ммоль/л. В клетках глюкоза и другие моносахариды с использованием АТФ фосфорилируются до фосфорных эфиров: глюкоза + АТФ → глюкоза-6ф + АДФ. Для гексоз эту необратимую реакцию катализирует фермент гексокиназа, которая имеет изоформы: в мышцах - гексокиназа II, в печени, почках и β-клетках поджелудочной железы - гексокиназа IV (глюкокиназа), в клетках опухолевых тканей - гексокиназа III. Фосфорилирование моносахаридов приводит к образованию реакционно-способных соединений (реакция активации), которые не способны покинуть клетку т.к. нет соответствующих белков-переносчиков. Фосфорилирование уменьшает количество свободной глюкозы в цитоплазме, что облегчает ее диффузию из крови в клетки.

Гексокиназа II фосфорилирует D-глюкозу, и с меньшей скоростью, другие гексозы. Обладая высоким сродством к глюкозе ( $K_m < 0,1$  ммоль/л), гексокиназа II обеспечивает поступление глюкозы в ткани даже при низкой концентрации глюкозы в крови. Так как гексокиназа II ингибируется глюкозо-6-ф (и АТФ/АДФ), глюкоза поступает в клетку только по мере необходимости.

Глюкокиназа (гексокиназа IV) имеет низкое сродство к глюкозе ( $K_m - 10$  ммоль/л), активна в печени (и почках) при повышении концентрации глюкозы (в период пищеварения). Глюкокиназа не ингибируется глюкозо-6-фосфатом, что дает возможность печени без ограничений удалять излишки глюкозы из крови.

Глюкозо-6-фосфатаза катализирует необратимое отщепление фосфатной группы гидролитическим путём в ЭПР: Глюкозо-6-ф +  $H_2O \rightarrow$  Глюкоза +  $H_3PO_4$ , есть только в печени, почках и клетках эпителия кишечника. Образовавшаяся глюкоза способна дифундировать из этих органов в кровь. Таким образом, глюкозо-6-фосфатаза печени и почек позволяет повышать низкий уровень глюкозы в крови.



### Метаболизм глюкозо-6-фосфата

Глюкозо-6-фосфат может использоваться клеткой в различных превращениях, основными из которых являются: катаболизм с образованием АТФ, синтез гликогена, липидов, пентоз, полисахаридов и аминокислот.

### 1.7. Лекция № 7 (2 часа).

#### Тема: «Обмен белков» (1)

##### 1.7.1 Вопросы лекции:

1. Общая схема обмена белков
2. Катаболизм белков.

##### 1.7.2 Краткое содержание вопроса:

###### 1. Общая схема обмена белков

Все животные и растительные ткани состоят из различных химических соединений: белков, углеводов, жиров и витаминов. И хотя все эти вещества необходимы для нормального развития организма, наибольшее значение имеют белки. Именно они служат той основной материей, из которой состоят все частицы отдельной клетки и целого организма. Белки являются высшей ступенью развития материи и с ними неразрывно связаны все неисчислимое многообразные проявления жизни, начиная с простейших функций самых примитивных существ и заканчивая сложнейшими функциями человеческой деятельности. Полученные с пищей белки подвергаются полному гидролизу в желудочно-кишечном тракте до аминокислот, которые всасываются и кровотоком распределяются в организме. Внутриклеточное разрушение белков (протеолиз) происходит частично в липосомах. Кроме того, в цитоплазме имеются органеллы, так называемые протеасомы, в которых разрушаются неправильно свернутые или денатурированные белки. Такие молекулы узнаются с помощью специальных маркеров

.Почти все клетки способны осуществлять **биосинтез** белков (схема)

###### 2. Катаболизм белков.

В пищевом канале белки подвергаются расщеплению до аминокислот и простатических групп. В *ротовой полости* корма, содержащие белки, механически измельчаются, смачиваются слюной и образуют пищевой ком, который по пищеводу поступает в желудок (у жвачных - в преджелудки и съчуг, у птиц - в железистый и мышечный желудки). В составе слюны нет ферментов, способных расщеплять белки корма. Пережеванные кормовые массы поступают в желудок (у жвачных в съчуг), перемешиваются и пропитываются желудочным соком. *Желудочный сок* - бесцветная и слегка опалесцирующая жидкость плотностью 1,002-1,010. У человека в течение суток образуется около 2 л, у крупного рогатого скота - 30, у лошади - 20, у свиньи - 4, у собаки - 2-3, у овцы и козы - 4 л желудочного сока. Выделение желудочного сока в первой (сложнорефлекторной) фазе определяется видом, запахом и вкусом корма, во второй (нейрогуморальной) - его химическим составом и механическим раздражением рецепторов слизистой оболочки. В состав желудочного сока входит 99,5% воды и 0,5% плотных веществ. Плотные вещества включают ферменты пепсин, реннин, гастрексин, желатиназу, липазу (у свиней и амилазу); белки - сывороточные альбумины и глобулины, мукопротеины слизи, фактор Касла; из минеральных веществ кислоты (в основном соляную) и соли. Основным ферментом желудочного сока является пепсин, а кислотой, создающей условия для его каталитического действия, - соляная. В образовании пепсина участвуют главные клетки желез дна желудка, в образовании соля-

ной кислоты - обкладочные. Источником хлорид-ионов служит  $\text{NaCl}$ , ионов  $\text{H}^+$ -протоны, поступающие из крови в цитоплазму обкладочных клеток вследствие окислительно-восстановительных реакций (Г. Д. Ковбасюк, 1978). Соляная кислота создает необходимую кислотность для каталитического действия ферментов. Так, у человека рН желудочного сока равен 1,5-2,0, у крупного рогатого скота - 2,17-3,14, у лошади - 1,2-3,1, у свиньи - 1,1-2,0, у овцы - 1,9-5,6, у птиц - 3,8. Соляная кислота создает также условия для превращения пепсиногена в пепсин, ускоряет расщепление белков на составные части, их денатурацию, набухание и разрыхление, препятствует развитию в желудке гнилостных и бродильных процессов, стимулирует синтез гормонов кишечника и др. В лабораторной практике определяют общую, свободную и связанную кислотность желудочного сока. Реннин (химозин, или сычужный фермент) вырабатывается у молодых жвачных железами слизистой оболочки сычуга. Синтезируется в виде прореннина, который при значении  $\text{pH} < 5$  превращается в реннин. Под его влиянием казеиноген молока превращается в казеин. Оказывает каталитическое действие при слабокислой реакции ( $\text{pH } 5,0\text{-}5,3$ ) и наличии солей кальция. Молекула реннина представляет собой полипептидную цепь, молекулярная масса его 34 тыс. В желудке происходит гидролитическое расщепление большинства белков корма. Так, нуклеопротеиды под влиянием соляной кислоты и пепсина распадаются на нуклеиновые кислоты и простые белки. Здесь же происходит расщепление и других протеидов. Под влиянием пепсина расщепляются пептидные связи по краям белковых молекул. Легче всего разрушаются связи, образованные ароматическими и дикарбоновыми аминокислотами. Пепсин легко расщепляет белки животного происхождения (казеин, миоглобин, миоген, миозин) и некоторые растительные белки, построенные в основном из моноаминодикарбоновых кислот (глиадин и глутелин злаков), за исключением кератинов шерсти, фибронинов шелка, муцинов слизи, овомукоидов, некоторых белков костей и хрящей. Часть белков расщепляется другими протеолитическими ферментами желудочного сока, например, коллагены - желатиназой, казенны - реннином. Под влиянием составных частей желудочного сока, прежде всего соляной кислоты и ферментов, белки в желудке гидролизуются до простетических групп, альбумоз, пептонов, полипептидов и даже аминокислот. Желудочная секреция стимулируется гормонами слизистой оболочки пищевого канала: гастрином (в привратнике), энтерогастрином (в кишках), гистамином (в желудке) и др. Особенности переваривания белков у жвачных. У жвачных пищевой ком из пищевода поступает в преджелудки, где подвергается дополнительной механической переработке, при жвачке возвращается в ротовую полость, снова измельчается, затем попадает в рубец, сетку, книжку и сычуг, где завершается первый этап пищеварения. В преджелудках происходит химическая переработка веществ корма под влиянием ферментов бактерий, инфузорий и грибов, симбиотирующих там. До 38% микробов рубца крупного рогатого скота и 10% микробов рубца овец обладают протеолитической активностью, 70-80% таких ферментов сосредоточены внутри клеток, 20-30%-в рубцовой жидкости. Ферменты действуют аналогично трипсину, расщепляя пептидные связи между карбоксильной группой аргинина или лизина и аминогруппой других аминокислот при  $\text{pH } 5,5\text{-}6$  и  $\text{pH } 6,5\text{-}7$ . Белки под влиянием пептид-гидролаз расщепляются до пептидов, пептиды пептидазами - до олигопептидов, олигопептиды - до аминокислот. Так, зеин кукурузы гидролизуется на 60% до аминокислот, а казеин - на 90%. Часть аминокислот дезаминируется ферментами бактерий. Замечательной особенностью пищеварения в преджелудках является синтез белков микроорганизмами из небелковых веществ корма и продуктов его переработки. Основная масса растительных кормов представлена углеводами, и прежде всего клетчаткой. Клетчатка в преджелудках под влиянием микробных ферментов целлюлазы и целлобиазы расщепляется до  $\alpha$ -D(+)-глюкозы и  $\beta$ -D(+)-глюкозы. Монозы подвергаются различным видам брожения, что приводит к образованию низкомолекулярных жирных кислот. Так, при молочнокислом брожении, вызываемом *Bac. lactis*, из глюкозы образуется молочная кислота:  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 2\text{CH}_3 \rightarrow \text{CH}_3\text{-COOH}$ . При маслянокислом брожении, вызываемом бактериями рода *Clostridium*, образуется масляная кислота:  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH} +$

$2\text{H}_2 + 2\text{CO}_2$  и т. д. Количество летучих жирных кислот в рубце коровы может достигать 7 кг в сутки. При сеноконцентратном рационе в рубце коров содержится: уксусной кислоты - 850-1650 г, пропионовой - 340-1160, масляной кислоты - 240-450 г.

В пересчете на уксусную кислоту в рубце овцы за сутки образуется 200-500 г летучих жирных кислот. Их процентный состав следующий:

Муравьиная	0,0-5,0	Масляная	6,0-19,0
Уксусная	45,0-76,0	Изомасляная	0,3-2,8
Пропионовая	12,0-29,0	Валериановая	0,6-3,3

Часть этих кислот идет на синтез молочного жира, гликогена и других веществ (рис. 22), часть - служит материалом для синтеза микрофлорой аминокислот и собственного белка. Синтез микрофлорой аминокислот в преджелудках жвачных происходит за счет безазотистых продуктов брожения и аммиака. Источником аммиака являются продукты расщепления мочевины, аммонийных солей и

Пути использования продуктов микробной ферментации преджелудков жвачных (по Н. В. Курилову) других азотсодержащих добавок к рационам. Так, мочевина под влиянием фермента уреазы, продуцируемого микрофлорой рубца, расщепляется до аммиака и углекислого газа: Источником безазотистых продуктов чаще всего служат кетокислоты, которые образовались из кислот жирного ряда (см. выше). Этот биосинтез носит обычно характер восстановительного аминирования: Из аминокислот микроорганизмы синтезируют белки, необходимые для своего существования. В зависимости от рациона в рубце коров может синтезироваться 300-700 г бактериального белка в сутки. Из преджелудков кормовые массы поступают в съчуг, где под влиянием кислого съчужного сока микроорганизмы гибнут, а их белки расщепляются до аминокислот. Из желудка (съчуга) кормовые массы мелкими порциями поступают в тонкую кишку, где завершается расщепление белков. В нем участвуют протеолитические ферменты секрета поджелудочной железы и кишечного сока. Эти реакции протекают в нейтральной и слабощелочной среде ( $\text{pH } 7-8,7$ ). В тонкой кишке гидрокарбонаты секрета поджелудочной железы и кишечного сока нейтрализуют соляную кислоту:  $\text{HCl} + \text{NaHCO}_3 \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{CO}_3$ . Угольная кислота под влиянием фермента карбоангидразы расщепляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Наличие  $\text{CO}_2$  способствует образованию в химусе стойкой эмульсии, облегчающей процессы пищеварения. Около 30% пептидных связей белков расщепляется трипсином. Он выделяется в виде неактивного трипсиногена и под влиянием фермента слизистой оболочки кишок энтерокиназы превращается в активный трипсин, теряя гексапептид, который закрывал ранее активный центр (рис. 23). Трипсин расщепляет пептидные связи, образованные - COOH-группами аргинина и лизина и - NH<sub>2</sub>-группами других аминокислот. Почти 50% пептидных связей расщепляется химо-трипсином. Он выделяется в виде химо-трипсиногена, который под влиянием трипсина превращается в химо-трипсин. Фермент расщепляет пептидные связи, образованные - COOH-группами фенилаланина, тирозина и триптофана и - NH<sub>2</sub>-группами других аминокислот. Остальные пептидные связи расщепляются пептидазами кишечного сока и сока поджелудочной железы - карбоксипептидазами и аминопептидазами. В составе сока поджелудочной железы есть коллагеназа (расщепляет коллаген) и эластиназа (гидролизует эластин). Деятельность ферментов активируется микроэлементами: Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> и др. Заключительный этап переваривания белков отражает схему: Переваривание белков происходит в полости кишок и на поверхности слизистой оболочки (пристеночное пищеварение). В полости кишок расщепляются белковые молекулы, а на поверхности слизистой оболочки - их "обломки": альбумозы, пептоны, полипептиды, трипептиды и дипептиды. Белки и их производные, не подвергшиеся расщеплению в тонкой кишке, в дальнейшем в толстой кишке подвергаются гниению. Гниение - многоступенчатый

процесс, на отдельных этапах которого участвуют различные микроорганизмы: анаэробные и аэробные бактерии родов *Bacillus* и *Pseudomonas*, инфузории и др. Под влиянием бактериальных пептид-гидролаз сложные белки расщепляются на протеины и простетические группы. Протеины, в свою очередь, гидролизуются до аминокислот, а они подвергаются дезаминированию, декарбоксилированию, внутримолекулярному расщеплению, окислению, восстановлению, метилированию, деметилированию и т. д. Возникает ряд ядовитых продуктов, которые всасываются через слизистую оболочку кишок в кровеносную и лимфатическую системы и разносятся по всему организму, отравляя его органы, ткани и клетки. Так, при гниении в толстой кишке аминокислоты подвергаются декарбоксилированию, что приводит к образованию ядовитых аминов, например трупных ядов - кадаверина и путресцина. При дезаминировании (восстановительном, внутримолекулярном, гидролитическом, окислительном) образуются аммиак, насыщенные и ненасыщенные карбоновые кислоты, оксикислоты и кетокислоты. Бактериальные декарбоксилазы могут вызывать дальнейшее разложение карбоновых кислот с образованием углеводородов, альдегидов, спиртов и др.:  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{-CH}_3 + \text{CO}_2$ ; Эти процессы обычно протекают сопряженно и поэтапно, что в итоге приводит к возникновению самых различных продуктов гниения. Так, при гнилостном разложении циклических аминокислот образуются следующие фенолы. При гнилостном разложении триптофана образуются скатол и индол. При гнилостном разложении цистина и цистеина образуются меркаптаны, сероводород, метан, углекислый газ. Процессы гниения белков интенсивно развиваются при кормлении животных недоброкачественными кормами, нарушении режима кормления, при заболеваниях пищевого канала (атонии преджелудков, запорах), инфекционных (колибациллезе) и инвазионных (аскаризозе) болезнях. Это отрицательно сказывается на состоянии здоровья и продуктивности животных.

### **1.8. Лекция № 6 (2 часа).**

**Тема: «Обмен липидов»**

#### **1.8.1 Вопросы лекции:**

1. Общая схема обмена липидов
2. Катаболизм липидов.
3. В-окисление ВЖК.
4. Окисление глицерина.
5. Пути синтеза жиров в организме.
6. Кетоновые тела.

#### **1.8.2 Краткое содержание вопроса:**

1. Общая схема обмена липидов.

Обмен липидов состоит из четырех этапов: переваривания, всасывания, промежуточного и конечного обменов.

Переваривание липидов. Большинство липидов корма усваиваются организмом только после предварительного расщепления. Под влиянием пищеварительных соков они гидролизуются до простых соединений (глицерина, высших жирных кислот, стеринов, гликолов,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,

азотистых оснований, высших спиртов и др.), которые и всасываются слизистой оболочкой пищевого канала.

В ротовой полости корма, содержащие липиды, механически измельчаются, перемешиваются, смачиваются слюной и превращаются в пищевой ком. Измельченные кормовые массы по пищеводу поступают в желудок (у жвачных преджелудки и съчуг). Здесь они перемешиваются и пропитываются желудочным соком. В желудке кормовые массы находятся от 4 до 12 ч. Желудочный сок содержит липазу, способную гидролитически расщеплять эмульгированный жир.

Из желудка кормовые массы мелкими порциями поступают в двенадцатиперстную кишку, затем в тонкую и подвздошную. Здесь завершается переваривание липидов и происходит всасывание продуктов их расщепления. В переваривании липидов участвуют желчь, сок поджелудочной железы и кишечный сок.

В тонкой кишке кормовые массы пропитываются соком поджелудочной железы, в котором содержатся гидрокарбонат натрия и липолитические ферменты: липазы, холинэстеразы, фосфолипазы, фосфатазы и др. Ферменты кишечного сока завершают процессы гидролитического расщепления "обломков" липидных молекул.

Всасывание липидов. Большинство липидов всасывается в нижней части двенадцатиперстной и в верхней части тощей кишок, остальные - в других участках тонкой кишки. Продукты расщепления липидов корма всасываются эпителием ворсинок.

В толстой кишке нет ферментов, проявляющих гидролитическое действие на липиды. Липидные вещества, которые не претерпевают изменений в тонкой кишке, подвергаются гнилостному разложению под влиянием ферментов микрофлоры. Слизь толстой кишки содержит некоторое количество фосфатидов. Часть из них резорбируется. Невсосавшийся холестерин восстанавливается до копростерина кала.

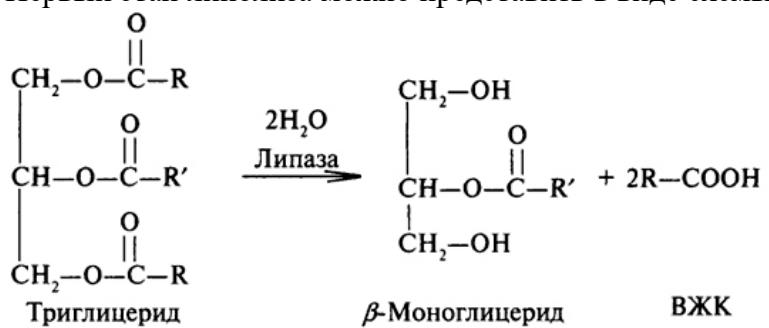
Промежуточный обмен у липидов он имеет особенности, заключающиеся в том, что в тонкой кишке сразу же после всасывания продуктов гидролиза происходит ресинтез липидов, свойственных для данного вида животных.

## 2. Катаболизм липидов.

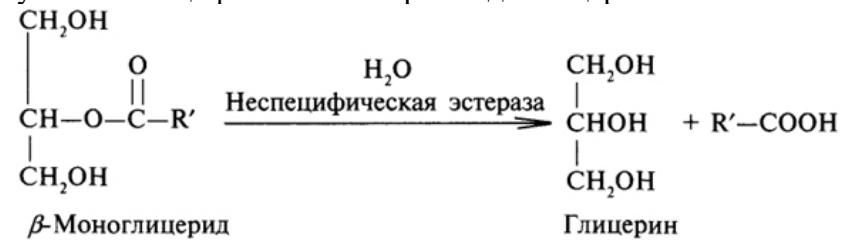
Обновление липидов тканей и органов организма требует предварительного внутристриклеточного ферментативного их гидролиза.

Гидролиз триглицеридов проходит в два этапа. На первом этапе происходит гидролиз внешних сложноэфирных связей, ускоряет этот процесс фермент липаза. В клетках организма человека функционирует несколько видов липаз, имеющих разную локализацию и оптимум pH. В лизосомах локализованы кислые липазы (липазы, проявляющие максимальную активность в кислой среде), в цитоплазме - нейтральные, в микросомах - щелочные. Активация липаз происходит по механизму фосфорилирования - дефосфорилирования, как и у гликогенфосфорилазы. Гидролиз триглицеридов называется **липолизом**.

Первый этап липолиза можно представить в виде схемы реакции:



$\beta$ -Моноглицерид, образовавшийся на первом этапе распада триглицеридов, далее гидролизуется неспецифической эстеразой до глицерина и высшей жирной кислоты:



В результате гидролиза триглицеридов образуется глицерин и три молекулы высших жирных кислот.

*Гидролиз фосфатидов.* Фосфатиды распадаются на соответствующие структурные компоненты: глицерин, ВЖК, фосфорную кислоту и азотистое основание. Процессы гид-

ролиза сложноэфирных связей в молекуле фосфатидов ускоряются различными по специфичности фосфолипазами. В зависимости от того, гидролиз какой сложноэфирной связи катализирует фосфолипаза, ее называют A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, C, D (схема 5).

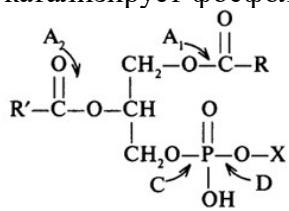
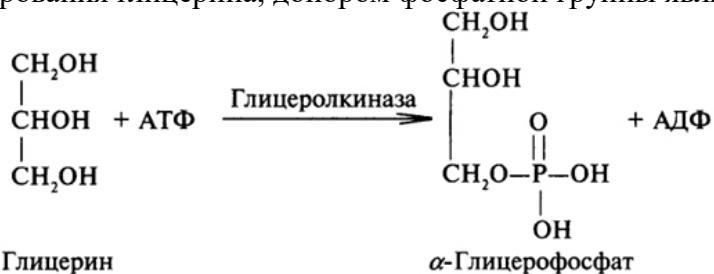


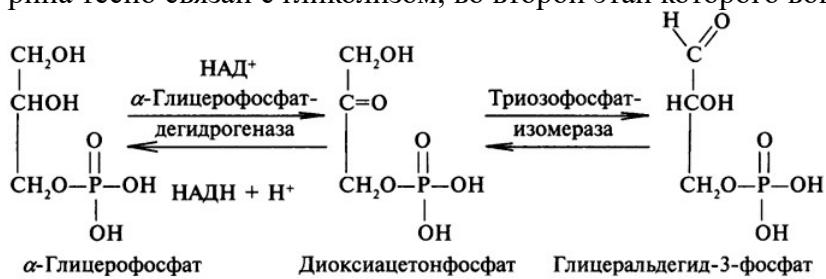
Схема 5. Специфичность действия фосфолипаз: X - азотистое основание; стрелки указывают гидролизуемую соответствующей фосфолипазой связь

Продукты гидролиза триглицеридов и фосфатидов подвергаются дальнейшим метаболическим превращениям.

Обмен глицерина может осуществляться несколькими путями. Значительная часть образовавшегося при гидролизе липидов глицерина используется для ресинтеза триглицеридов. Второй путь обмена глицерина - включение продукта его окисления в гликолиз или в глюконеогенез. Независимо от пути обмена начальным этапом является процесс фосфорилирования глицерина, донором фосфатной группы является молекула АТФ:

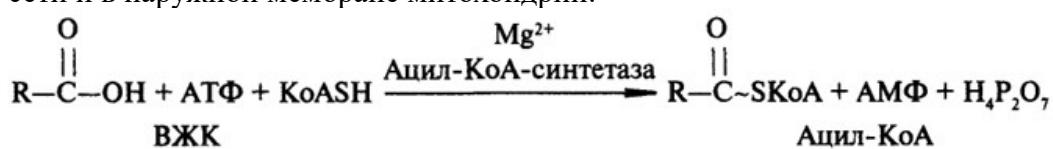


Большая часть  $\alpha$ -глицерофосфата используется для синтеза триглицеридов. Обмен глицерина тесно связан с гликолизом, во второй этап которого вовлекаются его метаболиты:



**Окисление жирных кислот.** В 1904 г. Ф. Кнооп показал, что в митохондрии в ходе окисления происходит постепенное уменьшение на два углеродных атома с карбоксильного конца высшей жирной кислоты. Ф. Кнооп назвал механизм окисления ВЖК  $\beta$ -окислением. Дальнейшие исследования, проведенные А. Ленинджером, Ф. Линеном, Д. Грином, С. Очоа и другими учеными, уточнили и развили представления о  $\beta$ -окислении высших жирных кислот.

Первым этапом распада жирных кислот является их активирование; этот процесс катализируется ацил-КоА-синтетазой, которая локализована в мембранах эндоплазматической сети и в наружной мемbrane митохондрий:



Поскольку процесс активирования ВЖК идет вне митохондрий, то далее необходим транспорт ацила через мембрану внутрь митохондрий. Транспорт происходит с участием находящегося на внешней стороне мембраны карнитина, на который передается ацил с ацил-КоА из цитоплазмы клетки. Затем ацилкарнитин диффундирует через мембрану митохондрии и передает свой ацил коэнзиму-А, находящемуся в матриксе митохондрии. Пе-

перенос ацила между КоA и карнитином является ферментативным процессом, катализируемым ацил-КоА-карнитин-трансферазой (рис. 16).

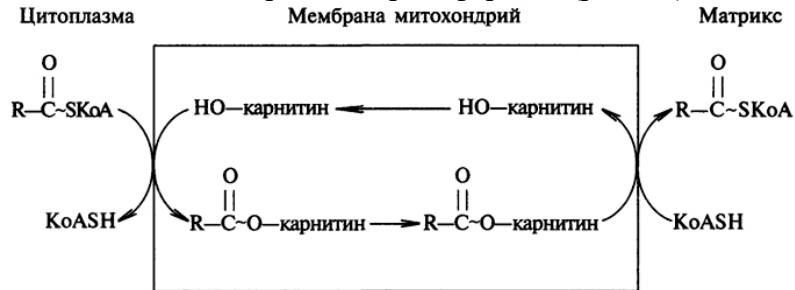
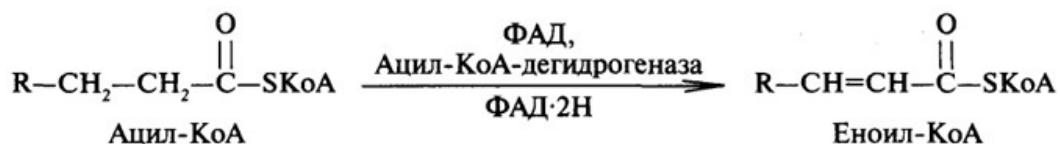
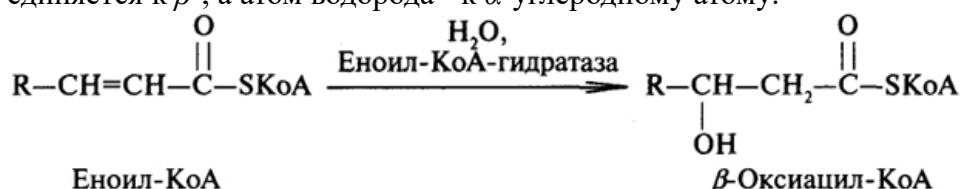


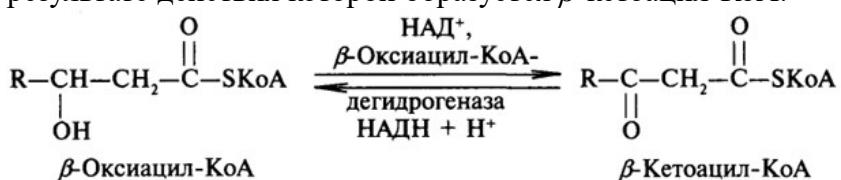
Рис. 16. Схема транспорта жирных кислот через митохондриальную мембрану  
В матриксе митохондрий происходит процесс  $\beta$ -окисления. Первой стадией  $\beta$ -окисления ВЖК является окисление ацил-КоА путем отщепления двух атомов водорода от  $\alpha$ - и  $\beta$ -углеродных атомов ацила коферментом соответствующей дегидрогеназы:



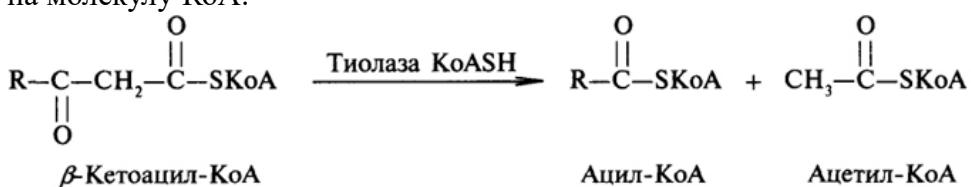
Далее происходит присоединение молекулы воды таким образом, что OH-группа присоединяется к  $\beta$ -, а атом водорода - к  $\alpha$ -углеродному атому:



На следующей стадии идет окисление  $\beta$ -оксиацил-КоА, катализируемое дегидрогеназой, в результате действия которой образуется  $\beta$ -кетоацил-КоА:



На последней стадии  $\beta$ -окисления происходит негидролитический распад  $\beta$ -кетоацил-КоА и перенос ацила, укороченного на два углеродных атома по сравнению с первоначальным, на молекулу КоA:

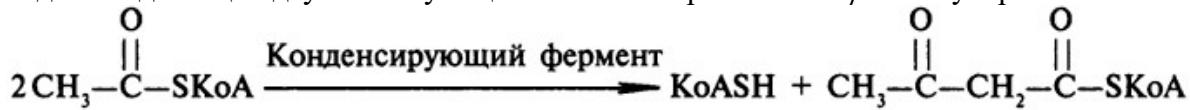


Ацил-КоА, образовавшийся на последнем этапе, вновь подвергается  $\beta$ -окислению, проходя все описанные выше стадии. Следовательно  $\beta$ -окисление - это циклический процесс. Конечным продуктом  $\beta$ -окисления высших жирных кислот является ацетил-КоА, дальнейший обмен которого зависит от состояния организма. Однако в какой бы путь обмена он не вступал, результатом будет освобождение КоA, запасы которого в клетке ограничены.  $\beta$ -Окисление ВЖК является одним из основных источников

получения энергии для синтеза АТФ в животной клетке. В главе "Основы биоэнергетики" будет подробно рассмотрен энергетический эффект этого процесса.

*Образование кетоновых тел.* Одним из процессов, в котором происходит регенерирование свободного КоA из его ацильных производных, является образование ацетоуксусной

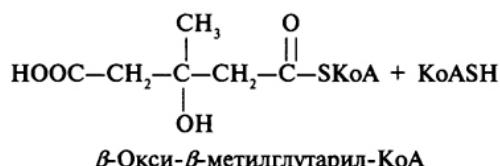
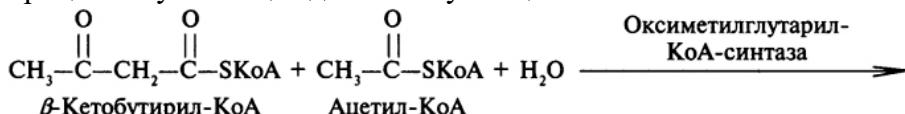
кислоты. В этом процессе принимают участие три молекулы ацетил-КоА. Сначала происходит конденсация двух молекул ацетил-КоА с образованием  $\beta$ -кетобутирил-КоА:



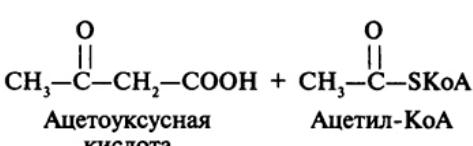
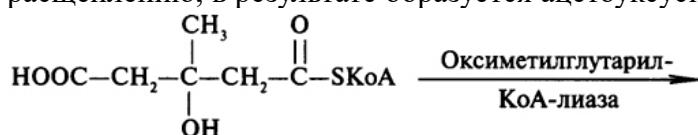
### Ацетил-КоА

### $\beta$ -Кетобутирил-КоА

На второй стадии происходит высвобождение КоА из  $\beta$ -кетобутирил-КоА. Для этого процесса нужна еще одна молекула ацетил-КоА:

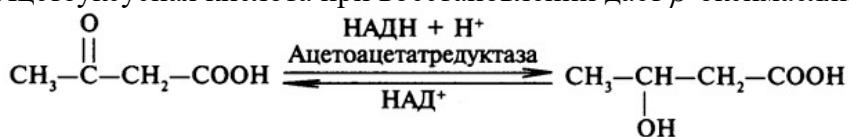


Образовавшийся  $\beta$ -окси- $\beta$ -метилглутарил-КоА далее подвергается негидролитическому расщеплению, в результате образуется ацетоуксусная кислота:

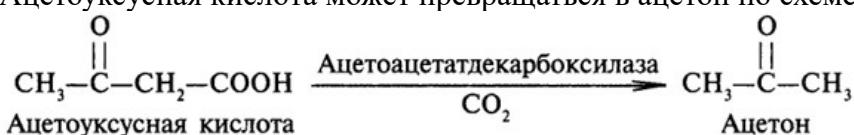


В результате конденсации трех молекул ацетил-КоА образуется молекула ацетоуксусной кислоты и высвобождаются две молекулы КоА.

Ацетоуксусная кислота при восстановлении дает  $\beta$ -оксимасляную кислоту:



Ацетоуксусная и  $\beta$ -оксимасляная кислоты синтезируются в печени и поступают с кровью к мышечной и другим тканям, которые утилизируют их в цикле Кребса. Нарушения в обмене жиров сопровождаются накоплением ацетоуксусной и  $\beta$ -оксимасляной кислот в крови. Ацетоуксусная кислота может превращаться в ацетон по схеме:

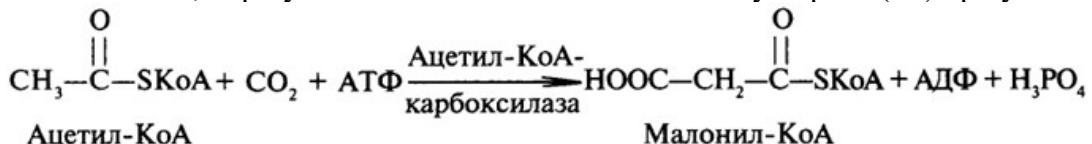


Ацетоуксусная,  $\beta$ -оксимасляная кислоты и ацетон получили название **кетоновых тел**. Усиленное образование их называется **кетозом**. Состояние организма, при котором происходит избыточное накопление кетоновых тел в крови, называют **кетонемией**, а выделение их с мочой - **кетонурией**. Среди многих причин патологического накопления кетоновых тел особенно важными считают дефицит поступающих с пищей углеводов (относительно окисляющихся липидов) и нарушение обмена углеводов и жирных кислот при недостатке инсулина.

Биосинтез липидов

Основными структурными блоками триглицеридов и фосфатидов являются  $\alpha$ -глицеро-фосфат и ацильные производные КоA (ацил-КоА).  $\alpha$ -Глицерофосфат образуется из глицерина, возникающего при распаде глицеринсодержащих липидов, а высшие жирные кислоты синтезируются из малонил-КоА. Рассмотрим подробно процесс биосинтеза ВЖК. Синтез высших жирных кислот локализован в эндоплазматической сети клетки. Непосредственным источником синтеза является

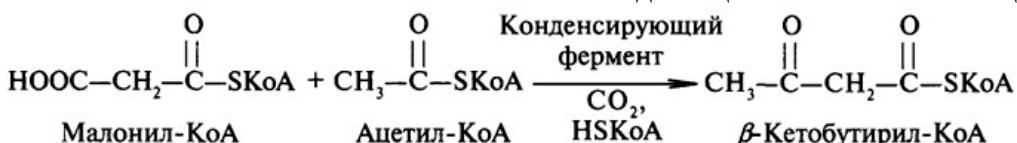
малонил-КоА, образующийся из ацетил-КоА и оксида углерода (IV) при участии АТФ:



Следует подробнее остановиться на характеристике ацетил-КоА-карбоксилазы, поскольку она является полифункциональным ферментом. Ацетил-Ко А-карбоксилаза представляет собой полипептидную цепь, имеющую доменную структуру; каждый домен в полифункциональном ферменте обладает определенной каталитической активностью. Некоторые домены в своем составе могут иметь кофакторы (коферменты). Ацетил-КоА-карбоксилаза содержит домен биотинкарбоксилазы, биотин-карбоксилприводящий домен и домен транскарбоксилазы. Все три домена согласованно ускоряют синтез малонил-КоА, который поступает на второй полифункциональный фермент - синтетазу высших жирных кислот, - при посредстве которого и происходит синтез ВЖК.

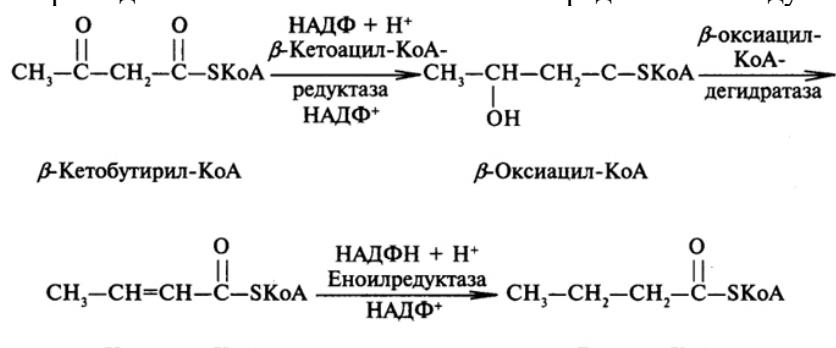
В составе синтетазы ВЖК выделяют три домена, каждый из которых несет определенную функциональную нагрузку. Первый домен отвечает за элонгацию цепи, второй - за восстановление цепи ВЖК, третий - за высвобождение синтезированного ацила ВЖК из комплекса с ферментом в виде ацила-КоА. Рассмотрим процесс синтеза ВЖК, выделяя работу каждого домена.

Начальным этапом синтеза ВЖК является конденсация малонил-КоА с ацетил-КоА:



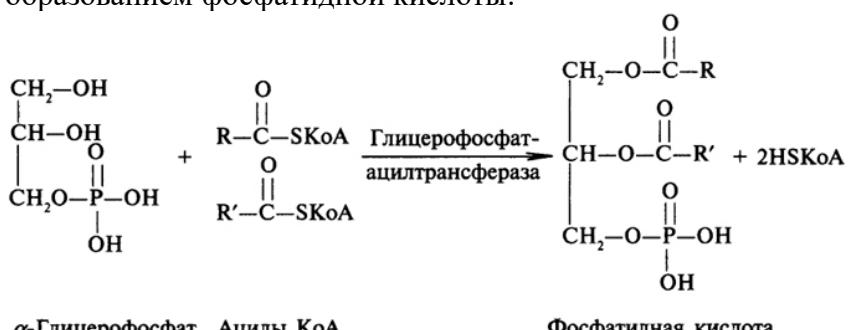
Образовавшийся  $\beta$ -кетобутирил-КоА сначала восстанавливается до  $\beta$ -оксибутирил-КоА, который далее с участием дегидратазы превращается в кротонил-КоА, содержащий двойную связь. Кротонил-КоА восстанавливается до бутирил-КоА.

Следует подчеркнуть, что ферменты редуктазы в своем составе содержат НАДФ. Работу второго домена синтетазы ВЖК можно представить следующей цепью превращений:

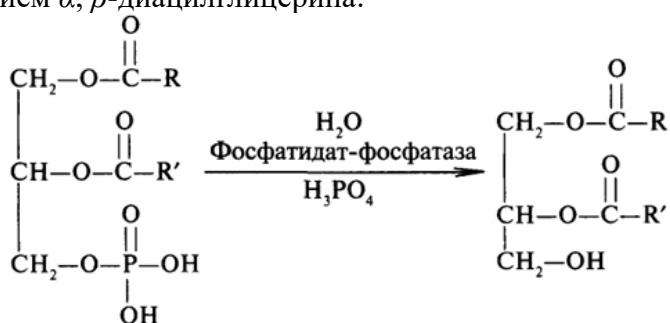


**Биосинтез ВЖК** носит циклический характер. Синтезированный бутирил-КоА вступает в новый цикл превращений, представленных выше. Для синтеза, например, пальмитиновой кислоты нужно семь таких циклов; в каждом цикле происходит удлинение ацила на два углеродных атома. По достижении ацильным радикалом длины в 16 и более атомов углерода происходит его отщепление от фермента третьим доменом, обладающим тиоэстеразной активностью.

*Синтез триглицеридов* происходит при депонировании липидов в жировой или других тканях организма. Локализован этот процесс на мембранах эндоплазматической сети. Первой стадией синтеза триглицеридов является трансацилирование  $\alpha$ -глицерофосфата с образованием фосфатидной кислоты:



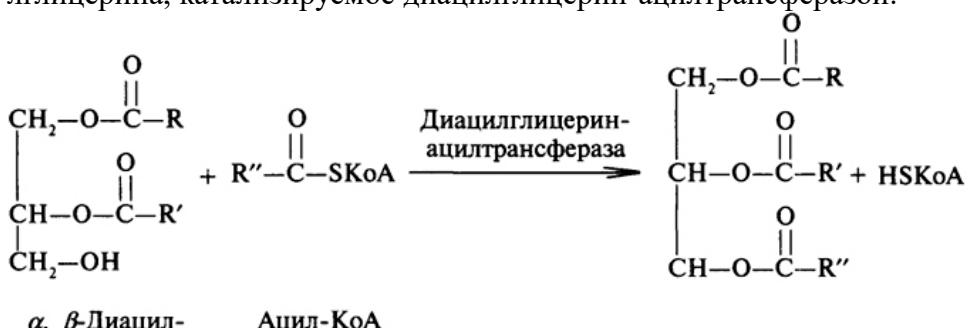
Далее фосфатидная кислота подвергается действию фосфатидат-fosфатазы с образованием  $\alpha, \beta$ -диацилглицерина:



## Фосфатидная кислота

### $\alpha$ , $\beta$ -Диацилглицерин

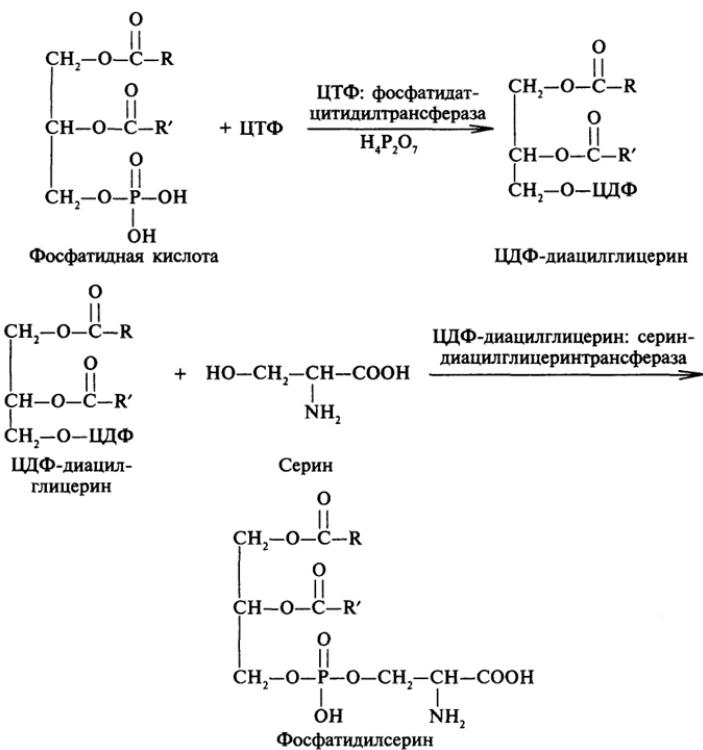
На последней стадии синтеза происходит ацилирование свободной OH-группы  $\alpha$ ;  $\beta$ -диацилглицерина, катализируемое диацилглицерин-ацилтрансферазой:



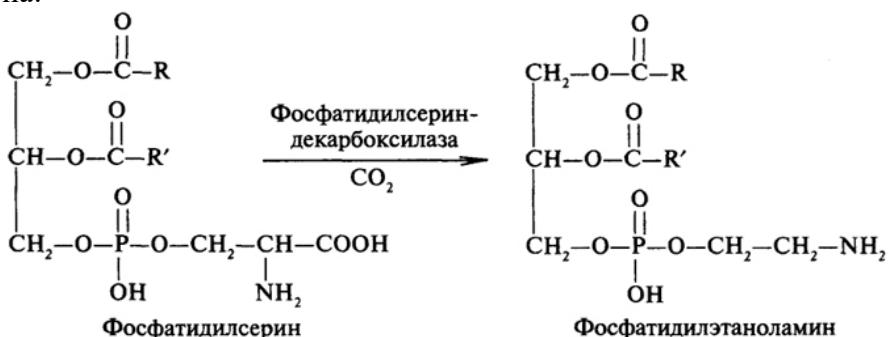
**глицерин**  
Ферменты, ускоряющие синтез триглицеридов, найдены в клетках печени, слизистой оболочки кишечника, жировой ткани и др. Из тканей с интенсивным синтезом триглицеридов, они мигрируют в ткани, где идет активного синтеза.

**Синтез фосфатидов.** Существует два пути синтеза фосфатидов, причем для обоих необходима цитидинтрифосфорная кислота (ЦТФ). Ниже представлен путь синтеза фосфатидов из фосфатидной кислоты, синтез которой был рассмотрен выше.

Взаимодействие фосфатидной кислоты с ЦТФ приводит к образованию ЦДФ-диацилглицерина, который как кофермент способен участвовать в переносе диацилглицерина на азотистое основание, например серии. В результате этого превращения образуется фосфатидсерин, который можно рассматривать в качестве исходного соединения для образования другого фосфатида - фосфатидилэтаноламина:



Декарбоксилирование фосфатидилсерина приводит к образованию фосфатидилэтаноламина:



### 3. В-окисление ВЖК.

Деградация жирных кислот происходит в митохондриальном матриксе путем окислительного цикла реакций, при котором последовательно отщепляются C2-звенья в виде ацетил-КоА (активированной уксусной кислоты). Первая стадия  $\beta$ -окисления — дегидрирование активированной жирной кислоты (ацил-КоА) с образованием  $\beta$ -ненасыщенной жирной кислоты с двойной связью в транс-конфигурации (реакция дегидрирование). При этом оба атома водорода с электронами переносятся от фермента на электронпереносящий флавопротеин. Вторая стадия деградации жирной кислоты состоит в присоединении молекулы воды к двойной связи ненасыщенной жирной кислоты (реакция гидратирование). На третьей стадии происходит окисление гидроксильной группы в карбонильную группу (реакция дегидрирование). Акцептором для восстановительных эквивалентов является НАД<sup>+</sup> который передает их в дыхательную цепь. На четвертой стадии активированная  $\beta$ -кетокислота расщепляется ацилтрансферазой ( $\beta$ -кетотиолазой) в присутствии кофермента А (реакция тиолитическое расщепление). Продуктами реакции являются ацетил-КоА и активированная жирная кислота, углеродная цепь которой короче на два углеродных атома по сравнению с длиной цепи исходной жирной кислоты. Для полной деградации длинноцепочечной жирной кислоты цикл должен многократно повторяться; например, для стеарил-КоА необходимы восемь циклов.

### 4. Окисление глицерина.

Глицерин в клетке подвергается фосфорилированию с участием фермента глицеролкиназы. Образующийся глицерол-3-фосфат может использоваться на анаболические реакции и окисляться. Окисление начинается с участием НАД по а-углеродному атому. Восстановленные ДГ-азы окисляются в цепи БО, энергия БО используется в ОФ для образования АТФ.

При полном окислении глицерина в чистом виде запасается 20 или 22 АТФ: 1) гликолиз – 2 АТФ; 2) окислительное декарбоксилирование ПВК – 3 АТФ; 3) АУК идет в ЦТК, энергобаланс окисления АУК – 12 АТФ; 4) в цитоплазме образуются 2 молекулы цитозольных НАДН<sub>2</sub>, которые окисляются с использованием челночных механизмов, при использовании глицерофосфатного механизма образуется 4 АТФ, при использовании малатного механизма образуется 6 АТФ. Всего образуется 21 или 23 АТФ, одна АТФ затрачивается на фосфорилирование глицерина, значит в чистом виде запасается 20 или 22 АТФ.

При окислении глицерина из ФГА может образовываться ДОАФ, который кроме гликолиза используется для образования плазмологенов и тромбоцитарного активирующего фактора.

### 5. Пути синтеза жиров в организме.

Синтез жиров происходит в абсорбтивный период в печени и жировой ткани. Непосредственными субстратами в синтезе жиров являются ацил-КоА и глицерол-3-фосфат. Метаболический путь синтеза жиров в печени и жировой ткани одинаков, за исключением разных путей образования глицерол-3-фосфата.

#### Образование глицерол-3-фосфата

Синтез жиров в печени и жировой ткани идёт через образование промежуточного продукта - фосфатидной кислоты (рис. 8-21).

Предшественник фосфатидной кислоты - глицерол-3-фосфат, образующийся в печени двумя путями:

восстановлением дигидроксиацитонфосфата - промежуточного метаболита гликолиза; фосфорилированием глицеролкиназой свободного глицерола, поступающего в печень из крови (продукт действия ЛП-липазы на жиры ХМ и ЛПОНП).

В жировой ткани глицеролкиназа отсутствует, и восстановление дигидроксиацитонфосфата - единственный путь образования глицерол-3-фосфата. Следовательно, синтез жиров в жировой ткани может происходить только в абсорбтивный период, когда глюкоза поступает в адипоциты с помощью белка-переносчика глюкозы ГЛЮТ-4, активного только в присутствии инсулина, и распадается по пути гликолиза.

#### Синтез жиров в жировой ткани.

В жировой ткани для синтеза жиров используются в основном жирные кислоты, освободившиеся при гидролизе жиров ХМ и ЛПОНП (рис. 8-22). Жирные кислоты поступают в адипоциты, превращаются в производные КоА и взаимодействуют с глицерол-3-фосфатом, образуя сначала лизофосфатидную кислоту, а затем фосфатидную. Фосфатидная кислота после дефосфорилирования превращается в диацилглицерол, который ацилируется с образованием триацилглицерола.

Кроме жирных кислот, поступающих в адипоциты из крови, в этих клетках идёт и синтез жирных кислот из продуктов распада глюкозы. В адипоцитах для обеспечения реакций синтеза жира распад глюкозы идёт по двум путям: гликолиз, обеспечивающий образование глицерол-3-фосфата и ацетил-КоА, и пентозофосфатный путь, окислительные реакции которого обеспечивают образование NADPH, служащего донором водорода в реакциях синтеза жирных кислот.

Молекулы жиров в адипоцитах объединяются в крупные жировые капли, не содержащие воды, и поэтому являются наиболее компактной формой хранения топливных молекул. Подсчитано, что, если бы энергия, запасаемая в жирах, хранилась в форме сильно гидратированных молекул гликогена, то масса тела человека увеличилась бы на 14-15 кг.

Синтез ТАГ в печени. Образование ЛПОНП в печени и транспорт жиров в другие ткани. Печень - основной орган, где идёт синтез жирных кислот из продуктов гликолиза. В гладком ЭР гепатоцитов жирные кислоты активируются и сразу же используются для синтеза

жиров, взаимодействуя с глицерол-3-фосфатом. Как и в жировой ткани, синтез жиров идёт через образование фосфатидной кислоты. Синтезированные в печени жиры упаковываются в ЛПОНП и секретируются в кровь.

В состав ЛПОНП, кроме жиров, входят холестерол, фосфолипиды и белок - апоВ-100. Это очень "длинный" белок, содержащий 11 536 аминокислот. Одна молекула апоВ-100 покрывает поверхность всего липопротеина.

ЛПОНП из печени секретируются в кровь (рис. 8-23), где на них, как и на ХМ, действует ЛП-липаза. Жирные кислоты поступают в ткани, в частности в адипоциты, и используются для синтеза жиров. В процессе удаления жиров из ЛПОНП под действием ЛП-липазы ЛПОНП сначала превращаются в ЛГШП, а затем в ЛПНП. В ЛПНП основными липидными компонентами служат холестерол и его эфиры, поэтому ЛПНП являются липопротеинами, доставляющими холестерол в периферические ткани. Глицерол, освободившийся из липопротеинов, кровью транспортируется в печень, где опять может использоваться для синтеза жиров.

Скорость синтеза жирных кислот и жиров в печени существенно зависит от состава пищи. Если в пище содержится более 10% жиров, то скорость синтеза жиров в печени резко снижается.

#### 6. Кетоновые тела.

*Кетоновые тела* (сионим ацетоновые тела) — группа органических соединений, являющихся промежуточными продуктами жирового, углеводного и белкового обменов. К кетоновым телам относят  $\beta$ -оксимасляную и ацетоуксусную кислоты и ацетон, имеющие сходное строение и способные к взаимопревращениям. Появление повышенных количеств К. т. в крови и моче является важным диагностическим признаком, свидетельствующим о нарушении углеводного и жирового обменов.

Главным путем синтеза К. т., происходящего в основном в печени, считается реакция конденсации между двумя молекулами ацетил-КоА, образовавшегося при  $\beta$ -окислении жирных кислот (см. Жировой обмен) или при окислительном декарбоксилировании пирувата (пировиноградной кислоты) в процессе обмена глюкозы и ряда аминокислот. Этот путь синтеза К. т. более других зависит от характера питания и в большей степени страдает при патологических нарушениях обмена веществ.

Из печени К. т. поступают в кровь и с нею во все остальные органы и ткани, где они включаются в универсальный энергообразующий цикл — цикл трикарбоновых кислот, в котором окисляются до углекислоты и воды. К. т. используются также для синтеза холестерина, высших жирных кислот, фосфолипидов и заменимых аминокислот.

При голодаании, однообразном безуглеводистом питании и при недостаточной секреции инсулина использование ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот подавляется, т.к. все метаболически доступные ресурсы организма превращаются в глюкозу крови. В этих условиях увеличивается синтез К. т.

При повышении содержания К. т. в крови они начинают выводиться с мочой, а также с выдыхаемым воздухом в виде ацетона. Наиболее значительное повышение концентрации К. т. в крови (гиперкетонемия) наблюдается при диабетической (кетоацидотической) коме (см. Диабет сахарный). Интенсивное образование К. т. происходит при приеме с пищей так называемых кетогенных аминокислот (лейцина, тирозина, фенилаланина, изолейцина), некоторых белков и большого количества жиров (при усиленной мобилизации жира из жировых депо). Щелочные соли также проявляют кетогенный эффект, который обусловлен вызываемым ими нарушением функционирования цикла трикарбоновых кислот. Введение с пищей углеводов тормозит образование К. т. Инсулин стимулирует синтез жирных кислот из ацетил-КоА и активирует использование последнего в цикле трикарбоновых кислот, в результате чего снижается интенсивность синтеза К. т.

У здорового взрослого человека в сыворотке крови содержится 34,4—430,5 мкмоль/л (0,2—2,5 мг/100 мл) кетоновых тел (в пересчете на ацетон), в эритроцитах концентрация К. т. меньше; с мочой за сутки выделяется 20—54 мг кетоновых тел. Такие концентрации К. т.

не могут быть определены обычными методами, используемыми в клинике, поэтому принято считать, что в норме в крови К. т. нет.

Кетонемию и кетонурию наблюдают при сахарном диабете, углеводном голодании, лихорадочных состояниях, общем голодании и истощении (повышен кетогенез), приеме богатой кетогенными веществами пищи (усилен кетогенез), при приеме значительных количеств щелочных веществ, при состояниях после операций, гликогенозах I, II и VI типа (нарушен кетолиз), гиперинсулинизме, тиреотоксикозе, выраженной глюкозурии, акромегалии, гиперпродукции глюкокортикоидов, инфекционных болезнях (скарлатине, гриппе, туберкулезном менингите и др.) и тяжелых интоксикациях (например, при отравлении свинцом) и др. Следствием кетонемии являются метаболический ацидоз, или кетоацидоз, и ацетоновое отравление (ацетон растворяет структурные липиды клеток), при которых нарушается транспорт глюкозы через биологические мембранны и резко угнетается деятельность ц.н.с.

Для определения К. т. используют методы и пробы, основанные на реакциях, специфичных либо для ацетона, либо для ацетоуксусной кислоты. Большое число методов количественного определения К. т. в крови и в моче основано на реакции с салициловым альдегидом (метод Нательсона).

В обычной практике, главным образом при исследовании мочи, для обнаружения К. т. применяют качественные пробы. Преимущество этих проб заключается в том, что они позволяют быстро, хотя и ориентировочно, выявить патологическое увеличение концентрации К. т.; при нормальном содержании К. т. эти пробы отрицательны. Наибольшее применение нашли нитропруссидные пробы (пробы Легаля, Ротеры, Ланге), которые специфичны главным образом для ацетоуксусной кислоты и основаны на реакции К. т. с нитропруссидом натрия, в результате чего в щелочной среде развивается красное окрашивание. На реакции ацетоуксусной кислоты с хлорным железом основана пробы Герхардта (развитие фиолетово-красного окрашивания после добавления хлорного железа к фильтрату мочи, свободному от осадка фосфата железа; появившееся окрашивание свидетельствует о наличии К. т.). Реакций, специфичных для  $\beta$ -оксимасляной кислоты, не описано. Применяемая для определения  $\beta$ -оксимасляной кислоты пробы Гардта предполагает предварительное окисление  $\beta$ -оксимасляной кислоты при помощи перекиси водорода в ацетоуксусную и дальнейшее определение с нитропруссидом натрия.

Для экспресс-определения К. т. выпускаются специальные таблетки, состоящие из смеси сухих реагентов, и бумажные полоски, импрегнированные реагентами, в состав которых входят нитропруссид натрия. После погружения такой полоски (или таблетки) в исследуемую жидкость (мочу или плазму крови) в случае положительной реакции образуется фиолетовое окрашивание, интенсивность которого сравнивают со стандартной цветной шкалой.

## 1.9. Лекция № 8 (2 часа).

Тема: «Обмен нуклеиновых кислот»

### 1.9.1 Вопросы лекции:

1. Общая схема обмена нуклеиновых кислот.
2. Ферменты обмена нуклеиновых кислот.
3. Пути распада пуриновых и пиримидиновых оснований.
4. Мочевина и её роль в организме.

### 1.9.2 Краткое содержание вопроса:

#### 1. Общая схема обмена нуклеиновых кислот.

Нуклеиновые кислоты характеризуются высокой степенью метаболизма, с их деятельностью связан биосинтез белковых веществ.

Переваривание нуклеиновых кислот. В ротовой полости корма, содержащие нуклеопротеиды, механически измельчаются, смачиваются слюной и в виде пищевого кома по пищеводу поступают в желудок (у жвачных - в преджелудки и съчуг). Часть нуклеиновых кислот расщепляется РНК-азой слюны до олиго- и мононуклеотидов. В желудке (съчуге) большинство нуклеопротеидов под влиянием пепсина и соляной кислоты расщепляются до нуклеиновых кислот и простых белков.

Процесс переваривания нуклеопротеидов завершается в тонкой кишке, где трипсин расщепляет оставшиеся нуклеопротеиды на нуклеиновые кислоты и простые белки. Простые белки под влиянием ферментов соков поджелудочной железы и кишечного расщепляются до аминокислот. Нуклеиновые кислоты подвергаются действию нуклеаз. Так, под влиянием панкреатической ДНК-азы часть ДНП расщепляется на ДНК и протеины. Это расщепление активируется гистидином, аргинином и лизином. Затем фермент "атакует" двусpirальную молекулу ДНК. Вначале возникают двусpirальные обломки молекулы ДНК, они укорачиваются, образуя односпиральные участки нуклеиновой кислоты. ДНК-аза расщепляет ДНК на олигонуклеотиды, содержащие в среднем по четыре нуклеотидных остатка, со свободной  $-OH$ -группой в 3'- и фосфатной группой в 5'-положениях в остатке дезоксирибозы. Процесс активируется ионами  $Mg^{2+}$ .

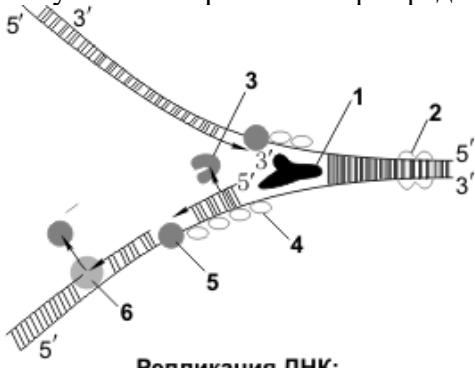
Всасывание нуклеиновых кислот. Продукты расщепления нуклеиновых кислот всасываются в тонкой кишке в виде мононуклеотидов, нуклеозидов, пентоз, пуриновых и пиримидиновых оснований, фосфорной кислоты (ее эфиры и соли). Они поступают в клетки покровного эпителия, затем - в межклеточную жидкость, капилляры, венулы, подэпителиальную и подслизистую венозные сети кишечной ворсинки, вены брыжейки, воротную вену и печень.

Значительная часть продуктов расщепления нуклеиновых кислот из печени поступает в общее кровеносное русло (здесь есть продукты пищеварения, которые всосались и через лимфатическую систему кишок) и разносится по всему организму, где и используется клетками для самых различных пластических (синтез ДНК и РНК) и энергетических потребностей.

Промежуточный обмен нуклеиновых кислот заключает в себе реакции биосинтеза и распада в организме ДНК и РНК.

## 2. Ферменты обмена нуклеиновых кислот.

«Строительным материалом» и источником энергии для репликации являются дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (АТФ, ТТФ, ГТФ, ЦТФ), содержащие три остатка фосфорной кислоты. При включении дезоксирибонуклеозидтрифосфатов в полинуклеотидную цепь два концевых остатка фосфорной кислоты отщепляются, и освободившаяся энергия используется на образование фосфодиэфирной связи между нуклеотидами.



**Репликация ДНК:**

- 1 – ДНК-геликаза; 2 – ДНК-топоизомераза; 3 – РНК-праймаза; 4 – дестабилизирующие белки;
- 5 – ДНК полимераза образует ДНК, удлиняет фрагменты Окаzаки, удаляет рибонуклеотиды;
- ДНК-лигаза сшивает фрагменты Оказаки.

В репликации участвуют следующие ферменты:

геликазы («расплетают» ДНК);  
дестабилизирующие белки;  
ДНК-токоизомеразы (разрезают ДНК);  
ДНК-полимеразы (подбирают дезоксирибонуклеозидтрифосфаты и комплементарно присоединяют их к матричной цепи ДНК);  
РНК-праймазы (образуют РНК-затравки, праймеры);  
ДНК-лигазы (сшивают фрагменты ДНК).

С помощью геликаз в определенных участках ДНК расплетается, одноцепочечные участки ДНК связываются дестабилизирующими белками, образуется репликационная вилка. При расхождении 10 пар нуклеотидов (один виток спирали) молекула ДНК должна совершить полный оборот вокруг своей оси. Чтобы предотвратить это вращение ДНК-токоизомераза разрезает одну цепь ДНК, что дает ей возможность вращаться вокруг второй цепи. ДНК-полимераза может присоединять нуклеотид только к 3'-углероду дезоксирибозы предыдущего нуклеотида, поэтому данный фермент способен передвигаться по матричной ДНК только в одном направлении: от 3'-конца к 5'-концу этой матричной ДНК. Так как в материнской ДНК цепи антипараллельны, то на ее разных цепях сборка дочерних полинуклеотидных цепей происходит по-разному и в противоположных направлениях. На цепи 3'-5' синтез дочерней полинуклеотидной цепи идет без перерывов; эта дочерняя цепь будет называться лидирующей. На цепи 5'-3' — прерывисто, фрагментами (фрагменты Оказаки), которые после завершения репликации ДНК-лигазами сшиваются в одну цепь; эта дочерняя цепь будет называться запаздывающей (отстающей).

Особенностью ДНК-полимеразы является то, что она может начинать свою работу только с «затравки (праймера). Роль «затравок» выполняют короткие последовательности РНК, образуемые при участии фермента РНК-праймазы и спаренные с матричной ДНК. РНК-затравки после окончания сборки полинуклеотидных цепочек удаляются.

Репликация протекает сходно у прокариот и эукариот. Скорость синтеза ДНК у прокариот на порядок выше (1000 нуклеотидов в секунду), чем у эукариот (100 нуклеотидов в секунду). Репликация начинается одновременно в нескольких участках молекулы ДНК. Фрагмент ДНК от одной точки начала репликации до другой образует единицу репликации — репликон.

Репликация происходит перед делением клетки. Благодаря этой способности ДНК осуществляется передача наследственной информации от материнской клетки дочерним.

#### Репарация («ремонт»)

Репарацией называется процесс устранения повреждений нуклеотидной последовательности ДНК. Осуществляется особыми ферментными системами клетки (ферменты репарации). В процессе восстановления структуры ДНК можно выделить следующие этапы: 1) ДНК-репарирующие нуклеазы распознают и удаляют поврежденный участок, в результате чего в цепи ДНК образуется брешь; 2) ДНК-полимераза заполняет эту брешь, копируя информацию со второй («хорошей») цепи; 3) ДНК-лигаза «сшивает» нуклеотиды, завершая репарацию. Наиболее изучены три механизма репарации: 1) фоторепарация, 2) эксцизионная, или дорепликативная, репарация, 3) пострепликативная репарация.

Изменения структуры ДНК происходят в клетке постоянно под действием реакционно-способных метаболитов, ультрафиолетового излучения, тяжелых металлов и их солей и др. Поэтому дефекты систем репарации повышают скорость мутационных процессов, являются причиной наследственных заболеваний (пигментная ксеродерма, прогерия и др.).

*Аденозинтрифосфорная кислота (АТФ)* — универсальный источник и основной аккумулятор энергии в живых клетках. АТФ содержится во всех клетках растений и животных. Количество АТФ в среднем составляет 0,04% (от сырой массы клетки), наибольшее количество АТФ (0,2–0,5%) содержится в скелетных мышцах. АТФ состоит из остатков: 1) азотистого основания (аденина), 2) моносахарида (рибозы), 3) трех фосфорных кислот. Поскольку АТФ содержит не один, а три остатка фосфорной кислоты, она относится к ри-

бонуклеозидтрифосфатам. Для большинства видов работ, происходящих в клетках, используется энергия гидролиза АТФ. При этом при отщеплении концевого остатка фосфорной кислоты АТФ переходит в АДФ (аденозиндифосфорную кислоту), при отщеплении второго остатка фосфорной кислоты — в АМФ (аденозинмонофосфорную кислоту). Выход свободной энергии при отщеплении как концевого, так и второго остатков фосфорной кислоты составляет по 30,6 кДж. Отщепление третьей фосфатной группы сопровождается выделением только 13,8 кДж. Связи между концевым и вторым, вторым и первым остатками фосфорной кислоты называются макроэргическими (высокоэнергетическими).

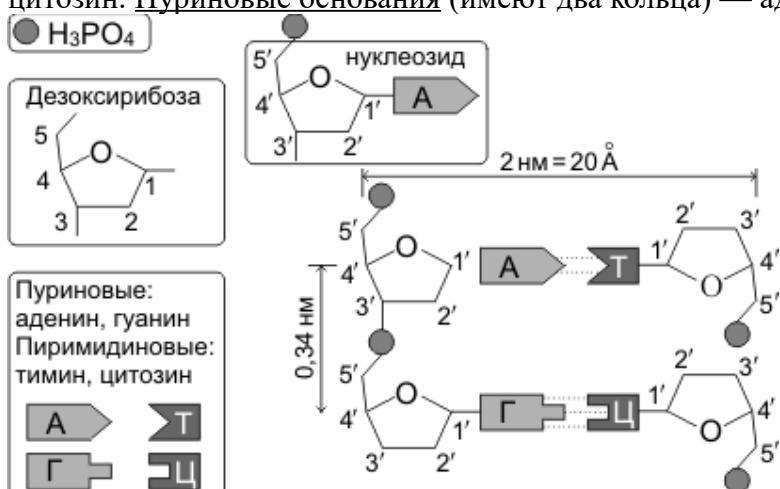
Запасы АТФ постоянно пополняются. В клетках всех организмов синтез АТФ происходит в процессе фосфорилирования, т.е. присоединения фосфорной кислоты к АДФ. Фосфорилирование происходит с разной интенсивностью при дыхании (митохондрии), гликолизе (цитоплазма), фотосинтезе (хлоропласти). АТФ является основным связующим звеном между процессами, сопровождающимися выделением и накоплением энергии, и процессами, протекающими с затратами энергии. Кроме этого, АТФ наряду с другими рибонуклеозидтрифосфатами (ГТФ, ЦТФ, УТФ) является субстратом для синтеза РНК.

**ДНК** — полимер, мономерами которой являются дезоксирибонуклеотиды. Модель пространственного строения молекулы ДНК в виде двойной спирали была предложена в 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком (для построения этой модели они использовали работы М. Уилкинса, Р. Франклина, Э. Чаргаффа). Молекула ДНК образована двумя полинуклеотидными цепями, спирально закрученными друг около друга и вместе вокруг воображаемой оси, т.е. представляет собой двойную спираль (исключение — некоторые ДНК-содержащие вирусы имеют одноцепочечную ДНК). Диаметр двойной спирали ДНК — 2 нм, расстояние между соседними нуклеотидами — 0,34 нм, на один оборот спирали приходится 10 пар нуклеотидов. Длина молекулы может достигать нескольких сантиметров. Молекулярный вес — десятки и сотни миллионов. Суммарная длина ДНК ядра клетки человека — около 2 м. В эукариотических клетках ДНК образует комплексы с белками и имеет специфическую пространственную конформацию.

**Мономер ДНК — нуклеотид (дезоксирибонуклеотид)** — состоит из остатков трех веществ: 1) азотистого основания, 2) пятиуглеродного моносахарида (пентозы) и 3) фосфорной кислоты.

#### 4. Пути распада пуриновых и пиримидиновых оснований.

Азотистые основания нукleinовых кислот относятся к классам пиримидинов и пуринов. **Пиримидиновые основания ДНК** (имеют в составе своей молекулы одно кольцо) — тимин, цитозин. **Пуриновые основания** (имеют два кольца) — аденин и гуанин.



Моносахарид нуклеотида ДНК представлен дезоксирибозой.

Название нуклеотида является производным от названия соответствующего основания. Нуклеотиды и азотистые основания обозначаются заглавными буквами.

Азотистое основание Название нуклеотида Обозначение

Аденин	Адениловый	А (A)
Гуанин	Гуаниловый	Г (G)
Тимин	Тимилиловый	Т (T)
Цитозин	Цитидиловый	Ц (C)

Полинуклеотидная цепь образуется в результате реакций конденсации нуклеотидов. При этом между 3'-углеродом остатка дезоксирибозы одного нуклеотида и остатком фосфорной кислоты другого возникает фосфоэфирная связь (относится к категории прочных ковалентных связей). Один конец полинуклеотидной цепи заканчивается 5'-углеродом (его называют 5'-концом), другой — 3'-углеродом (3'-концом). Против одной цепи нуклеотидов располагается вторая цепь. Расположение нуклеотидов в этих двух цепях не случайное, а строго определенное: против аденина одной цепи в другой цепи всегда располагается тимин, а против гуанина — всегда цитозин, между аденином и тимином возникают две водородные связи, между гуанином и цитозином — три водородные связи. Закономерность, согласно которой нуклеотиды разных цепей ДНК строго упорядоченно располагаются (аденин — тимин, гуанин — цитозин) и избирательно соединяются друг с другом, называется принципом комплементарности. Следует отметить, что Дж. Уотсон и Ф. Крик пришли к пониманию принципа комплементарности после ознакомления с работами Э. Чаргаффа. Э. Чаргафф, изучив огромное количество образцов тканей и органов различных организмов, установил, что в любом фрагменте ДНК содержание остатков гуанина всегда точно соответствует содержанию цитозина, а аденина — тимину («правило Чаргаффа»), но объяснить этот факт он не смог. Из принципа комплементарности следует, что последовательность нуклеотидов одной цепи определяет последовательность нуклеотидов другой. Цепи ДНК антипараллельны (разнонаправлены), т.е. нуклеотиды разных цепей располагаются в противоположных направлениях, и, следовательно, напротив 3'-конца одной цепи находится 5'-конец другой. Молекулу ДНК иногда сравнивают с винтовой лестницей. «Перила» этой лестницы — сахарофосфатный остов (чередующиеся остатки дезоксирибозы и фосфорной кислоты); «ступени» — комплементарные азотистые основания.

Функция ДНК — хранение и передача наследственной информации.

#### Репликация (редупликация) ДНК

Репликация ДНК — процесс самоудвоения, главное свойство молекулы ДНК. Репликация относится к категории реакций матричного синтеза, идет с участием ферментов. Под действием ферментов молекула ДНК раскручивается, и около каждой цепи, выступающей в роли матрицы, по принципам комплементарности и антипараллельности достраивается новая цепь. Таким образом, в каждой дочерней ДНК одна цепь является материнской, а вторая — вновь синтезированной. Такой способ синтеза называется полуконсервативным.

В то же время нукleinовые кислоты не являются незаменимыми пищевыми факторами и не играют существенной роли в качестве энергетического материала. Далее детально рассматриваются (помимо краткого изложения вопросов переваривания) проблемы метаболизма нукleinовых кислот и их производных, в частности пути биосинтеза и распада пуриновых и пиридиновых нуклеотидов, современные представления о биогенезе ДНК и РНК и их роли в синтезе белка. Переваривание нуклеопротеинов и всасывание продуктов их распада осуществляются в пищеварительном тракте. Под влиянием ферментов желудка, частично соляной кислоты, нуклеопротеины пищи распадаются на полипептиды и нукleinовые кислоты; первые в кишечнике подвергаются гидролитическому расщеплению до свободных аминокислот. Распад нукleinовых кислот происходит в тонкой кишке в основном гидролитическим путем под действием ДНК- и РНКазы панкреатического сока. Продуктами реакции при действии РНКазы являются пуриновые и пи-ридиновые мононуклеотиды, смесь ди- и тринуклеотидов и резистентные к действию РНКазы олигонуклеотиды. В результате действия ДНКазы образуются в основном динуклеотиды, олигонуклеотиды и небольшое количество мононуклеотидов. Полный гидролиз нукleinовых кислот до стадии мононуклеотидов осуществляется, очевидно, другими, менее изучен-

ными ферментами (фосфодиэстеразами) слизистой оболочки кишечника. В отношении дальнейшей судьбы мононуклеотидов существует два предположения. Считают, что мононуклеотиды в кишечнике под действием неспецифических фосфатаз (кислой и щелочной), которые гидролизируют фосфоэфирную связь мононуклеотида («нуклеотидазное» действие), расщепляются с образованием нуклеозидов и фосфорной кислоты и в таком виде всасываются. Согласно второму предположению, мононуклеотиды всасываются, а распад их происходит в клетках слизистой оболочки кишечника. Имеются также доказательства существования в стенке кишечника нуклеотидаз, катализирующих гидролитический распад мононуклеотидов. Дальнейший распад образовавшихся нуклеозидов осуществляется внутри клеток слизистой оболочки преимущественно фосфоролитическим, а не гидролитическим путем. Всасываются преимущественно нуклеозиды, и в таком виде часть азотистых оснований может быть использована для синтеза нукleinовых кислот организма. Если происходит дальнейший распад нуклеозидов до свободных пуриновых и пиримидиновых оснований, то гуанин не используется для синтетических целей. Другие основания, как показывают опыты с меченными по азоту аденином и урацилом, в тканях могут включаться в состав нукleinовых кислот. Таким образом, синтез нукleinовых кислот, мономерными единицами которых являются мононуклеотиды, будет определяться скоростью синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов; синтез последних в свою очередь зависит от наличия всех составляющих из трех компонентов. Источником рибозы и дезоксирибозы служат продукты превращения глюкозы в пентозофосфатном цикле. Пока не получены доказательства существенной роли пищевых пентоз в синтезе нукleinовых кислот. Фосфорная кислота также не является лимитирующим фактором, поскольку она поступает в достаточном количестве с пищей. Следовательно, биосинтез нукleinовых кислот начинается с синтеза азотистых оснований (точнее, мономерных молекул – мононуклеотидов).

##### 5. Мочевина и её роль в организме.

Мочевина в организме животного является одним из конечных продуктов белкового обмена и образуется в ходе достаточно сложного орнитинового цикла превращений белка. При распаде белковых молекул в организме животного образуется токсичное вещество – аммиак. С целью детоксикации в печени протекают сложные химические превращения его в мочевину, не обладающую настолько ядовитыми свойствами и выводимую из организма почками с мочой. Так как концентрация мочевины в крови напрямую зависит от выделительной функции почек (способности выводить из организма ненужные вещества с мочой), состояния печени (мочевина синтезируется в печени) и мышечной ткани (так как мышцы – основной источник белка), следовательно, она отражает состояние почек, печени и мышечной ткани.

## 2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

### 2.1. Лабораторная работа № 1 (2 часа)

**Тема: Буферные системы. Виды и механизм действия. Роль буферных систем в живых организмах.**

**2.1.1 Цель работы:** Изучить свойства растворов неэлектролитов и электролитов

#### 2.1.2 Задачи работы:

1. Приготовить буферный раствор с заданным значением pH;
2. экспериментально измерить pH приготовленного и разбавленного раствора;
3. изучить свойства буферного раствора при действии сильных кисот и щелочей;

4. рассчитать теоретические значения pH.

**2.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Периодическая система химических элементов Д.И. Менделеева.
2. Краткий справочник физико-химических величин
3. Таблица растворимости.
4. 0,1 н растворы  $\text{CH}_3\text{COOH}$   $\text{CH}_3\text{COONa}$ ,
5. стандартные растворы  $\text{HCl}$  и  $\text{NaOH}$ ,
6. пробирки,
7. пипетки на 1, 5 и 10 мл

**2.1.4 Описание (ход) работы:**

1. Рассчитайте пользуясь правилом Вант-Гоффа, осмотическое давление раствора при  $20^\circ\text{C}$ , если в литре его находится 18 г глюкозы.
2. Осмотическое давление водного раствора гемоглобина, содержащего 32 г/л при  $17^\circ\text{C}$ , равно 43,84 кПа. Найти относительную молекулярную массу гемоглобина.
3. Раствор, содержащий в 100 мл нитрат бария массой 11,07 г, изотоничен с раствором глюкозы молярной концентрации 0,912 моль/л. Вычислить кажущуюся степень диссоциации  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$  в этом растворе.
4. Определите, при какой температуре замерзнет раствор хлорида цинка моляльностью 0,01 моль/кг. Кажущаяся степень диссоциации соли равна 87%. Криоскопическая постоянная воды равна 1,86 К·кг/моль.
5. Раствор содержащий в воде массой 25 г бензойную кислоту массой 0,608 г, кипит при  $100,104^\circ\text{C}$ . Эбулиоскопическая постоянная воды 0,512 К·кг/моль. К слабым или сильным электролитам относится бензойная кислота?
6. Что такое кажущаяся степень электролитической диссоциации? Какие коэффициенты введены в теории сильных электролитов?

**Буферные растворы**

Готовятся три буферных раствора. Для этого в каждую из трех пробирок приливают определенное количество уксусной кислоты и ацетата натрия исходя из данных таблицы.

№	Объем $\text{CH}_3\text{COOH}$ 0,1 н, мл	Объем $\text{CH}_3\text{COO}-$ $\text{Na}^+$ 0,1 н, мл	Измеренное зна- чение pH	Вычисленное зна- чение pH
1	1	9		
2	5	5		
3	9	1		

Растворы тщательно перемешиваются. В каждую пробирку добавляется 2-3 капли универсального индикатора. Измеряем значение pH по цветной шкале универсального индикатора. Полученные данные заносятся в таблицу.

**1**

Универсальный индикатор



**2**

Измерить pH

Раствор №2 делится на две равные части по 5 мл. В одну из пробирок добавляем 5 мл дистилированной воды

**3**

Разделить раствор в пробирке № 2 на две равные части



**4**

Добавить 5 мл дистилированной воды

**5**

Измерить pH

Раствор сравнения

Анализируемый раствор

Наблюдения:

---

---

Раствор №1 делится на 2 равные части по 5 мл. В одну из пробирок добавляем несколько капель раствора HCl:

**6**

Разделить раствор в пробирке № 1 на две равные части



**7**

Добавить несколько капель HCl

**8**

Измерить pH

Раствор сравнения

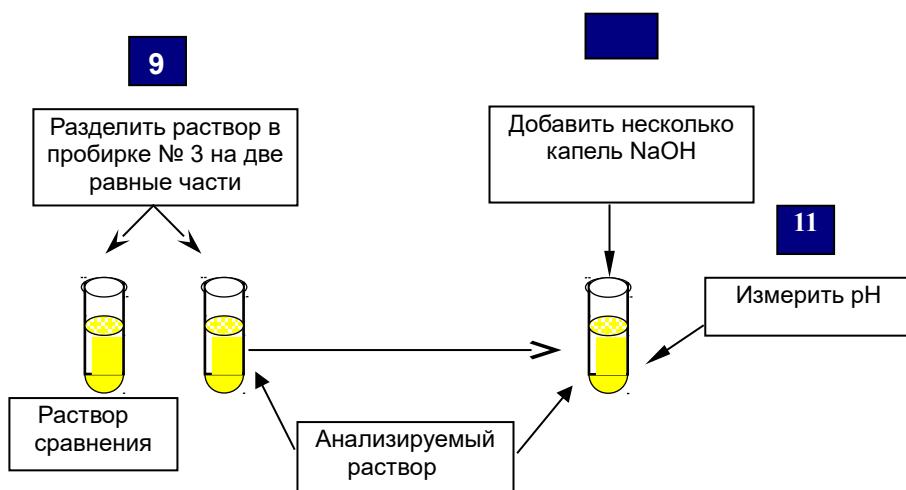
Анализируемый раствор

Наблюдения:

---

---

Раствор №3 делится на 2 равные части по 5 мл. В одну из пробирок добавляем несколько капель раствора NaOH:



Наблюдения \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Рассчитайте теоретические значения pH по формуле для кислотного буферного раствора. При одинаковых концентрациях кислот и их солей в формулу подставляются их объемы.  $K_{\text{CH}_3\text{COOH}}=1,8 \times 10^{-5}$ . Полученные данные занесите в таблицу.

Сделайте вывод о свойствах буферных систем

## 2.2. Лабораторная работа № 2 (2 часа)

**Тема: Получение и свойства коллоидных растворов (белков и полисахаридов)**

**2.2.1 Цель работы: Изучить свойства способы получения золей.**

**2.2.2 Задачи работы:**

1. Приготовить 4-5 золей разными методами;
2. определить знак заряда коллоидных частиц;
3. подтвердить коллоидную природу полученных растворов;
4. написать формулы мицелл

### 2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. колбы вместимостью 100 мл;
2. стаканы химические вместимостью 100 мл;
3. бюретки; набор пипеток; воронки пробирочные;
4. стеклянные палочки;
5. штатив с пробирками;
6. фильтровальная бумага;
7. растворы реагентов:  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$

### 2.2.4 Описание (ход) работы:

*Получение и свойства золей*

1. Золь гексацианоферрата(II) –железа (III) калия (берлинская лазурь):

К 20 мл воды добавляют 2-3 капли насыщенного на холodu раствора  $\text{FeCl}_3$ , а затем при взбалтывании – 1 каплю раствора гексацианоферрата(II) калия. Образуется золь сине-зеленого цвета.

уравнение реакции:

---

Строение мицеллы:

---

2.Золь иодида серебра

К 50 мл воды добавляют 5 мл раствора  $\text{AgNO}_3$  а затем по каплям, при взбалтывании 0,5 мл раствора KI. Образуется золь голубоватого цвета

уравнение реакции:

---

Строение мицеллы:

---

3.Золь гидроксида железа(III)

К 20 мл кипящей воды добавляют 1-2 капли насыщенного раствора  $\text{FeCl}_3$ . Образуется золь вишнево-красного цвета.

уравнение реакции:

---

### **2.3.Лабораторная работа № 3 (2 часа)**

**Тема: Растворы высокомолекулярных соединений**

**2.3.1 Цель работы: Изучить свойства растворов высокомолекулярных соединений.**

**2.3.2 Задачи работы:**

1. Определить значение изоэлектрической точки желатина по данным набухания;

#### **2.3.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. сухая желатина;
2. проволока;
3. пять коротких пробирок;
4. буферные растворы с различным значениями pH;
5. торзионные весы;
6. pH-метр;
7. фильтровальная бумага;
8. стакан для определения pH растворов

#### **2.3.4 Описание (ход) работы:**

*Определение изоэлектрической точки ВМВ по данным набухания*

Определяют изоэлектрическую точку желатина по набуханию. Взвешивают на торзионных весах 5 отрезков проволоки длиной 7-8 см. Затем прикрепляют к ним кусочки сухой желатины и снова взвешивают. По разности масс определяют массу сухой желатины. Помещают в пять коротких пробирок по одному кусочку желатины, подвешивая его на проволочке и закрепляя за края пробирки; заполняют пробирки буферными растворами с различными значениями pH (кусочки желатины должны быть полностью погружены в раствор). Измеряют pH буферных растворов на pH-метре. Через определенное время (1 час) вынимают проволочки с набухшей желатиной и помещают на фильтровальную бумагу, которая впитывает излишек раствора. Через 2-3 минуты взвешивают набухшую желатину. Результаты измерений заносят в таблицу.

Расчитывают степень набухания

Строят график зависимости степени набухания желатины от pH среды. По графику определяют изоэлектрическую точку.

#### **2.4 Лабораторная работа № 4( 2 часа).**

**Тема:** «Витамины: классификация и биологическая роль. Гиповитаминозы, гипервитаминозы»

**2.4.1. Цель работы:** познакомиться с витаминами, изучить классификацию витаминов.

##### **2.4.2 Задачи работы:**

1. Осуществить качественные реакции на группу жирорастворимых витаминов

##### **2.4.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Концентрированная серная кислота, хлороформ, анилин, соляная кислота, раствор брома в хлороформе, азотная кислота

##### **2.4.4 Описание (ход) работы:**

1 каплю рыбьего жира растворяют в 20 – 25 каплях хлороформа, к раствору добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты и встряхивают. Появляется сине-фиолетовое окрашивание, которое вскоре переходит в красновато-буровое и бурое. К 1мл витаминизированного рыбьего жира прибавляют 4—5 мл анилина и 0,5 мл концентрированной соляной кислоты. Содержимое пробирки нагревают до кипения и кипятят 20—30 с. Жидкость принимает красную окраску. На часовом стекле смешивают 2—3 капли рыбьего жира и 3—4 капли хлороформного раствора брома. Через некоторое время появляется зеленовато-голубое окрашивание.

К нескольким каплям спиртового раствора витамина Е осторожно добавляют 8—10 капель концентрированной азотной кислоты и пробирку слегка встряхивают, через 1—2 мин содержимое пробирки приобретает красное или желтовато-красное окрашивание. Реакция протекает бурно, поэтому рекомендуется азотную кислоту прибавлять медленно, по стенке пробирки и проводить реакцию в вытяжном шкафу. К 1 мл раствора викасола или метинона добавляют 6 – 8 капель анилина и взбалтывают. Содержимое пробирки приобретает красную окраску.

#### **2.5. Лабораторная работа № 5 ( 2 часа).**

**Тема:** «Ферменты: классификация, биологическая роль, механизм действия»

**2.5.1 Цель работы:** ознакомиться с общими свойствами ферментов

##### **2.5.2 Задачи работы:**

1. Изучить гидролитическую активность ферментов
2. Ознакомиться со специфичностью действия ферментов
3. Изучить активацию и ингибицию ферментативной активности

**2.5.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Раствор Люголя, едкий натр, сульфат меди
2. Раствор крахмала, реагенты для реакции Троммера
3. Хлорид натрия, раствор Люголя, крахмал, дистиллированная вода

**2.5.4 Описание (ход) работы:**

В две пробирки наливают по 2 мл 1%-ного раствора крахмала, в одну из них добавляют 1 мл разведенной слюны (1 : 10), в другую – 1 мл воды и ставят на 10 мин в водянную баню, нагретую до 37 – 38° (внимательно следят за температурой, не допуская ее повышения), или, еще лучше, в ультратермостат, после чего охлаждают пробирки под краном. Проделывают реакции Троммера и с йодом, для чего содержимое каждой пробирки делят пополам. В две пробирки наливают по 1 мл разведенной слюны, затем в одну из них добавляют 1 мл раствора сахарозы, а в другую – столько же раствора крахмала. Обе пробирки прогревают 10 мин в водянной бане при температуре 38°C, после чего охлаждают и с содержимым каждой из них проделывают реакцию Троммера. Убеждаются, что амилаза катализировала лишь процесс гидролитического расщепления крахмала и не оказала действия на сахарозу. В 7 однотипных пробирок пипетками наливают растворы лимонной кислоты и фосфорнокислого натрия в количествах, указанных в табл. 4, получая, таким образом, буферные смеси со значениями pH от 5,6 до 8,0. В каждую пробирку добавляют по 10 капель 1%-ного раствора хлористого натрия, 0,5%-ного раствора крахмала, разведенной в 100 раз слюны и перемешивают. Пробирки ставят на 10 мин, в водянную баню при температуре 38°C, после чего быстро охлаждают, добавляют во все пробирки по 1 капле раствора Люголя, перемешивают и наблюдают окраску. Устанавливают, при каком pH произошло наиболее полное расщепление крахмала (желтая или буровато-желтая окраска с йодом). Реакция весьма специфична и показательна. В три пробирки наливают по 1 мл разведенной слюны, затем в одну из них добавляют 2 капли дистиллированной воды, во вторую – 2 капли раствора хлорида натрия, в третью – 2 капли раствора сульфата меди. В каждую пробирку добавляют по 5 капель раствора крахмала и перемешивают. Через 5 минут в каждую пробирку добавляют по 1 капле раствора Люголя, перемешивают и наблюдают окраску. Делают соответствующие выводы.

**2.6 Лабораторная работа № 6( 2 часа).**

**Тема:** «Гормоны: классификация, механизм действия»

**2.6.1 Цель работы:** ознакомиться с качественными реакциями на гормоны

**2.6.2 Задачи работы:**

1. Осуществить обнаружение йода в щитовидной железе
2. Осуществить качественные реакции на адреналин

**2.6.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Углекислый натрий, азотнокислый натрий, хлорамин, хлороформ
2. Хлорид железа, раствор аммиака

**2.6.4 Описание (ход) работы:**

0,5 г порошка тиреоидина тщательно смешивают в тигле с 2 г смеси азотнокислого натрия и углекислого натрия (5 : 7) и нагревают до обугливания. Остаток растворяют в 20 мл воды и фильтруют. Фильтрат подкисляют 15%-ным раствором серной кислоты до слабокислой реакции (по лакмусу), после чего к нему добавляют 5 мл хлороформа, 4 – 5 мл свежеприготовленного раствора хлорамина (или хлорной воды) и встряхивают. Хлороформный слой принимает красно-фиолетовое окрашивание. 0,5 мл раствора адреналина смешивают с 2 мл воды и прибавляют 1 каплю раствора хлорного железа. Содержимое пробирки тотчас же окрашивается в изумрудно-зеленый цвет. От прибавления 1 капли раствора аммиака окраска переходит в вишнево-красную, а затем принимает коричневый оттенок.

## **2. 7. Лабораторная работа № 7 ( 2 часа).**

**Тема:** «Понятие обмена веществ и энергии в организме»

**2.7.1 Цель работы:** ознакомиться с энергетикой процесса обмена веществ

**2.7.2 Задачи работы:**

1. Изучить понятие о изобаро-изотермическом потенциале
2. Рассмотреть структуру и свойства важнейших макроэргических соединений

**2.7.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Интерактивная доска (занятие является теоретическим)

**2.7.4 Описание (ход) работы:**

Необходимо изучить химический состав, а также структурно-функциональные особенности молекулы аденоинтрифосфорной кислоты. Рассмотреть энергетику процессов гликолиза, цикла Кребса, а также различные экзотермические процессы, протекающие в клетках организма.

## **2. 8. Лабораторная работа № 8 ( 2 часа).**

**Тема: Углеводы. Классификация. Биологическая роль**

**2.8.1 Цель работы:** ознакомиться с особенностями химических свойств углеводов

**2.8.2 Задачи работы:**

1. Изучить физиологическую роль углеводов
2. Изучить особенности физико-химических свойств данного класса веществ

**2.8.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Интерактивная доска (материал излагается в форме лекции, содержащей схемы биохимических превращений представителей данного класса веществ)
2. Осуществить качественные реакции на глюкозу, виноградный сахар, фруктозу, а также лактозу и мальтозу. Реактивы: сульфат меди, карбонат натрия, лимоннокислый натрий, гидрооксид натрия, нитрат висмута, соляная кислота, гидрооксид аммония, гидрооксид калия.

**2.8.4 Описание (ход) работы:**

В начале лабораторного занятия необходимо провести теоретическое ознакомление с представителями данного класса веществ. Затем осуществить качественные реакции. Проба на глюкозу выполняется посредством введения капель мочи в пробирку, содержащую смесь из порошков медного купороса и карбоната натрия в соотношении 1:2. Смесь нагревают до кипения и охлаждают. Проба Бенедика выполняется сходным образом. Однако для её осуществления необходимо капли мочи добавить в пробирку, содержащую лимоннокислый натрий и сухой гидрооксид калия. После этого необходимо нагреть две минуты и прокипятить на водяной бане. Затем охладить раствор. Проба Ниландера выполняется введением в мочу реактива, состоящего из сегнетовой соли, нитрата висмута и щёлочи. Полученную реакционную смесь кипятят три минуты. Проба Селиванова на фруктозу выполняется посредством прибавления к миллилитру раствора резорцина капель мочи и последующего быстрого нагревания смеси на водяной бане до закипания.

## **2.9 Лабораторная работа № 9( 2 часа).**

**Тема:** «Обмен углеводов»

**2.9.1 Цель работы:** ознакомиться с методикой количественного определения глюкозы в крови

### **2.9.2 Задачи работы:**

1. Осуществить определение содержания глюкозы по методу Хагедорна-Иенсена

### **2.9.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Образец крови, тиосульфат натрия, сульфат цинка, хлорид натрия, крахмал, гексацианоферрат калия, йодид калия

### **2.9.4 Описание (ход) работы:**

В четыре пробирки наливают по 1 мл 0,1 н раствора едкого натра и 5 мл 0,45%-ного раствора сернокислого цинка. Выпадает студенистый осадок гидрата окиси цинка. В две пробирки сухой микропипеткой вносят по 0,1 мл крови. Пипетку погружают в раствор гидрата окиси цинка почти до дна пробирки, осторожно выпускают кровь и хорошо перемешивают ее с содержимым пробирки, 2–3 раза втягивая и выпуская жидкость. В две другие пробирки вносят по 0,1 мл дистиллированной воды (контроль). Все пробирки ставят в кипящую водяную баню точно на 3 мин. Белки крови выпадают в виде бурых сгустков. Содержимое четырех пробирок фильтруют через вату в четыре сухих пронумерованных стаканчика. Кусочки ваты в воронках до фильтрования промывают горячей дистиллированной водой (по 2 мл). Пробирки, в которых осаждали белок, ополаскивают 2 раза горячей водой (по 2–3 мл), присоединяя промывные воды к основным фильтратам (через те же воронки с ватой). Фильтрат должен быть прозрачным.

Во все четыре стаканчика добавляют точно по 2 мл содового раствора железосинеродистого калия, а затем нагревают на кипящей водяной бане 15 мин. После охлаждения в каждый стаканчик доливают по 2,6 мл хлорцинкового раствора, 0,4 мл раствора йодистого калия и 2 мл 3%-ного раствора уксусной кислоты. Выделившийся йод оттитровывают из микробюretки 0,005 н раствором тиосульфата натрия (индикатор – раствор крахмала).

На титрование контрольной пробы должно быть израсходовано около 2 мл 0,005 н раствора тиосульфата. В опытных образцах объем раствора тиосульфата, израсходованный на титрование, обратно пропорционален содержанию глюкозы в крови.

Для расчета содержания глюкозы пользуются таблицей.

Пример расчета. На титрование исследуемого образца израсходовано 1,29 мл 0,005 н раствора тиосульфата, контрольного – 1,92 мл. По табл. 7 находим, что 1,29 мл раствора тиосульфата соответствуют 0,125 мг глюкозы, а 1,92 мл того же раствора – 0,014 мг. Содержание глюкозы в 0,1 мл крови равно  $0,125 - 0,014 = 1,111$  мг, а в 100 мл  $1,111 \cdot 1000 = 111$  мг.

## **2.10. Лабораторная работа № 10 (2 часа)**

**Тема:** Белки. Классификация. Биологическая роль

**2.10.1 Цель работы:** ознакомиться с основными свойствами белков

**2.10.2 Задачи работы:**

1. Осуществить денатурацию белковых молекул
2. Выполнить качественные реакции на белки

**2.10.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Растворы органических и неорганических электролитов
2. Сульфат меди, ацетат свинца, нитрат серебра, хлорид железа

**2.10.4 Описание (ход) работы:**

В пять пробирок наливают растворы уксусной кислоты и уксуснокислого натрия в количествах, указанных в таблице, после чего в каждую пробирку добавляют по 1 мл раствора желатина и хорошо перемешивают, затем прибавляют по 4 мл этилового спирта (или по 1 мл раствора танина) и снова перемешивают. Через 5 – 10 минут просматривают все пробирки и оценивают степень мутности смеси в каждой из них. pH наиболее мутной смеси соответствует изоэлектрической точке желатина. Результаты опыта записывают в таблицу. В четыре пробирки наливают по 1-2 мл раствора белка и по каплям добавляют растворы солей: в первую – ацетата свинца, во вторую – сульфата меди, в третью – хлорида железа (III), в четвёртую – нитрата серебра (до выпадения осадков). Затем прибавляют избыток указанных реагентов и наблюдают растворение осадков в первых трёх пробирках. Осадок, вызванный прибавлением нитрата серебра, не растворяется в избытке соли.

## **2.11 Лабораторная работа № 11( 2 часа).**

**Тема:** «Обмен белков»

**2.11.1 Цель работы:** ознакомиться с аминокислотами, формирующими состав белковых веществ

**2.11.2 Задачи работы:**

1. Теоретически изучить процесс поликонденсации
2. Осуществить дезаминирование аминокислот

3. Выполнить переаминирование аминокислот

### **2.11.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Серная кислота, фосфатная буферная смесь, реактив Несслера

2. Раствор карбоната натрия, монобромукусная кислота, салициловый альдегид

### **2.11.4 Описание (ход) работы:**

Опыт проводят в трех пробирках. В первую вносят 1 мл ферментного препарата (центрифугата) и 1 мл фосфатного буфера, во вторую – 1 мл раствора аланина и 1 мл буферной смеси, в третью – 1 мл ферментного препарата и 1 мл раствора аланина. Все пробы тщательно перемешивают, плотно закрывают заранее подобранными пробками и помещают в водянную баню 37 – 38° С на 1 ч (лучше пользоваться ультратермостатом). Во время инкубации тщательно следят за температурой воды в бане, не допуская ее повышения. По истечении указанного срока во все пробирки приливают по 1 мл 10%-ного раствора серной кислоты и 3 – 4 мл реактива Несслера и наблюдают за окраской жидкости. В опытной пробе (третья пробирка) появляется интенсивное желто-оранжевое окрашивание (до желто-бурового), вызванное продуктом взаимодействия аммиака с реагентом Несслера (иодидом меркураммония). Жидкость в первой и второй пробирках, которые служили контролем, примет бледно-желтую окраску.

Опыт проводят в трех больших пробирках: первая и вторая – контрольные, третья – опытная. В первую пробирку вносят по 2 мл растворов аланина и двууглекислого натрия и 1 мл раствора монобромукусной кислоты; во вторую – то же, но вместо аланина приливают 2 мл раствора  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты; в третью – по 2 мл растворов аланина и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты и 1 мл раствора монобромукусной кислоты. Затем быстро во все три пробирки одновременно вносят мышечную кашицу, перемешивают, пробирки закрывают пробками и помещают в термостат при 37 – 38°C на 1 ч, все время встряхивая пробы (удобно пользоваться ультратермостатом или, еще лучше, аппаратом для встряхивания пробирок с термостатной ванной).

Через час пробы вынимают, в пробирки для осаждения белков приливают по 2 мл раствора трихлоруксусной кислоты, встряхивают для перемешивания и через 3 – 5 мин фильтруют.

К 2 мл фильтрата из каждой пробирки добавляют по 2 мл раствора едкого кали и 1 мл раствора салицилового альдегида, пробирки встряхивают и ставят на 10 – 12 мин в водянную баню или ультратермостат при температуре 37 – 38°C.

Жидкость в опытной пробирке принимает интенсивное оранжевое окрашивание, свидетельствующее о наличии пировиноградной кислоты, в контрольных пробирках окраска жидкости остается светло-желтой.

## **2.12 Лабораторная работа № 4( 2 часа).**

**Тема:** «Липиды. Классификация. Биологическая роль»

**2.12.1 Цель работы:** ознакомиться с особенностями физико-химических свойств липидов

### **2.12.2 Задачи работы:**

1. Изучить структурно-функциональные особенности липидов

2. Осуществить качественные реакции на холестерин

3. Осуществить качественное определение присутствия кетоновых тел

### **2.12.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Интерактивная доска (в ходе работы демонстрируется слайд презентация, посвящённая особенностям свойств липидов)

2. Хлороформный раствор, серная кислота, уксусный ангидрид, бромная вода.

#### **2.12.4 Описание (ход) работы:**

В начале работы необходимо провести вводную лекцию на тему физико-химических свойств липидов. Затем выполнить реакцию Либермана – Бурхарда посредством введения капли хлороформного раствора холестерина, капли уксусного ангидрида и капли концентрированной серной кислоты. Цветная реакция Сальковского на холестерин выполняется введением капли хлороформного раствора холестерина и капли серной кислоты в пробирку. Определение содержания холестерина в сыворотке крови методом Илька выполняется введением в раствор, состоящий из смеси уксусного ангидрида и ледяной уксусной кислоты, а также серной кислоты в количестве 4, 5 мл на 50 мл смеси ангидрида и уксусной кислоты, негемолизированной сыворотки крови. Пробирку необходимо встряхивать и термостатировать 20 минут при 37 градусах по Цельсию. Затем выполняется колориметрическое исследование.

### **2.12. Лабораторная работа № 13 ( 2 часа).**

**Тема:** «Обмен липидов.»

**2.13.1 Цель работы:** ознакомиться с особенностями физико-химических свойств липидов

#### **2.13.2 Задачи работы:**

1. Изучить структурно-функциональные особенности липидов

2. Осуществить качественные реакции на холестерин

3. Осуществить качественное определение присутствия кетоновых тел

#### **2.13.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Интерактивная доска (в ходе работы демонстрируется слайд презентация, посвящённая особенностям свойств липидов)

2. Хлороформный раствор, серная кислота, уксусный ангидрид, бромная вода.

#### **2.13.4 Описание (ход) работы:**

В начале работы необходимо провести вводную лекцию на тему физико-химических свойств липидов. Затем выполнить реакцию Либермана – Бурхарда посредством введения капли хлороформного раствора холестерина, капли уксусного ангидрида и капли концентрированной серной кислоты. Цветная реакция Сальковского на холестерин выполняется введением капли хлороформного раствора холестерина и капли серной кислоты в пробирку. Определение содержания холестерина в сыворотке крови методом Илька выполняется введением в раствор, состоящий из смеси уксусного ангидрида и ледяной уксусной кислоты, а также серной кислоты в количестве 4, 5 мл на 50 мл смеси ангидрида и уксусной кислоты, негемолизированной сыворотки крови. Пробирку необходимо встряхивать и термостатировать 20 минут при 37 градусах по Цельсию. Затем выполняется колориметрическое исследование.

### **2.14 Лабораторная работа № 14( 2 часа).**

**Тема:** «Обмен нукleinовых кислот. Нукleinовые кислоты – функции и свойства»

**2.14.1 Цель работы:** ознакомиться с особенностями свойств нуклеиновых кислот

**2.14.2 Задачи работы:**

1. Изучить биологическую роль нуклеиновых кислот

2. Рассмотреть состав молекул ДНК и РНК

3. Изучить процессы репликации, транскрипции и трансляции

**2.14.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Интерактивная доска ( занятие осуществляется посредством теоретического ознакомления студентов с материалом)

**2.14.4 Описание (ход) работы:**

Необходимо изложить информацию о структуре дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислоты. Описать принцип построения последовательности в полинуклеотидных цепях, основанный на водородном взаимодействии между азотистыми основаниями и формировании вторичной спиралевидной структуры ДНК. Описать процессы репликации, а также синтез рибонуклеиновой кислоты на базе ДНК. Описать биосинтез белка на базе матричной РНК в рибосоме. Также нужно описать состав мономерного звена в полинуклеотидной цепи.

## **2.15 Лабораторная работа № 15( 2 часа).**

**Тема:** «Водно-минеральный обмен. Определение содержания Са в сыворотке крови»

**2.15.1 Цель работы:** ознакомиться с методом определения содержания кальция в крови подопытной птицы

**2.15.2 Задачи работы:**

1. Изучить методику определения концентрации кальция в сыворотке крови

**2.15.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. Щавелевокислый аммоний, аммиак, серная кислота, перманганат калия

**2.15.4 Описание (ход) работы:**

В одну центрифужную пробирку пипеткой вносят 1 мл сыворотки крови, в другую – 1 мл дистиллированной воды (контроль). В обе пробирки добавляют по 1 мл 4%-ного раствора щавелевокислого аммония, перемешивают и оставляют на 30 мин, после чего центрифугируют 10 – 15 мин (2500 оборотов в минуту). Прозрачную жидкость над осадком осторожно отсасывают с помощью стеклянного капилляра или декантируют, стараясь не взмутить осадка. В обе пробирки приливают по 4 мл 2%-ного раствора аммиака для отмычки от избытка щавелевокислого аммония и снова центрифугируют в течение 8 – 10 мин. Осадок щавелевокислого кальция нерастворим в щелочной среде, но хорошо растворяется в растворах минеральных кислот. Промывку осадка производят два раза. Надосадочную жидкость тщательно отсасывают или декантируют, в обе пробирки прибавляют по 1 мл 1 н раствора серной кислоты и размешивают тонкими стеклянными палочками, не вынимая их из пробирок, до полного растворения осадков. Затем пробирки (с палочками

ставят на 3 – 4 мин. В горячую водяную баню. Горячие растворы титруют (из микробюретки) 0,01 н раствором марганцовокислого калия, все время, помешивая палочками, до появления слабо-розового окрашивания, сохраняющегося в течение 1 мин.

Содержание кальция в сыворотке крови (мг%) X вычисляют по формуле  
$$x = 0.2 \cdot (O - K) \cdot 100$$

где О – количество 0,01 н раствора марганцовокислого калия, израсходованное на титрование опытной пробы, мл; К – то же при титровании контрольной пробы; 0,2 – количество кальция, соответствующее 1 мл 0,01 н раствора марганцовокислого калия, мг.

## 2.16 Лабораторная работа № 16( 2 часа).

**Тема:** «Взаимосвязь обменов веществ»

**2.16.1 Цель работы:** ознакомиться с технологией получения сыворотки крови, а также плазмы и перевода её в дефибринированное состояние

### 2.16.2 Задачи работы:

1. Изучить технологию фракционирования составных частей крови

### 2.16.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Интерактивная доска (занятие проводится в теоретическом виде)

### 2.16.4 Описание (ход) работы:

Для получения сыворотки кровь набирают обычно из яремной вены крупных животных в сухую стерильную пробирку. Следует следить за тем, чтобы кровь текла равномерно и не разбивалась о стенки пробирки. Затем кровь, ставят в термостат при температуре 37° С. Через 1 час ее переносят, на холод. Для лучшего отделения сгустка крови от сыворотки необходимо обвести сгусток по краям пробирки стеклянной палочкой. Через 4 – 5 часов стояния на холоде сыворотка в виде прозрачной желтоватой жидкости отделяется от кровяного сгустка и может быть использована для исследования. Отстоявшаяся сыворотка отсасывается пипеткой. Для более быстрого получения сыворотки свернувшуюся кровь центрифугируют при 2500 – 3000 об/мин. В этом случае кровь можно набирать сразу в центрифужную пробирку. Прозрачную сыворотку сливают в сухую стерильную посуду и хранят в холодильнике при +4 – 7 ° С. Свертывание крови – чрезвычайно сложный ферментативный процесс, в котором принимает участие ряд факторов. Исходным моментом является разрушение тромбоцитов и выделение тромбокиназы (тромбопластина). Под ее воздействием в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  плазменный белок протромбин превращается в тромбин. Последний вызывает переход растворенного фибриногена в фибрин (в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ), нити которого составляют основу тромба. Через несколько часов сгусток фибрина сжимается (ретракция) и из него выдавливается сыворотка. Плазма крови отличается от сыворотки наличием фибриногена. Для того чтобы получить плазму крови, нужно предупредить процесс ее свертывания. С этой целью к крови прибавляют различные вещества, нарушающие ту или иную фазу процесса свертывания. Чаще всего используют противосвертывающими веществами являются щавелевокислый натрий или калий, лимоннокислый натрий, фтористый натрий, гепарин, гирудин и др. Щавелевокислые, лимоннокислые и фтористые соли осаждают ионы кальция в виде нерастворимых солей. Гепарин – вещество, получаемое из печени, препятствует взаимодействию ионов кальция и протромбина и таким образом нарушает фазу образования активного фермента тромбина. Гирудин – вещество, вырабатываемое пиявками, тормозит действие тромбина на фибриноген и тем самым нарушает последнюю фазу свертывания крови.

Для получения плазмы в пробирки предварительно вносят одно из противосвертывающих средств (антикоагулянт). В расчете на 15 – 20 мл крови берут следующее количе-

ство антикоагулянта: 2 – 3 капли 1%-ного раствора гепарина или 3 – 4 капли трилона Б, 15 – 20 мг натрия лимоннокислого или щавелевокислого. В больших количествах добавлять эти средства нельзя, т.к. высокая их концентрация вызывает в крови различные изменения вплоть до гемолиза. Цельную кровь, сыворотку и плазму можно длительное время хранить в холодильнике. Вытекающую из сосуда кровь собирают в стакан и осторожно помешивают стеклянной палочкой, не касаясь при этом стенок стакана, чтобы не травмировать эритроциты и избежать гемолиза. Фибрин наматывается на палочку и удаляется вместе с последней. Дефибринирование крови можно произвести с помощью другого метода. В стакан или колбу кладутся стеклянные шарики (бусы), на которые и собирают кровь, вытекающую из кровеносного сосуда. В процессе взятия крови содержимое стакана (колбы) помешивают круговыми движениями, при этом фибрин оседает на шариках. Жидкую кровь сливают через двойной слой марли и центрифугируют. Форменные элементы крови оседают на дно, а сыворотка отсасывается пипеткой.