

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

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.Б.11.03 Биохимия

Направление подготовки (специальность) 36.03.02-02 Зоотехния

Профиль образовательной программы: Технология производства продуктов животноводства

Квалификация выпускника бакалавр

Форма обучения заочная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций

1.1 Лекция № 1 Белки. Нуклеиновые кислоты. Классификация. Биологическая роль

1.2 Лекция № 2 Витамины: классификация и биологическая роль. Гиповитаминозы, гипервитаминозы

1.3 Лекция № 3 Обмен углеводов, липидов, белков

Методические указания по выполнению лабораторных работ

1.1 Лабораторная работа № ЛР-1 Липиды, углеводы: Классификация. Биологическая роль

1.2 Лабораторная работа № ЛР-2. Обмен углеводов, липидов и белков

1.3 Лабораторная работа № ЛР-3 Биохимия крови и мышечной ткани. Биохимия молока

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1.1. Лекция № 1 (2 часа)

Тема: Белки. Нуклеиновые кислоты. Классификация. Биологическая роль

1.1.1. Вопросы лекции:

1. Функции белков.
2. Классификация белков.
3. Строение нуклеиновых кислот.
4. Функции нуклеиновых кислот.

1.1.2. Краткое содержание вопросов лекции:

1. Функции белков.

Главными физико-химическими свойствами белков являются молекулярная масса, электрический заряд и растворимость в воде.

Молекулярная масса белков может значительно варьировать. Например, гормон инсулин имеет молекулярную массу около 6 тыс. Да, а иммуноглобулин М - около 1 млн. Да. Молекулярная масса белка зависит от количества аминокислотных остатков, входящих в его состав, а также массы неаминокислотных компонентов. Масса одного остатка аминокислоты в среднем составляет 110 Да. Таким образом, зная количество остатков аминокислот в белке, можно оценить его молекулярную массу и наоборот (Н.Н.Мушкарбаров, 1995).

Электрический заряд белка определяется соотношением положительно и отрицательно заряженных групп на поверхности его молекулы. Заряд белковой частицы зависит от рН среды. Для характеристики белка используют понятие «изоэлектрическая точка».

Изоэлектрическая точка (рI) — значение рН среды, при котором суммарный заряд белковой частицы равен нулю. В изоэлектрической точке белки наименее устойчивы в растворе и легко выпадают в осадок. Величина рI зависит от соотношения кислых и основных аминокислот в белке. Для белков и пептидов с преобладанием кислых аминокислот (отрицательно заряженных при рН 7,0) значение рI находится в кислой среде; для белков и пептидов с преобладанием основных аминокислот (положительно заряженных при рН 7,0) значение рI находится в щелочной среде.

2. Классификация белков.

Известно свыше 2000 белков животного, растительного и микробного происхождения. Их разделяют на две группы: *простые*, или *протеины*, и *сложные*, или *протеиды*. Протеины в результате гидролиза расщепляются в основном до аминокислот, протеиды - на простой белок (он, в свою очередь, до аминокислот) и простетическую группу.

В зависимости от физико-химических свойств, химического состава и значения различают следующие протеины:

Альбумины. К альбуминам принадлежат лактальбумин, сывороточный альбумин, леугемин (гороха), лейкозин (пшеницы). Высаливаются сульфатом аммония и другими нейтральными солями лишь при 80-100%-ном насыщении раствора. Молекулярная масса колеблется от 35 тыс. до 70 тыс. Хорошо растворяются в воде и в растворах солей. Выполняют пластические функции в тканях и клетках. В состав альбуминов входят лейцин (до 15%), лизин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, а также некоторое количество углеводов.

Глобулины. По форме молекул глобулины относятся к глобулярным белкам. Различают сывороточные, молочные и яичные глобулины. К глобулинам принадлежат миозин, тироглобулин, нейроглобулин, нейростромин, эдестин конопли, глицинии сои, фазеолин фасоли. Глобулины высаливаются 30-50%-ным раствором сульфата аммония. Молекулярная масса - от нескольких тысяч до нескольких миллионов. Важное значение имеют глобулины плазмы крови: α , β и γ . γ -Глобулины - носители иммунитета, их используют для пассивной иммунизации против инфекционных заболеваний. Количественное соотношение между альбуминами и глобулинами выражается альбуминово-глобулиновым коэффициентом. У клинически здоровых животных он равен 2, уменьшается при болезнях. В состав глобулинов входят аминокислоты: глицин (3-4%), лейцин, валин, лизин, серин, глутаминовая кислота, а также некоторая часть углеводов.

Гистоны. Имеют молекулярную массу от 5 до 37 тыс. Легко растворяются в воде, при добавлении раствора аммиака осаждаются, имеют основные свойства, обусловленные высоким содержанием диаминомонокрбонных аминокислот (20-35%). В состав гистонов входят аргинин, лизин, гистидин. Богаты гистонами ткани желез внутренней секреции (зобная), сперма рыб, лейкоциты, эритроциты. По содержанию лизина и гистидина гистоны разделяют на несколько фракций. Гистоны образуют комплексное соединение с ДНК - нуклеогистон. Присоединение и отщепление гистона к молекуле ДНК регулирует биосинтез РНК и белка. Гистоны обеспечивают уникальную структуру ДНК, являются составной частью гемоглобина и многих сложных белков.

Протамины. Белки открыты в составе нуклеопротеидов спермы рыб. Обнаружены в тканях многих паренхиматозных органов (печени, селезенке, почках) и железах внутренней секреции. Молекулы протаминов построены в основном из остатков диаминомонокрбонных кислот, особенно богаты аргинином (до 70-87%). Имеют основные свойства, образуют соли с кислотами. Аминокислотный состав протаминов, например сальмина семги, следующий: 85% остатков аргинина, остальное - серин, пролин, валин, глицин, изолейцин и аланин. В ядрах клеток протамины ассоциируют с ДНК. Выполняют функции третьей спирали ДНК, обматывая последнюю снаружи.

Проламины. Все проламины - растительные белки, ценные продукты питания: глиадин пшеницы и ржи, гордеин ячменя, зеин кукурузы, аверин овса, оризин риса, каферин сорго. Они слабо растворяются в воде, но хорошо - в 60-80%-ном этаноле. Получают экстракцией в 70%-ном этаноле с последующей отгонкой спирта в вакууме. Молекула проламина на 10-15% состоит из пролина, на 20-50% - из глутаминовой кислоты, другие аминокислоты составляют незначительный процент. Проламины бедны лизином. Молекулярная масса их достигает 75 тыс.

Глутелины. Являются важными кормовыми и пищевыми белками. Содержатся в зеленых частях растений (до 43% состава белков) и зерне злаков. Растворяются в разбавленных растворах щелочей и кислот. Молекула глутелинов богата остатками глутаминовой кисло-

ты и лизина. Выделены глутелины пшеницы и кукурузы, оризенин риса. В зерне пшеницы глиадин и глутенин образуют клейковину, определяющую хлебопекарные качества зерна. *Протеиноиды* (склеропротеины). Имеют молекулярную массу до 10 тыс. Не растворяются в холодной воде, растворах щелочей, кислот и солей, почти не расщепляются протеолитическими ферментами, прочны и эластичны. Выполняют опорные функции. Вещества, близкие к протеиноидам, получены в экспериментах, моделирующих происхождение жизни на Земле (А. И. Опарин, 1966).

3. Строение нуклеиновых кислот.

Нуклеиновые кислоты (от лат. *nucleus* - ядро) - важнейшие органические вещества, с которыми связаны все основные процессы существования живой материи. Открыты Ф. Мишером в 1868 г. в ядрах клеток гноя. В дальнейшем выявлены во всех клетках человека, животных и растений, в микробах и вирусах.

Нуклеиновые кислоты - простетические группы нуклеопротеидов. Конечные продукты гидролиза их - пуриновые и пиримидиновые основания, пентозы и фосфорная кислота. По химическому составу различают дезоксирибонуклеиновую (ДНК) и рибонуклеиновую (РНК) кислоты. В состав ДНК входит дезоксирибоза, в состав РНК - рибоза. Различаются между собой азотистыми основаниями, структурой молекул, клеточной локализацией и функциями. Соединения, молекула которых образована пуриновым или пиримидиновым основанием и пентозой (рибозой или дезоксирибозой), называют *нуклеозидами*. Название нуклеозида определяется содержащимся в нем азотистым основанием. Так, нуклеозид, имеющий в составе молекулы аденин, называют аденозином, гуанин - гуанозином, тимин - тимидином, цитозин - цитидином, урацил - уридином. В зависимости от входящих в состав молекул углеводов различают рибонуклеозиды и дезоксирибонуклеозиды.

Нуклеотиды - фосфорные эфиры нуклеозидов. В молекулу нуклеотида входят пуриновое или пиримидиновое основание, пентоза (рибоза или дезоксирибоза) и остаток фосфорной кислоты, который связывается пятым или третьим атомом углерода пентозы. Если в состав нуклеотида входит дезоксирибоза, то перед его названием обычно ставится буква "д". Название нуклеотида обычно производят от входящего в его состав нуклеозида, порядкового номера атома пентозы, к которому присоединен остаток фосфорной кислоты, или называют, как кислоту, по азотистому основанию. Многие свободные нуклеотиды осуществляют функции коферментов (НАД, НАДФ, ФАД и др.) или являются макроэргическими соединениями (АТФ, АДФ, УДФ, УТФ, ГТФ, ГДФ и др.).

4. Функции нуклеиновых кислот.

РНК — полимер, мономерами которой являются рибонуклеотиды. В отличие от ДНК, РНК образована не двумя, а одной полинуклеотидной цепочкой (исключение — некоторые РНК-содержащие вирусы имеют двухцепочечную РНК). Нуклеотиды РНК способны образовывать водородные связи между собой. Цепи РНК значительно короче цепей ДНК.

Мономер РНК — нуклеотид (рибонуклеотид) — состоит из остатков трех веществ: 1) азотистого основания, 2) пятиуглеродного моносахарида (пентозы) и 3) фосфорной кислоты. Азотистые основания РНК также относятся к классам пиримидинов и пуринов.

Пиримидиновые основания РНК — урацил, цитозин, пуриновые основания — аденин и гуанин. Моносахарид нуклеотида РНК представлен рибозой.

Выделяют три вида РНК: 1) информационная (матричная) РНК — иРНК (мРНК), 2) транспортная РНК — тРНК, 3) рибосомная РНК — рРНК.

Все виды РНК представляют собой неразветвленные полинуклеотиды, имеют специфическую пространственную конформацию и принимают участие в процессах синтеза белка. Информация о строении всех видов РНК хранится в ДНК. Процесс синтеза РНК на матрице ДНК называется транскрипцией.

Транспортные РНК содержат обычно 76 (от 75 до 95) нуклеотидов; молекулярная масса — 25 000–30 000. На долю тРНК приходится около 10% от общего содержания РНК в клетке.

Функции тРНК: 1) транспорт аминокислот к месту синтеза белка, к рибосомам, 2) трансляционный посредник. В клетке встречается около 40 видов тРНК, каждый из них имеет

характерную только для него последовательность нуклеотидов. Однако у всех тРНК имеется несколько внутримолекулярных комплементарных участков, из-за которых тРНК приобретают конформацию, напоминающую по форме лист клевера. У любой тРНК есть петля для контакта с рибосомой (1), антикодоновая петля (2), петля для контакта с ферментом (3), акцепторный стебель (4), антикодон (5). Аминокислота присоединяется к 3'-концу акцепторного стебля. Антикодон — три нуклеотида, «опознающие» кодон иРНК. Следует подчеркнуть, что конкретная тРНК может транспортировать строго определенную аминокислоту, соответствующую ее антикодону. Специфичность соединения аминокислоты и тРНК достигается благодаря свойствам фермента аминоацил-тРНК-синтетаза.

Рибосомные РНК содержат 3000–5000 нуклеотидов; молекулярная масса — 1 000 000–1 500 000. На долю рРНК приходится 80–85% от общего содержания РНК в клетке. В комплексе с рибосомными белками рРНК образует рибосомы — органоиды, осуществляющие синтез белка. В эукариотических клетках синтез рРНК происходит в ядрышках. Функции рРНК: 1) необходимый структурный компонент рибосом и, таким образом, обеспечение функционирования рибосом; 2) обеспечение взаимодействия рибосомы и тРНК; 3) первоначальное связывание рибосомы и кодона-инициатора иРНК и определение рамки считывания, 4) формирование активного центра рибосомы.

Информационные РНК разнообразны по содержанию нуклеотидов и молекулярной массе (от 50 000 до 4 000 000). На долю иРНК приходится до 5% от общего содержания РНК в клетке. Функции иРНК: 1) перенос генетической информации от ДНК к рибосомам, 2) матрица для синтеза молекулы белка, 3) определение аминокислотной последовательности первичной структуры белковой молекулы.

1.2 Лекция № 2 (2 часа).

Тема: Витамины, ферменты, гормоны: классификация и биологическая роль. Гиповитаминозы, гипервитаминозы

1.2.1. Вопросы лекции:

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

1.2.2 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 В₁. Более того, ряд витаминов оказался химически сходным с витаминами группы В — их перенесли в эту группу. Витамин, изначально названный РР (сокращение от **Pellagra Preventing factor** — фактор, предотвращающий пеллагру), теперь обозначают как витамин В₃. 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 РР (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 РР, ныне В₃. Химически это соединение представляет собой никотиновую кислоту — окисленное производное никотина. Чтобы избежать нежелательных ассоциаций в массовом сознании витамина В₃ 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
Водорастворимые витамины			
Витамин С	Аскорбиновая кислота, дегидро-аскорбиновая кислота	Не известны	Участвует в гидроксилировании пролина в оксипролин в процессе созревания коллагена
Тиамин (витамин В₁)	Тиамин	Тиаминдифосфат (ТДФ, тиаминпирофосфат, ко-карбоксилаза)	В форме ТДФ является ко-ферментом ферментов углеводно-энергетического обмена
Рибофлавин (витамин В₂)	Рибофлавин	Флавиномононуклеотид (ФМН), флавинодениндинуклеотид (ФАД)	В форме ФМН и ФАД образует простетические группы флавиновых оксидоредуктаз - ферментов энергетического, липидного, аминокислотного обмена

			на
Пантотеновая кислота (устаревшее название - витамин B ₅)	Пантотеновая кислота	Кофермент А (коэнзим А; КоА)	В форме КоА участвует в процессах биосинтеза, окисления и других превращениях жирных кислот и стероидов (холестерина, стероидных гормонов), в процессах ацетилирования, синтезе ацетилхолина
Витамин B₆	Пиридоксаль, пиридоксин, пиридоксамин	Пиридоксальфосфат (ПАЛФ)	В форме ПАЛФ является коферментом большого числа ферментов азотистого обмена (трансаминаз, декарбоксилаз аминокислот) и ферментов, участвующих в обмене серосодержащих аминокислот, триптофана, синтезе гема
Витамин B₁₂ (кобаламины)	Цианокобаламин, оксикобаламин	Метилкобаламин (CH ₃ B ₁₂), дезоксиаденозилкобаламин (дАВ ₁₂)	В форме CH ₃ B ₁₂ участвует в синтезе метионина из гомоцистеина; в форме дАВ ₁₂ участвует в расщеплении жирных кислот и аминокислот с разветвленной цепью или нечетным числом атомов углерода
Ниацин (витамин PP)	Никотиновая кислота, никотинамид	Никотинамидадениндинуклеотид (НАД); никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ)	В форме НАД и НАДФ является первичным акцептором и донором электронов и протонов в окислительно-восстановительных реакциях, катализируемых различными деадрогеназами
Фолат (устаревшее название - витамин B ₉)	Фолиевая кислота, полиглутаматы фолиевой кислоты	Тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)	В форме ТГФК осуществляет перенос одноуглеродных фрагментов при биосинтезе пуриновых оснований, тимидина, метионина
Биотин (устаревшее название - витамин Н)	Биотин	Остаток биотина, связанный с ε-аминогруппой остатка лизина в молекуле апофермента	Входит в состав карбоксилаз, осуществляющих начальный этап биосинтеза жирных кислот
Жирорастворимые витамины			
Витамин А	Ретинол, ретинол	Ретиналь, ретинилфос-	В форме ретиналя входит в

	наль, ретиное- вая кислота, ре- тинола ацетат	фат	состав зрительного пигмен- та родопсина, обеспечи- вающего восприятие света (превращение светового импульса в электрический). В форме ретинилфосфата участвует как переносчик остатков сахаров в биосин- тезе гликопротеидов
Витамин D (кальци- феролы)	Эргокальци- ферол (витамин D ₂); холекальци- ферол (витамин D ₃)	1,25-Диоксихоле- кальциферол (1,25(OH) ₂ D ₃)	Гормон, участвующий в поддержании гомеостаза кальция в организме; уси- ливает всасывание кальция и фосфора в кишечнике и его мобилизацию из скеле- та; влияет на дифференци- ровку клеток эпителиаль- ной и костной ткани, кро- ветворной и иммунной сис- тем
Витамин E (токоферолы)	a-, b-, g-, d- токоферолы	Наиболее активная форма a-токоферол	Выполняет роль биологи- ческого антиоксиданта, инактивирующего свобод- норадикальные формы ки- слорода, защищает липиды биологических мембран от перекисного окисления
Витамин K	Филлохинон (витамин K ₁); менахиноны (витамины K ₂); 2-метил-1, 4- нафтохинон (менадион, ви- тамин K ₃)	Дигидровитамин K	Участвует в превращении препротромбина в про- тромбин, а также в анало- гичных превращениях не- которых белков, участ- вующих в процессе сверты- вания крови, и костного белка остеокальцина

4. Характеристика жирорастворимых 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 A, D, E и K. 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 гипервитами-

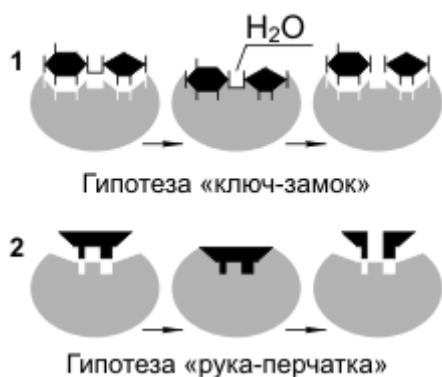
нозов - для жирорастворимых витаминов. Различаются и источники витаминов двух данных категорий. Так, зелень и нежирные овощи содержат немало водорастворимых, но не жирорастворимых витаминов. Уникальные комплексы жирорастворимых витаминов содержатся в печени зверей и рыб, что делает печень бесценным пищевым 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 коферментная 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.

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) pH. 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 °С. В этих пределах скорость реакции повышается примерно в 2 раза при повышении температуры на каждые 10 °С. При температуре выше 40 °С белок подвергается денатурации и активность фермента падает. При температуре, близкой к точке заморозания, 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 pH, при котором он проявляет максимальную активность (пепсин — 2,0, амилаза слюны — 6,8, липаза поджелудочной железы — 9,0). При более высоких или низких значениях pH активность фермента снижается. При резких сдвигах pH 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:

- *оксидоредуктазы* (перенос атомов водорода, кислорода или электронов от одного вещества к другому — дегидрогеназа),
- *трансферазы* (перенос метильной, ацильной, фосфатной или аминокислотной группы 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).

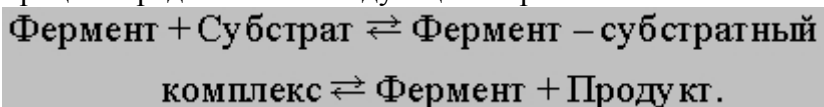
Классы в свою очередь подразделены на подклассы и подподклассы. В действующей международной классификации каждый фермент имеет определенный шифр, состоящий из четырех чисел, разделенных точками. Первое число — класс, второе — подкласс, третье — подподкласс, четвертое — порядковый номер фермента в данном 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 высокоэффективных 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 защищает 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 стиральные порошки. 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 ингибировать 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.

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 присоединяется 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 смещено 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 уравнивается 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 занятыми 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 разрываются 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 питатель-

ных 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 аденозиндифосфата (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 гемопротейны), в которых атом железа попеременно 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 (запасующими энергией). 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.

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 мембраны. Гормоны сравнительно быстро разрушаются 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 адре-

налин 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 мембраны. 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 зрелую 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.

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 громоздки. 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, зубной 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 эйкозаноиды – 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, тиреотропин 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 (тироксин и его производные). Гормоны 1-й и 2-й групп хорошо растворимы в воде.

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

Эйкозаноиды, 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 (Т ₃)
Лактогенный гормон (пролактин, ЛТГ)	Тестостерон	Тироксин (Т ₄)
Лютеинизирующий гормон (лютропин, ЛГ)	Эстрадиол	
Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)	Прогестерон	
Меланоцитстимулирующий гормон (МСГ)		
Хорионический гонадотропин (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	Эйкозаноиды, 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, к-рые 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 тетраiodтиронин, или тироксин. Они переходят в кровь, где связываются с белками сыворотки крови (с сглобулинами), к-рые 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 физиологич. активность трийодтиронина объясняется тем, что он легче отщепляется от белков-переносчиков. Срок полураспада тироксина, находящегося в свободном состоянии в крови, ок. 6 дней, а трийодтиронина - ок. 2*/г дней. Характерное действие Г. щитовидной железы - усиление энергетич. обмена, к-рое при введении тироксина начинается не сразу, а через 24 часа и достигает максимума к 10-12-му дню. При введении трийодтиронина энергетич. обмен усиливается раньше - через 6-12 час. При введении человеку 1 мг тироксина суточный расход энергии повышается примерно на 1000 ккал. Тироксин 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 выраженными (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 угнета-

ется функция спец. клеток остеокластов, разрушающих костную ткань, и активируется функция остеобластов, строящих костную ткань. Тирокальцитонин называют Г., сберегающим 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. Бета-клетки продуцируют гормон инсулин, альфа-клетки - гормон глюкагон. Инсулин - гормон полипептидной природы. Это первый Г., к-рый 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 к-рых 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 натошак; 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 внутриклеточные 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 не все 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 вызывать экстренное повышение работоспособности организма в чрезвычайных условиях. При всех состояниях, к-рые сопровождаются активной деятельностью организма и усилением 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 минеральный 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 некрозах других заболеваниях. На этом основано их клин. применение. Т. к. эти Г. угнетают развитие воспалительных процессов, их называют «противовоспалительными гормонами». Установлено, что при боли, травме, кровопотере, перегревании, переохлаждении, некрозах, отравлениях, инф. заболеваниях, тяжелых психич. переживаниях выделение глюкокортикоидов усиливается. При этих состояниях усиливается секреция в кровь адреналина, к-рый, действуя на гипоталамус, вызывает в его клетках образование так наз. кортикотропиносвобождающего фактора, к-рый, в свою очередь, вызывает образование в передней доле гипофиза адренотропного 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 «напряжением» 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 - 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: аденокортикотропный гормон (АКТГ), воздействующий на надпочечники; тиреотропный гормон (ТТГ) - на щитовидную железу: фолликулолестимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ) и лактоотропный 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 некоторые 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.

1.3. Лекция № 5 (2 часа).

Тема: «Обмен углеводов»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Общая схема обмена углеводов
2. Пути распада полисахаридов и олигосахаридов
3. Метаболизм моносахаров.
4. Общая схема обмена липидов
5. Катаболизм липидов.

1.3.2 Краткое содержание вопроса:

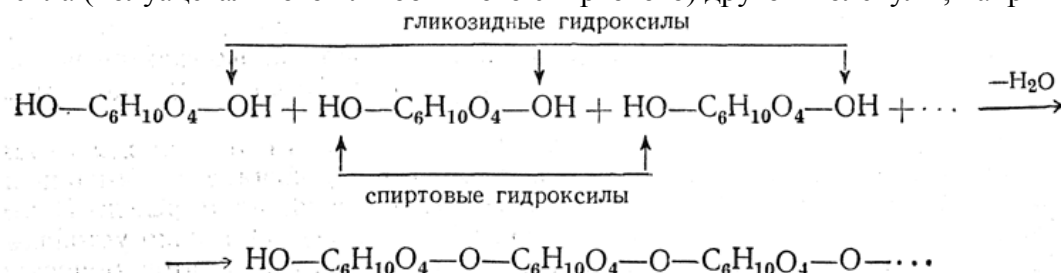
1. Общая схема обмена углеводов

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 моноз:

n молекул моноз $\rightarrow (n - 1)\text{H}_2\text{O} \rightarrow 1$ 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 + $(n - 1)\text{H}_2\text{O} \rightarrow n$ молекул моноз

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 получают 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 каталитическим 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, α - или β -конфигураций и т. д.

Особенно специфичен *ферментативный гидролиз* полисахаридов. Ферменты, каталитически ускоряющие гидролиз полисахаридов (носящие общее название *карбогидразы*), действуют строго избирательно, например только на α -гликозидную связь (α -гликозидазы) или только на β -гликозидную связь (β -гликозидазы). Избирательность действия карбогидраз зависит также от ряда других, более тонких особенностей структуры 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.

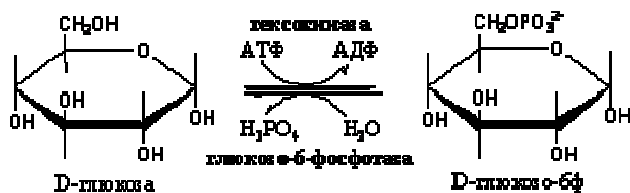
Высшие полиозы (высшие полисахариды) сладким вкусом не обладают; при гидролизе каждая молекула полиозы распадается на очень большое число молекул моноз, исчисляемых иногда десятками и сотнями тысяч. Самыми важными представителями высших полиоз, широко распространенными в природе, являются крахмал и целлюлоза.

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 её 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 диффундировать 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 клетке в различных превращениях, основными из которых являются: катаболизм с образованием АТФ, синтез гликогена, липидов, пентоз, полисахаридов и аминокислот.

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, стерина, глицеролей, H_3PO_4 ,

азотистых оснований, высших спиртов и др.), которые и всасываются слизистой оболочкой пищеварительного 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 сычуг). 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 тощую 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 гнилоственному разложению под влиянием ферментов микрофлоры. Слизь толстой кишки содержит некоторое количество фосфатидов. Часть из них резорбируется. Невсосавшийся холестерин восстанавливается до копростерина кала.

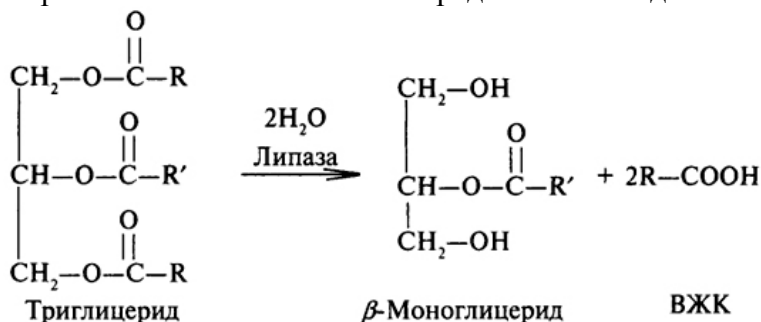
Промежуточный обмен у липидов он имеет особенности, заключающиеся в том, что в тонкой кишке сразу же после всасывания продуктов гидролиза происходит ресинтез липидов, свойственных для данного вида животных.

2. Катаболизм липидов.

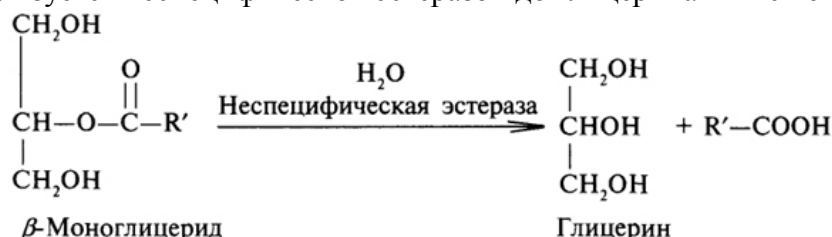
Обновление липидов тканей и органов организма требует предварительного внутриклеточного ферментативного их гидролиза.

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 митохондриях - 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:



β -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 гидролиза сложноэфирных связей в молекуле фосфатидов ускоряются различными по специфичности фосфолипазами. В зависимости от того, гидролиз какой сложноэфирной связи катализировать фосфолипаза, ее называют A_1 , A_2 , C, D (схема 5).

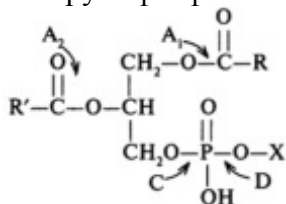
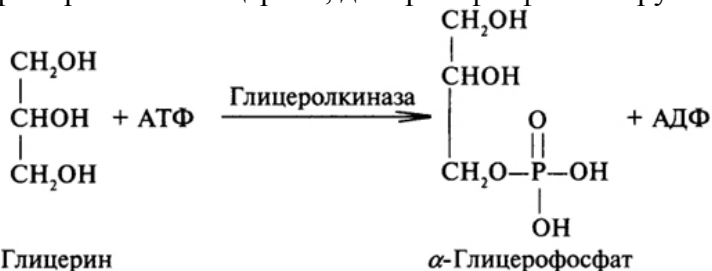


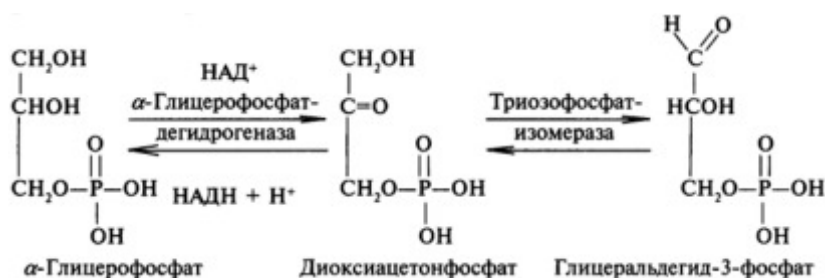
Схема 5. Специфичность действия фосфолипаз: X - азотистое основание; стрелки указывают гидролизуемую соответствующей фосфолипазой связь

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:

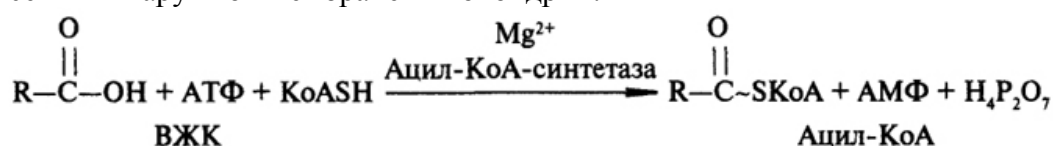


Большая часть α -глицерофосфата используется для синтеза триглицеридов. Обмен глицерина тесно связан с гликолизом, во второй этап которого вовлекаются его метаболиты:



Окисление жирных кислот. В 1904 г. Ф. Кнооп показал, что в митохондриях в ходе окисления происходит постепенное уменьшение на два углеродных атома с карбоксильного конца высшей жирной кислоты. Ф. Кнооп назвал механизм окисления ВЖК β -окислением. Дальнейшие исследования, проведенные А. Ленинджером, Ф. Линеном, Д. Грином, С. Очоа и другими учеными, уточнили и развили представления о β -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 мембране 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. Перенос ацила между КоА и карнитином является ферментативным процессом, катализируемым ацил-КоА-карнитин-трансферазой (рис. 16).

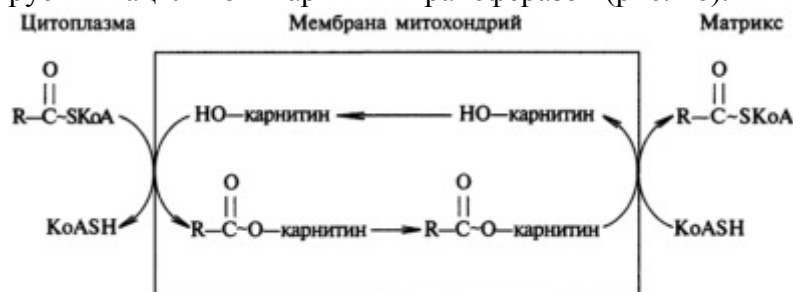
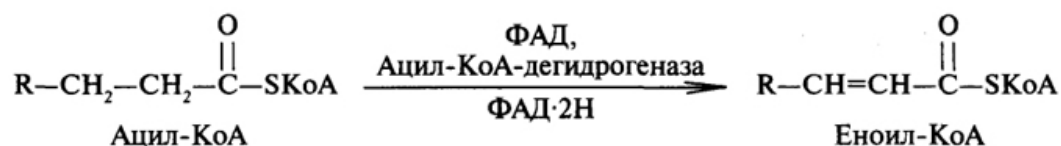
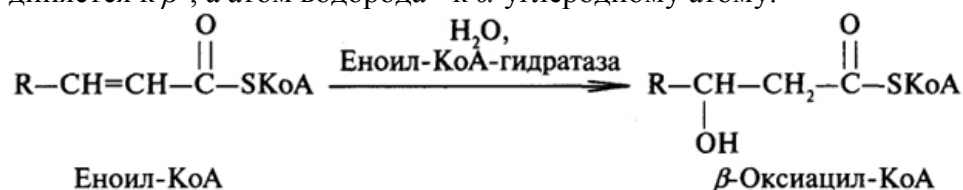


Рис. 16. Схема транспорта жирных кислот через митохондриальную мембрану

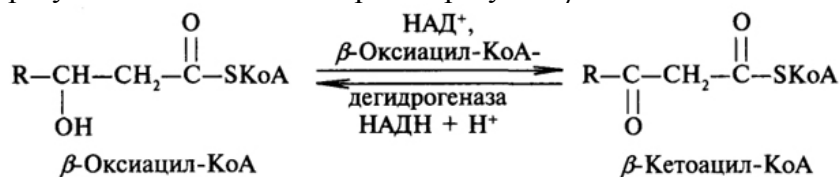
В матриксе митохондрии происходит процесс β -окисления. Первой стадией β -окисления ВЖК является окисление ацил-КоА путем отщепления двух атомов водорода от α - и β -углеродных атомов ацила коферментом соответствующей дегидрогеназы:



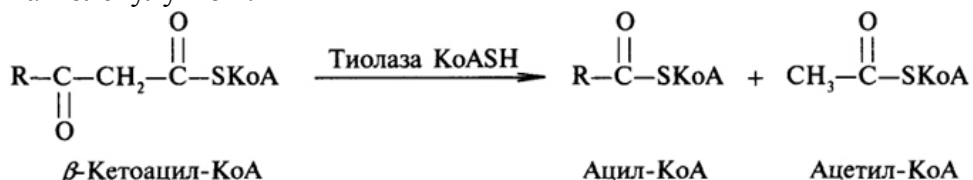
Далее происходит присоединение молекулы воды таким образом, что ОН-группа присоединяется к β -, а атом водорода - к α -углеродному атому:



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



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



Ацил-КоА, образовавшийся на последнем этапе, вновь подвергается β -окислению, проходя все описанные выше стадии. Следовательно β -окисление - это циклический процесс. Конечным продуктом β -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 КоА, запасы которого в клетке ограничены. β -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.

3. В-окисление ВЖК.

Деградация жирных кислот происходит в митохондриальном матриксе путем окислительного цикла реакций, при котором последовательно отщепляются С2-звенья в виде ацетил-КоА (активированной уксусной кислоты). Первая стадия β -окисления — дегидрирование активированной жирной кислоты (ацил-КоА) с образованием β -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 дегградации жирной кислоты состоит в присоединении молекулы воды к двойной связи ненасыщенной жирной кислоты (реакция гидратирования). На третьей стадии происходит окисление гидроксильной группы в карбонильную группу (реакция дегидрирование). Акцептором для восстановительных эквивалентов является НАД⁺ который передает их в дыхательную цепь. На четвертой стадии активированная β -кетокислота расщепляется ацилтрансферазой (β -кетотиолазой) в присутствии кофермента А (реакция тиолитического расщепления). 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 дегградации длинноцепочечной жирной кислоты цикл должен многократно повторяться; например, для стеарил-КоА необходимы восемь циклов.

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 неисчислимые 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 сычуг, 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 сычуг), 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, гастриксин, 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 соляной кислоты - обкладочные. Источником хлорид-ионов служит NaCl, ионов 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 pH 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 $pH < 5$ превращается в реннин. Под его влиянием казеиноген молока превращается в казеин. Оказывает каталитическое действие при слабокислой реакции ($pH\ 5,0-5,3$) 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 разрываются 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, фиброинов 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 гормоноидами 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 аминок группой других аминокислот при pH 5,5-6 и pH 6,5-7. Белки под влиянием пептид-гидролаз расщепляются до пептидов, пептиды пептидазами - до олигопептидов, олигопептиды - до аминокислот. Так, зеин кукурузы гидролизуются 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 α -D(+)-глюкозы и β -D(+)-глюкозы. Монозы подвергаются различным видам брожения, что приводит к образованию низкомолекулярных жирных кислот. Так, при молочнокислом брожении, вызываемом *Bact. lactis*, из глюкозы образуется молочная кислота: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3 \rightarrow CHOH - COOH$. При маслянокислом брожении, вызываемом бактериями рода *Clostridium*, образуется масляная кислота: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3 - CH_2 - CH_2 - COOH + 2H_2 + 2CO_2$ 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.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

2.2 Лабораторная работа № 4(2 часа).

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

2.2.1 Цель работы: ознакомиться с особенностями физико-химических свойств липидов

2.2.2 Задачи работы:

1. Изучить структурно-функциональные особенности липидов
2. Осуществить качественные реакции на холестерин
3. Осуществить качественное определение присутствия кетоновых тел

2.2.3 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.

2.2.4 Описание (ход) работы:

1. 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 Ильяка 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. 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.

2.2 Лабораторная работа № 9(2 часа).

Тема: «Обмен углеводов, липидов, углеводов»

2.2.1 Цель работы: ознакомиться с методикой количественного определения глюкозы в крови

2.2.2 Задачи работы:

1. Осуществить определение содержания глюкозы по методу Хагедорна-Иенсена

2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

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

2.2.4 Описание (ход) работы:

1. 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 горя-

чей 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 микробюретки 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 $0,125 - 0,014 = 0,111$ мг, а в 100 мл $0,111 \cdot 1000 = 111$ мг.

2. 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 Ильяка 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.

3. 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 водяную 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-бурого), вызванное продуктом взаимодействия аммиака с реактивом Несслера (йодидом 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 монобромуксусной кислоты; во вторую – то же, но вместо аланина приливают 2 мл раствора α -кетоглутаровой кислоты; в третью – по 2 мл растворов аланина и α -кетоглутаровой кислоты и 1 мл раствора монобромуксусной кислоты. Затем быстро во все три пробирки одновременно вносят мышечную кашицу, перемешивают, пробирки закрывают пробками и помещают в термостат при 37 – 38°С 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 водяную 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.

2.3 Лабораторная работа № 3(2 часа).

Тема: Биохимия крови и мышечной ткани. Биохимия молока

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

2.3.2 Задачи работы:

1. Изучить методику определения концентрации кальция в сыворотке крови

2.3.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

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

2.3.4 Описание (ход) работы:

1. 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 отмытки 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 O – количество 0,01 н раствора марганцовокислого калия, израсходованное на титрование опытной пробы, мл; K – то же при титровании контрольной пробы; 0,2— количество кальция, соответствующее 1 мл 0,01 н раствора марганцовокислого калия, мг.

2. В большую пробирку из тугоплавкого стекла наливают 0,5 мл молока и 2 мл концентрированной серной кислоты. Одновременно проводят контрольный опыт с 0,5 мл

воды и 2 мл серной кислоты. Обе пробирки закрывают маленькими воронками и ставят в наклонном положении на песчаную баню (под тягой!). Осторожно нагревают до обугливания, после чего охлаждают, прибавляют в каждую пробирку по 0,5 мл пергидроля и нагревают до кипения, кипятят несколько минут. Указанную операцию повторяют до полного обесцвечивания жидкости. Бесцветные минерализаты (опытной и контрольной проб) количественно переносят в две мерные колбы на 100 мл и доводят водой до меток. Пипетками берут по 5 мл опытного и контрольного растворов и вносят в мерные колбы на 50 мл. В колбу с контрольным раствором добавляют 1 мл стандартного раствора KH_2PO_4 . В обе колбы приливают по 1 мл раствора молибденовокислого аммония, 0,5 мл раствора эйконогена (или 1 мл свежеприготовленного 0,2%-ного раствора аскорбиновой кислоты) и по 25 мл воды. Колбы оставляют на 15 – 20 мин, потом доводят водой до метки, перемешивают и колориметрируют. Содержание фосфора (в миллиграммах на 100 мл молока) – X – рассчитывают по формуле

$$X = \frac{0,05 \cdot A \cdot 100}{B \cdot m}$$

где 0,05 – содержание фосфора в 1 мл стандартного раствора, мг; A – показания колориметра для опытного раствора; B – показания колориметра для контрольного раствора; m – количество молока, содержащееся в 5 мл раствора минерализата, взятых для определения фосфора (т.е. в тех 5 мл раствора, которые были внесены в мерную колбу на 50 мл), мл.