

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ. ПРАКТИКУМ

Минск БГМУ 2021

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ. ПРАКТИКУМ

Рекомендованно Учебно-методическим объединением по высшему медицинскому, фармацевтическому образованию в качестве учебно-методического пособия для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальности 1-79 01 07 «Стоматология»

4-е издание



Минск БГМУ 2021

УДК 577(076.5)(075.8)
ББК 28.072я73
Б63

А в т о р ы: д-р мед. наук, проф. А. Д. Таганович; канд. биол. наук, доц. А. В. Колб; канд. мед. наук, доц. Э. И. Олецкий; канд. мед. наук, доц. Т. В. Василькова; канд. мед. наук, доц. Ж. А. Рутковская; канд. мед. наук, доц. И. Л. Котович; канд. хим. наук, доц. Н. Н. Ковганко; канд. мед. наук, ст. преп. Л. П. Лисицына; канд. биол. наук, ассист. Н. И. Гронская; канд. мед. наук, доц. Е. А. Девина; ассист. З. И. Полякова; канд. биол. наук, доц. Т. Ю. Принькова

Р е ц е н з е н т ы: д-р биол. наук, проф., проректор по учебной работе и международным связям Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета Н. Ю. Коневалова; каф. биологической химии Гродненского государственного медицинского университета

Биологическая химия. Практикум : учебно-методическое пособие / А. Д. Таганович
Б63 [и др.]. – 4-е изд. – Минск : БГМУ, 2021. – 147 с.

ISBN 978-985-21-0698-6.

Изложены рекомендации по всем темам лабораторно-практических занятий по биологической химии для студентов стоматологического факультета. По каждой теме даны: цель занятия, актуальность темы, литература для подготовки, вопросы для обсуждения, тестовые задания, описание лабораторных работ, протоколы их выполнения. Приведены вопросы к итоговым контрольным занятиям и экзамену. Даны описания лабораторных методик, используемых на занятиях. Первое издание вышло в 2017 году.

Предназначено для студентов 1–2-го курсов стоматологического факультета.

УДК 577(076.5)(075.8)
ББК 28.072я73

ISBN 978-985-21-0698-6

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2021

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

К работе в химических лабораториях допускаются лица, прошедшие инструктаж по охране труда и не имеющие противопоказаний по состоянию здоровья.

Обучающиеся обязаны выполнять требования по охране труда и пожарной безопасности, знать порядок действий при пожаре, места расположения средств пожаротушения.

При работе в лаборатории возможно воздействие на работающих следующих опасных и вредных производственных факторов:

- химические ожоги при попадании на кожу или в глаза едких химических веществ;
- термические ожоги при неаккуратном пользовании спиртовками и нагревании жидкостей;
- порезы рук при небрежном обращении с лабораторной посудой;
- отравление парами или газами высокотоксичных химических веществ;
- возникновение пожара при неаккуратном обращении с легковоспламеняющимися и горючими жидкостями;

Работать в помещении лаборатории разрешается только в присутствии преподавателя.

Работа с химическими веществами без спецодежды и наличия необходимых средств защиты глаз, органов дыхания, кожных покровов запрещается.

Перед зажиганием спиртовки нужно удостовериться, что корпус ее исправен, фитиль выпущен на нужную высоту и распущен, а горловина и держатель фитиля сухие.

Зажженную спиртовку нельзя переносить с места на место, нельзя зажигать спиртовку от другой.

Гасить спиртовку нужно, накрывая пламя фитиля колпачком. Задуть пламя запрещается.

Каждый обучающийся должен выполнять лабораторные работы на закрепленном за ним учебном месте, не загромождать его посторонними предметами. Переход на другое рабочее место без разрешения преподавателя не допускается.

Перед выполнением лабораторной работы студент обязан изучить методику и требования по ее безопасному применению.

Пролитые на пол или стол вещества обучающиеся могут обезвредить и удалить под руководством преподавателя или лаборанта.

Обучающимся запрещается покидать лабораторию, оставляя без присмотра зажженные спиртовки и другие нагревательные приборы.

Правила работы на лабораторной центрифуге.

1. Подключить центрифугу к питающей сети с помощью сетевого шнура.
2. Открыть крышку.
3. Пробирки разместить в гнездах попарно, четное число.
4. Закрыть крышку.
5. Установить нужную скорость вращения.
6. Включить центрифугу нажатием на сетевой выключатель, находящийся на пульте управления.
7. По истечении требуемого времени выключить центрифугу нажатием на сетевой выключатель.
8. После полной остановки снять крышку и вынуть пробирки.
9. Закрыть крышку.

Правила работы на фотоэлектроколориметре.

1. Включить в сеть.
2. Поставить в каретку кюветы с контрольным и опытным растворами таким образом, чтобы луч света проходил через кювету с контрольным раствором, нажать на пуск.
3. При открытой крышке нажать кнопку Ш(0).
4. Закрыть крышку и нажать кнопку К(1).
5. Поместить в луч света кювету с опытным раствором и нажать кнопку Д(5).
6. Снять показания.

Правила работы с пипетатором.

1. Осторожно вставьте нужную пипетку в силиконовый держатель пипетатора.
2. Для забора жидкости поместите пипетку в раствор и вращением круглого ролика наберите необходимый объем в пипетку.
3. Переместите пипетку в другую емкость и вращением ролика в обратном направлении осуществите вытеснение жидкости из пипетки в нужном объеме.
4. По окончании работ достаньте пипетку из силиконового держателя пипетатора.

ЗАНЯТИЕ 1. ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА БЕЛКОВ. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ. ВЫСАЛИВАНИЕ И ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКОВ

Актуальность темы

Изучение физико-химических свойств белков необходимо для понимания механизмов развития многих патологических состояний (например, отеков), механизмов транспорта веществ (в том числе лекарственных препаратов), общих свойств ферментов как биологических катализаторов. На знании физико-химических свойств белков основано их получение и использование в качестве лекарственных препаратов. Реакции осаждения используются в медицине для определения белка в биологических жидкостях, для выделения белков из растворов.

Цель занятия

Изучить уровни структурной организации молекулы белка. Сформировать представление о конформационных состояниях белковой молекулы и значении пространственной структуры в функционировании белков. Познакомиться с реакциями осаждения белков.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *физико-коллоидной химии:*
 - учение о растворах;
 - свойства белковых растворов как коллоидных систем;
 - растворимость белка;
- *биоорганической химии:*
 - понятие об уровнях структурной организации белковых молекул;
 - денатурация и денатурирующие факторы.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Укажите свойства, характерные для грубодисперсных систем:

- А. Интенсивное броуновское движение частиц. Б. Термодинамическая неустойчивость.
В. Опалесценция. Г. Седиментация.

Задание 2. Укажите свойства, присущие суспензии (в отличие от истинных растворов):

- А. Прозрачность. Б. Термодинамическая устойчивость.
В. Гетерогенность. Г. Мутность.

Задание 3. Укажите свойства, характеризующие коллоидные растворы:

- А. Низкое осмотическое давление. Б. Светорассеяние.
В. Для частиц дисперсной фазы характерна седиментация.
Г. Высокая диффузия частиц дисперсной фазы.

Задание 4. Методы очистки коллоидных растворов основаны на следующих свойствах (выберите правильные варианты):

- А. Размеры частиц дисперсной фазы больше размеров частиц примесей.
Б. Концентрация частиц дисперсной фазы больше концентрации частиц примесей.
В. Диффузии частиц примесей через фильтр.
Г. Диффузии частиц примесей через мембрану.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Уровни структурной организации белков.
2. Особенности функционирования белков с четвертичной структурой. Эффект кооперативности.

3. Общие физико-химические свойства белков (вязкость растворов, незначительная диффузия, оптическая активность, подвижность в электрическом поле, поглощение УФ-лучей, растворимость в воде).

4. Факторы устойчивости белковых растворов (заряд белка, гидратная оболочка, молекулярная масса, форма молекулы). Изоэлектрическое состояние.

5. Зависимость растворимости белка от реакции среды (изоэлектрическая точка), ионной силы, температуры раствора. Осаждение белков (обратимое осаждение — высаливание, необратимое осаждение).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 21, 24–25, 33–39.
2. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 4–13.
3. *Конспект лекций*.

Дополнительная

4. *Ленинджер, А. Основы биохимии* / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985.
5. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Назовите уровни структурной организации белков и основные связи, участвующие в их формировании.

1.1. Подберите к каждому уровню структурной организации белка соответствующее понятие, обозначенное буквой:

- | | |
|----------------------------|--|
| 1. Первичная структура. | А. Пространственное расположение отдельного участка полипептидной цепи, содержащей α -спирали и β -структуры. |
| 2. Вторичная структура. | Б. Порядок чередования аминокислот в полипептидной цепи. |
| 3. Надвторичная структура. | В. Объединение в определенном порядке двух или большего количества протомеров в молекуле олигомерного белка. |
| 4. Третичная структура. | Г. Способ укладки отдельных участков полипептидной цепи в виде α -спиралей и β -структур. |
| 5. Четвертичная структура. | Д. Расположение в пространстве всей полипептидной цепи, имеющей в своем составе α -спирали и β -структуры. |
| | Е. Полипептидная цепь, которая стабилизируется пептидными связями между остатками аминокислот. |

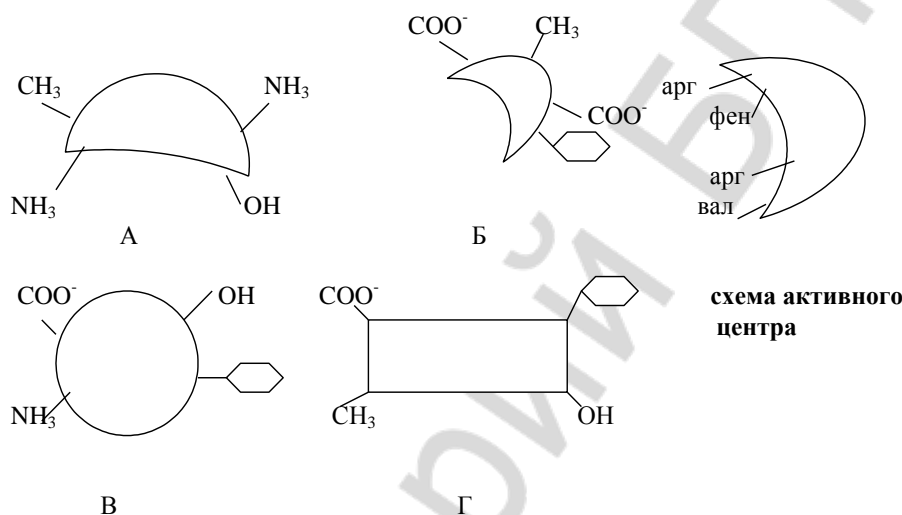
1.2. Подберите, какому уровню структурной организации белка соответствует каждый пронумерованный тип связи:

- | | |
|--|----------------------------|
| 1. Связь между карбоксильными и аминогруппами радикалов аминокислот. | А. Первичная структура. |
| 2. Связь между α -амино- и α -карбоксильными группами аминокислот. | Б. Вторичная структура. |
| 3. Связь между радикалами цистеина. | В. Третичная структура. |
| 4. Водородные связи между пептидными группировками. | Г. Четвертичная структура. |
| 5. Водородные связи между радикалами аминокислот. | |
| 6. Межрадикальные гидрофобные взаимодействия. | |

Задание 2. Вспомните, что:

- белковые молекулы имеют центры связывания (активные центры) с другими веществами (лигандами);
- активные центры формируются из аминокислотных остатков, сближенных на уровне третичной структуры;
- связи между белком и лигандом могут быть нековалентные и ковалентные;
- белки проявляют высокую специфичность при присоединении лигандов к центрам связывания;
- специфичность взаимодействия белков с лигандами обеспечивается комплементарностью структуры активного центра структуре лиганда.

2.1. В активный центр белка входят два остатка аргинина, один остаток фенилаланина и один остаток валина:



Ответьте на вопросы:

А. Какой из перечисленных лигандов (А, Б, В, Г) с наибольшей вероятностью будет взаимодействовать с активным центром данного белка и почему?

Б. Какие типы связей возникают в процессе образования комплекса данного белка с лигандом?

Задание 3. Вспомните основные реагенты и условия, вызывающие денатурацию.

3.1. Выберите правильные ответы. Денатурация белка сопровождается:

- А. Изменением конформации белка.
- Б. Уменьшением растворимости белка.
- В. Разрушением пептидных связей.
- Г. Нарушением первичной структуры белка.

3.2. Белки денатурируют в клетке в результате (выберите правильные ответы):

- А. Повышения температуры.
- Б. Изменения рН.
- В. Действия протеолитических ферментов.
- Г. Разрыва слабых связей, поддерживающих конформацию белка.
- Д. Синтеза белков теплового шока.

Задание 4. Запомните строение и функции гемоглобина и миоглобина. Умейте дать сравнительную характеристику структуры и свойств этих белков.

Выберите правильные ответы. В ходе оксигенации гемоглобина происходит следующее:

- А. Изменение конформации первого протомера, затем второго и т. д.
- Б. Одновременное изменение конформаций всех протомеров.
- В. Изменение связей между протомерами.
- Г. Изменение валентности железа в гемах протомеров.

Задание 5. Вспомните, что белки являются амфолитами. Степень ионизации катионных и анионных групп, а, следовательно, и заряд молекулы белка, зависит от значения рН среды.

5.1. Определите суммарный заряд пентапептида при рН=7: Глу-Арг-Лиз-Вал-Асп. Как изменится заряд этого пептида: а) при рН < 7; б) при рН > 7?

5.2. Усвойте понятия «изоэлектрическое состояние» и «изоэлектрическая точка» белка.

Ответьте, при каких значениях рН устойчивость растворов белков с изоэлектрическими точками 4,8; 5,3 и 6,1 будет наименьшей и почему?

Задание 6. Знайте факторы, влияющие на растворимость белков. Ответьте на тестовый вопрос. Растворимость белков в водной среде определяется:

- А. Ионизацией белковой молекулы.
- Б. Гидратацией белковых молекул при растворении.
- В. Формой молекулы белка.
- Г. Способностью связывать природные лиганды.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Подберите верные пары утверждений:

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. неполярные радикалы аминокислот. | А. Предпочтительное расположение — на поверхности белковой молекулы. |
| 2. Полярные анионные радикалы. | Б. Взаимодействие их функциональных групп формирует вторичную структуру. |
| 3. Оба. | В. Предпочтительное расположение — внутри белковой молекулы. |
| 4. Ни один. | Г. Участвуют в формировании третичной структуры. |

Задание 2. Центр связывания белка с лигандом представляет собой (выберите наиболее полный ответ):

- А. Совокупность радикалов аминокислот, сближенных на уровне третичной структуры.
- Б. Фрагмент полипептидной цепи.
- В. Участок поверхности белковой молекулы, комплементарный лиганду.
- Г. Простетическую группу белка.
- Д. Фрагмент пептидного остова.

Задание 3. Выберите верные утверждения. Нативная рибонуклеаза и денатурированная рибонуклеаза:

- А. Имеют одинаковую конформацию.
- Б. Имеют одинаковую первичную структуру.
- В. Способны связываться с природным лигандом.
- Г. Имеют одинаковую молекулярную массу.

Задание 4. В ядерных белках-гистонах содержится большое количество аминокислотных остатков аргинина и лизина, а в белке крови альбумине — много остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот. Ответьте на вопросы:

- 1. В каких средах находятся ИЭТ этих белков?
- 2. С каким из белков может взаимодействовать Ca^{2+} ?

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – Б, Г; 2 – В, Г; 3 – А, Б, В; 4 – А, Г.

Для самостоятельной работы:

1.1 – (1 – Б, Е; 2 – Г; 3 – А; 4 – Д; 5 – В); 1.2 – (1 – В, Г; 2 – А; 3 – А, В, Г; 4 – Б; 5 – В, Г; 6 – В, Г); 2.1 – (А – лиганд Б; Б – ионные, гидрофобные); 3.1 – А, Б; 3.2 – А, Б, Г; 4 – А; 5.1 – «0», а) «++», б) «- -»; 5.2 – при рН=ИЭТ; 6 – А, Б, В.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

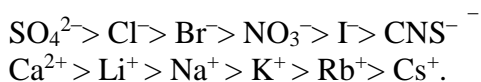
Работа 1. Высаливание белков

Высаливание — обратимая реакция осаждения белков из раствора с помощью больших концентраций нейтральных солей: NaCl, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄.

При высаливании происходит дегидратация молекул белка. На процесс высаливания влияет ряд факторов: гидрофильность белка, его относительная молекулярная масса, заряд, в связи с чем для высаливания различных белков требуется разная концентрация одних и тех же солей. Альбумины осаждаются в насыщенном р-ре (NH₄)₂SO₄, а глобулины — в полунасыщенном р-ре (NH₄)₂SO₄, так как у глобулинов большая молекулярная масса и меньший заряд, чем у альбуминов.

Высаливание белков — обратимая реакция, так как осадок белка может вновь раствориться после уменьшения концентрации солей путем диализа или разведения водой.

В соответствии с положением ионов в ряду Гофмейстера, хлорид натрия осаждает белки слабее, чем сульфат аммония, вследствие его меньшей дегидратирующей способности:



Разделение альбуминов и глобулинов яичного белка

Ход работы. К 20 каплям яичного белка добавляют 20 капель насыщенного р-ра (NH₄)₂SO₄ и перемешивают. Выпадает осадок яичного глобулина. Через 5 мин осадок отфильтровывают, используя бумажный фильтр. В фильтрате остается другой белок — яичный альбумин. К фильтрату добавляют измельченный порошок сульфата аммония до полного насыщения, т. е. пока новая порция порошка остается нерастворенной. Выпавший осадок альбумина также отфильтровывают. С фильтратом проводят биуретовую реакцию: к фильтрату добавляют 2 капли 1% р-ра CuSO₄ + 5 капель 10% р-ра NaOH. Отрицательная биуретовая реакция (голубое окрашивание) указывает на отсутствие белка в исследуемом растворе.

Результат:

Вывод:

Работа 2. Осаждение белков

Денатурация белка (необратимое осаждение) сводится к нарушению пространственной структуры белка и потере им биологических свойств. При необратимых реакциях осаждения белки претерпевают глубокие изменения и не могут быть растворимы в первоначальном растворителе. К необратимым реакциям относятся: осаждение белка солями тяжелых металлов, минеральными и органическими кислотами, алкалоидными соединениями и осаждение при кипячении.

Осаждение белков солями тяжелых металлов

Осаждение белков солями тяжелых металлов, в отличие от высаливания, происходит при небольших концентрациях солей. Белки при взаимодействии с солями тяжелых металлов

(свинца, меди, серебра, ртути и др.) адсорбируют их, образуя солеобразные и комплексные соединения, растворимые в избытке этих солей (за исключением солей нитрата серебра и хлорида ртути), но нерастворимые в воде. Растворение осадка в избытке солей называется **адсорбционной пептизацией**. Это происходит вследствие возникновения одноименного положительного заряда на частицах белка.

Ход работы

Реактивы	1-я пробирка	2-я пробирка
Раствор яичного белка	5 капель	5 капель
1% р-р сульфата меди	1–2 капли	–
5% р-р нитрата серебра	–	1–2 капли
<i>Отметить образование осадка</i>		
1% р-р сульфата меди (избыток)	5–10 капель	–
5% р-р нитрата серебра (избыток)	–	5–10 капель
<i>Отметить растворение осадка</i>		

Способность белка прочно связывать ионы тяжелого металла в виде нерастворимых в воде осадков используется как противоядие при отравлениях солями ртути, меди, свинца и т. д. Сразу после отравления, пока соли еще не успели всосаться и находятся в желудке, пострадавшему дают выпить молоко или белок куриного яйца, а затем вызывают рвоту, чтобы удалить яд из организма.

Вывод:

Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами

Концентрированные минеральные кислоты вызывают денатурацию белка и образуют комплексные соли белка с кислотами. Ортофосфорная кислота осадка не дает. В избытке всех минеральных кислот, за исключением азотной, выпавший осадок белка растворяется.

Ход работы

Реактивы	1-я пробирка	2-я пробирка
HNO ₃ (конц.)	10 капель	–
H ₂ SO ₄ (конц.)	–	10 капель
Осторожно, по стенке пробирки, добавляют белок	10 капель	10 капель
<i>Отметить появление осадка на границе раздела фаз</i>		
Избыток HNO ₃ (конц.)	10 капель	–
Избыток H ₂ SO ₄ (конц.)	–	10 капель
<i>Отметить растворение осадка</i>		

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 2. ФЕРМЕНТЫ. КЛАССИФИКАЦИЯ, СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА СКОРОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Актуальность темы

Ферменты — это биологические катализаторы белковой природы, которые контролируют практически все химические процессы, протекающие в живых организмах.

В отличие от небелковых катализаторов каждый фермент способен катализировать лишь очень небольшое число реакций, часто только одну.

Знание энзимологии имеет большое значение для подготовки и практической деятельности врача. Многие болезни (врожденные нарушения метаболизма) обусловлены генетическими нарушениями в синтезе ферментов. При повреждении клеток (вызванном, например, недостатком кровообращения или воспалением) некоторые ферменты попадают в плазму крови. Измерение активности таких ферментов обычно используется для диагностики многих распространенных заболеваний. Диагностическая энзимология — область медицины, использующая ферменты для диагностики и контроля за результатами лечения. Ферменты применяются и в терапии самых различных заболеваний.

Цель занятия

Научиться применять знания о свойствах ферментов и ферментном составе органов при последующем изучении метаболизма органов и систем, а также для решения вопросов диагностики, профилактики и лечения болезней, связанных с нарушением функционирования ферментов.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии:*
 - общие закономерности и механизмы протекания химических реакций;
 - основные положения теории катализа;
- *биоорганической химии:*
 - классификация органических реакций по направлению и результатам реакции;
 - свойства и строение белков;
 - качественные реакции на крахмал и глюкозу, используемые для оценки степени гидролиза крахмала.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Катализаторы увеличивают скорость реакции, так как:

- А. Изменяют свободную энергию реакции.
- Б. Уменьшают скорость обратной реакции.
- В. Изменяют состояние равновесия реакции.
- Г. Уменьшают энергию активации.
- Д. Избирательно увеличивают скорость прямой реакции, но не увеличивают скорость обратной реакции.

Задание 2. Подберите соответствия (уровень структурной организации белка – характерные типы связей):

- | | |
|----------------------------|--------------------------------|
| 1. Первичная структура. | А. Водородные связи. |
| 2. Вторичная структура. | Б. Ионные связи. |
| 3. Третичная структура. | В. Гидрофобные взаимодействия. |
| 4. Четвертичная структура. | Г. Пептидные связи. |
| | Д. Дисульфидные связи. |

Задание 3. Назовите коферменты, структура которых изображена схематически ниже:

3.1. Изоаллоксазин – рибитол – фосфорный остаток – фосфорный остаток – рибоза – аденин.

3.2. Никотинамид – рибоза – фосфорный остаток – фосфорный остаток – рибоза – аденин.

Задание 4. Вам даны четыре пробирки с неизвестными растворами. Проведя реакцию с реактивом Люголя, получили следующие окраски: 1) синяя; 2) бурая; 3) желтая; 4) фиолетовая.

4.1. В какой пробирке произошел полный гидролиз крахмала?

А. В первой пробирке. В. В третьей пробирке.

Б. Во второй пробирке. Г. В четвертой пробирке.

4.2. Выберите продукт, образующийся при кратковременном гидролизе крахмала:

А. Глюкоза. Б. Декстрины. В. Сахароза.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Особенности ферментов как белковых катализаторов.
2. Современная классификация ферментов и номенклатура ферментов (систематическое и рабочее названия). Шифр ферментов. Общая характеристика классов.
3. Строение ферментов. Коферменты, их классификация и роль. Блок-схемы структуры НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД и ФМН.
4. Влияние конформационных изменений на активность ферментов, денатурация.
5. Кинетика ферментативных реакций. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, pH, температуры (молекулярный механизм, графическая зависимость). Константа Михаэлиса (K_m), использование K_m для прогнозирования протекания биохимических реакций.
6. Специфичность действия ферментов. Виды специфичности.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 46–49, 53–54, 56–66.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 23–27.

Дополнительная

4. *Ленинджер, А. Основы биохимии* / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985.
5. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Обратите внимание на то, что катализаторы:

- а) увеличивают скорость химической реакции;
- б) в процессе реакции не расходуются;
- в) в равной степени катализируют как прямую, так и обратную реакции.

1.1. Запомните, что белковая природа ферментов обуславливает специфичность их действия.

1.2. Подберите соответствующие пары вопрос – ответ:

- | | |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| 1. Увеличивают энергию активации. | А. Небиологические катализаторы. |
| 2. В процессе реакции не расходуются. | Б. Ферменты. |
| 3. Неспецифичны. | В. Обе группы катализаторов. |
| 4. Ингибируются аналогами субстрата. | Г. Ни один из катализаторов. |

1.3. Запишите в общем виде реакцию с участием фермента, используя символы: S — субстрат, E — фермент, ES — промежуточный комплекс, P — продукт.

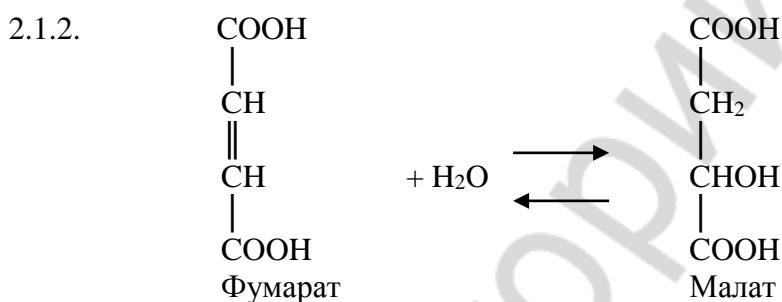
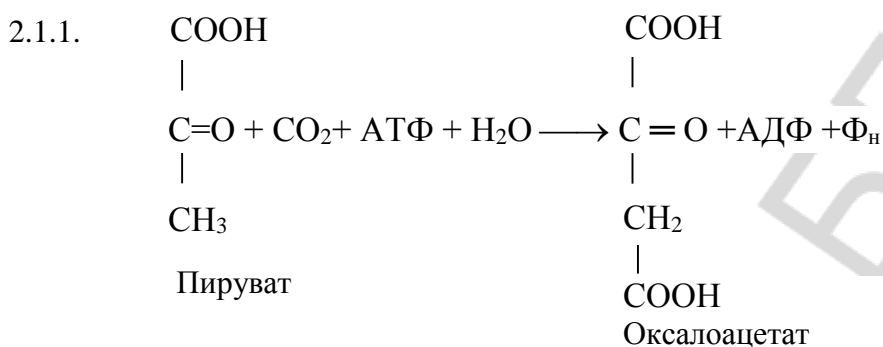
1.4. Назовите основные факторы, влияющие на активность ферментов.

Решите задачу. Оптимальные условия для действия глутаматдегидрогеназы: $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7,5$. При повышении температуры инкубационной пробы до $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ и изменении pH инкубационной среды до 4,5 скорость ферментативной реакции снизилась на 50 %. Объясните причину снижения скорости реакции.

Задание 2. Запомните, чтобы назвать ферменты по написанным реакциям, требуется:

- сравнить структуру субстратов и продуктов;
- определить тип превращения.

2.1. Укажите класс и название ферментов, катализирующих следующие реакции:



Задание 3. Напишите схематически структуру коферментов: НАД^+ , НАДФ^+ , ФАД , ФМН .

Задание 4. Нормальные клетки способны превращать аспарагиновую кислоту в аспарагин. Некоторые лейкозные клетки лишены этой способности. Добавление аспарагиназы (фермента, расщепляющего аспарагин) в кровь больных лейкозом может привести к гибели раковых клеток. Какой вид специфичности проявляет этот фермент?

- А. Относительную. Б. Абсолютную. В. Стереоспецифичность.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

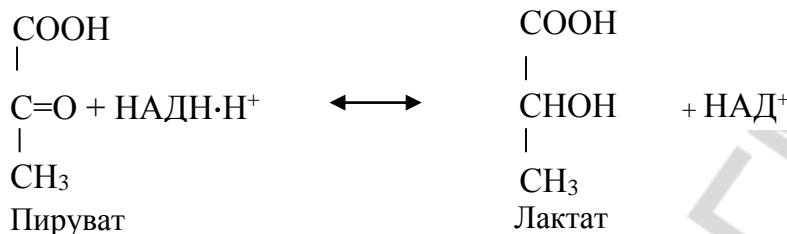
Задание 1. В лаборатории выделили фермент лизоцим и определили его активность при различных значениях pH среды. Установили, что ферментативная активность лизоцима максимальна при $\text{pH} 5,2$ и уменьшается как при снижении, так и при повышении этого значения pH . Укажите возможную причину:

- А. Изменение конформации молекулы фермента.
- Б. Утрата комплементарности активного центра и субстрата.
- В. Изменение ионизации функциональных групп фермента.
- Г. Гидролиз пептидных связей фермента.
- Д. Уменьшение свободной энергии реакции.

Задание 2. Экспериментально доказали, что активный центр фермента лизоцима содержит аминокислотные остатки глутаминовой и аспарагиновой кислот, необходимых для катализа. Какие группы в составе субстрата функционально важны для фермента?

- А. Аминогруппы. В. Тиогруппы.
Б. Карбоксильные группы. Г. Алкильные радикалы. Д. Гидроксильные группы.

Задание 3. Температура 37 °С, рН 7,5 — оптимальные условия для действия лактатдегидрогеназы (ЛДГ), катализирующей превращение:



Объясните причины уменьшения активности фермента:

- а) при повышении температуры до 60 °С;
б) при хранении фермента в буферном растворе с рН 5,0;

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1– Г. 2 – (1 - Г, Д; 2 - А; 3 - А, Б, В, Д; 4 - А, Б, В, Д). 3.1– ФАД. 3.2– НАД⁺. 4.1– В. 4.2 - Б.

Для самостоятельной работы:

1.2 – 1 - Г; 2 - В; 3 - А; 4 - Б.

1.4. При повышении температуры до 75 °С скорость ферментативной реакции снижается, так как вследствие денатурации количество активных молекул фермента уменьшается.

От рН зависят: ионизация аминокислотных остатков, включенных в катализ; ионизация субстрата; конформация фермента и его активного центра.

2.1.1– лигаза, пируваткарбоксилаза. 2.1.2– лиаза, фумаратгидратаза. 4– Б.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. **Изучение влияния различных факторов на скорость ферментативных реакций**

1. Определение активности амилазы слюны и ее термолабильности

Одним из характерных свойств ферментов является термолабильность, т. е. чувствительность фермента к температуре, при которой протекает ферментативная реакция. Для большинства ферментов температурный оптимум наблюдается при 38–40 °С. Ферменты при нагревании свыше 70 °С, как правило, утрачивают свойства биологических катализаторов.

Гидролиз крахмала под действием α-амилазы слюны происходит до стадии образования декстринов. Нерасщепленный крахмал с йодом дает синее окрашивание. Декстрины, в зависимости от размера дают с йодом различное окрашивание: амилодекстрины — фиолетовое, эритродекстрины — красно-бурое, мальтоза — желтое. Конечные продукты гидролиза крахмала — мальтоза и глюкоза — имеют свободные альдегидные группы и могут быть обнаружены реакцией Троммера.

О действии фермента судят по уменьшению количества субстрата или появлению продуктов реакции.

Ход работы. В чистую пробирку отливают небольшое количество неразведенной слюны (2–3 мл) и кипятят ее в течение 5 мин, после чего охлаждают. В 3 пробирки наливают по 10 капель 1%-ного раствора крахмала. В 1-ю пробирку добавляют 10 капель нативной слюны, разведенной в 10 раз, во 2-ю — 10 капель прокипяченной слюны, в 3-ю — 10 капель воды в качестве контроля. Все пробирки помещают в термостат при температуре 38 °С

на 10 мин. После этого с содержимым пробирок проводят качественные реакции на крахмал и продукты его расщепления.

Реакция на крахмал. К 5 каплям исследуемого раствора приливают 1 каплю раствора йода в иодиде калия (реактив Люголя). В присутствии крахмала появляется синее окрашивание.

Реакция на глюкозу (реакция Троммера). К 5 каплям исследуемой жидкости приливают 5 капель 10%-ного раствора гидроксида натрия и 3 капли 1%-ного раствора сульфата меди. Осторожно кипятят 1 мин до появления красного окрашивания, которое указывает на наличие глюкозы.

Результаты опыта запишите в таблицу:

№ пробирки	Реакция с реактивом Люголя	Реакция Троммера
1 (нативная слюна)		
2 (прокипяченная слюна)		
3 (H ₂ O)		

Вывод:

2. Влияние pH среды на активность ферментов

Для разных ферментов существует свой оптимум pH, при котором фермент наиболее активен. Например, для пепсина оптимум pH — 1,5–2,5, для аргиназы — 9,5. Определите оптимум pH для амилазы слюны по следующей методике.

Ход работы. Слюну предварительно разводят водой в 10 раз. Берут 3 пробирки и в каждую наливают по 2 мл буферного раствора с различным значением pH: 6,0; 6,8; 8,0. Затем приливают по 1 мл 0,5%-ного раствора крахмала и по 1 мл разведенной слюны. Перемешивают содержимое пробирок и помещают в термостат при 38 °С на 10 мин. Затем во все пробирки добавляют по 1 капле раствора йода, перемешивают, наблюдают окраску и отмечают pH, при котором амилаза действует наиболее активно.

Результаты опыта запишите в таблицу:

pH среды	6,0	6,8	8,0
Реакция с реактивом Люголя			

Вывод:

3. Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы слюны

Ход работы. В три пробирки наливают по 1 мл слюны, разведенной в 10 раз. В первую пробирку добавляют 2 капли воды, во вторую — 2 капли 1%-ного раствора NaCl, в третью — 2 капли 1%-ного раствора CuSO₄. После этого во все пробирки добавляют по 5 капель 1%-ного раствора крахмала и оставляют их при комнатной температуре на 2 мин. Затем во все пробирки добавляют по 1 капле раствора Люголя, перемешивают, наблюдают окраску и определяют, в какой пробирке действует активатор или ингибитор.

Результаты опыта запишите в таблицу:

Номер пробирки	1 (H ₂ O)	2 (NaCl)	3 (CuSO ₄)
Реакция с реактивом Люголя			

Вывод:

Работа 2. Специфичность ферментов

В отличие от неорганических катализаторов, ферменты обладают специфичностью (абсолютной, относительной, стереоспецифичностью). Это свойство определяется уникальным строением активного центра каждого фермента. Определите тип специфичности амилазы слюны по следующей методике.

Ход работы. Для исследования специфичности амилазы берут слюну, разведенную в 10 раз, и наливают по 1 мл в 2 пробирки.

В 1-ю пробирку добавляют 1 мл 1%-ного раствора крахмала, во 2-ю — 1 мл 1%-ного раствора сахарозы. Обе пробирки помещают на 10 минут в термостат при 38 °С, после чего проводят реакцию Фелинга для обнаружения глюкозы.

Реакция Фелинга. К 15 каплям исследуемого раствора прибавить равный объем реактива Фелинга и довести до кипения. При положительной реакции на глюкозу наблюдается красное окрашивание, которое дает закись меди. Результаты опытов запишите в таблицу:

№ пробирки	Фермент	Субстрат	Реакция Фелинга
1			
2			

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 3. РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Актуальность темы

Знание механизмов, посредством которых клетки и целые организмы координируют и регулируют весь набор метаболических процессов, важно при исследованиях в разных областях биомедицинских наук. Из всех факторов, от которых зависит определение активности фермента — концентрация фермента и субстрата, температура, pH и присутствие регуляторов, — наибольший клинический интерес представляют два последних.

Активаторы и ингибиторы влияют на активность фермента, способствуя формированию или блокированию его активного центра. Они могут взаимодействовать с аллостерическим центром и тем самым также менять ферментативную активность. Нередко ингибиторы — продукты промежуточных или конечных реакций какого-либо биохимического процесса. Некоторые природные или синтетические вещества оказывают избирательное ингибирующее действие на ферменты и используются в качестве лекарственных веществ. В больших дозах подобные вещества могут оказаться ядами.

Лекарственные препараты часто оказывают свое действие, влияя на соответствующие ферментативные реакции. Многие такие препараты сходны с природными субстратами и поэтому могут действовать как конкурентные ингибиторы ферментов. Чтобы понять многие процессы, которые существенны для фармакологии и токсикологии, необходимо иметь четкое представление о механизмах ингибирования ферментов.

Цель занятия

Научиться использовать знания о механизмах регуляции активности ферментов в последующем изучении клинических дисциплин для усвоения принципов диагностики заболеваний и контроля лечения, а также для понимания механизмов действия лекарственных препаратов, регулирующих активность ферментов.

Требования к исходному уровню знаний

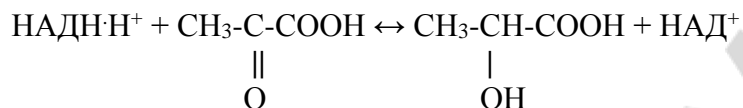
Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии:*
 - основные положения теории катализа;
- *биоорганической химии:*
 - примеры различных типов химических реакций;
 - конформационные превращения белков.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Известно, что скорость взаимодействия веществ А и В увеличилась в 3 раза после добавления вещества К. В качестве конечных продуктов обнаруживается вещество АВК. Является ли вещество К катализатором?

Задание 2. При интенсивной мышечной работе в скелетной мускулатуре накапливается молочная кислота, образующаяся в реакции:



К какому типу относится приведенная реакция?

- А. Окислительно-восстановительная реакция. В. Реакция синтеза.
Б. Реакция гидролиза. Г. Реакция электролиза.

Задание 3. Вещества А и В взаимодействуют по схеме $\text{A} + \text{B} \leftrightarrow \text{AB}$. При заданной концентрации А и В через 30 минут устанавливается подвижное равновесие, т. е. скорости прямой и обратной реакции уравниваются. Какую из приведенных характеристик реакции изменит внесение катализатора?

- А. Скорость прямой реакции. Г. Время наступления равновесия.
Б. Константу равновесия. Д. Концентрацию продуктов реакции.
В. Скорость обратной реакции.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Механизм ферментативного катализа. Теория промежуточных фермент-субстратных комплексов, типы связей.
2. Представление об активном центре фермента, его организация. Теории, объясняющие работу активного центра (Э. Фишер, Д. Кошленд).
3. Особенности строения аллостерических ферментов, аллостерический центр.
4. Механизмы регуляции скорости ферментативных процессов: изменение количества ферментов, активности ферментов, концентрации субстратов (продуктов реакции), наличие изоферментов, объединение ферментов в полиферментные комплексы, компартиментализация процессов.
5. Ключевые ферменты, характеристика.
6. Регуляция активности ферментов: ковалентная модификация, активаторы и ингибиторы (примеры). Виды ингибирования (необратимое; обратимое: изостерическое и аллостерическое), характеристика, примеры.
7. Изоферменты, примеры, биологическая роль.
8. Медицинские аспекты энзимологии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 58–60, 68–86.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 28–32.

Дополнительная

4. *Ленинджер, А. Основы биохимии* / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985.
5. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Имейте представление о механизмах ферментативного катализа. Обратите внимание на следующее:

а) в активный центр входят радикалы аминокислот различных участков полипептидного остова;

б) активный центр составляет относительно небольшую часть объема фермента;

в) активный центр располагается в углублении фермента.

1.1. Ферментативный гидролиз жиров протекает в сто раз быстрее неферментативного процесса за счет образования промежуточного фермент-субстратного комплекса. Какие связи стабилизируют этот комплекс?

А. Ионные. В. Пептидные.

Б. Водородные. Г. N-гликозидные. Д. Сложноэфирные.

1.2. Методом ИК-спектроскопии изучали природу связей между субстратом и связывающим участком активного центра фермента. В чем заключается взаимодействие фермента и субстрата по Д. Кошленду?

А. Изменяется только конформация активного центра фермента.

Б. В молекуле фермента изменяется конформация аллостерического центра под действием субстрата.

В. При образовании фермент-субстратного комплекса в ферменте и субстрате одинаково изменяется напряжение химических связей.

Г. Активный центр подходит к субстрату, как ключ к замку.

Задание 2. Усвойте, что действие ферментов можно полностью или частично подавить (ингибировать) определенными химическими веществами (ингибиторами). Дайте характеристику основным типам ингибиторов.

2.1. При исследовании влияния салицилатов на активность фермента глутаматдегидрогеназы установлено, что с увеличением концентрации субстрата (глутамата) от 1,5 до 8 ммоль степень ингибирования не изменяется. Удалив ингибитор, активность фермента можно восстановить. Определите тип ингибирования.

А. Необратимое. В. Обратимое неконкурентное.

Б. Обратимое конкурентное. Г. Ингибирование по принципу «обратной связи».

2.2. Для лечения некоторых инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями, применяются сульфаниламидные препараты, блокирующие синтез фактора роста бактерий. Выберите механизм действия сульфаниламидных препаратов:

А. Являются ферментами.

Б. Участвуют в окислительно-восстановительных процессах.

В. Являются аллостерическими ингибиторами.

Г. Конкурируют с п-аминобензойной кислотой за место связывания с активным центром фермента, синтезирующего фолиевую кислоту.

Д. Ингибируют всасывание фолиевой кислоты.

Задание 3. Усвойте основные способы регуляции каталитической активности ферментов и понятие «изоферменты».

3.1. В клинику доставили пациента с приступом бронхиальной астмы. У больного вследствие дыхательного ацидоза (рН крови 7,2) снижена активность ферментов плазмы. Укажите основную причину инактивации ферментов плазмы крови.

А. Изменение степени ионизации молекул ферментов.

Б. Необратимая денатурация.

Г. Изменение концентрации ферментов.

В. Разрыв пептидных связей.

Д. Репрессия синтеза ферментов.

3.2. При обследовании больного установлено повышение в крови активности изоферментов креатинкиназы ММи МВ. Укажите их общие свойства.

- А. Термолабильность.
- Б. Чувствительность к различным ингибиторам.
- В. Электрофоретическая подвижность.
- Г. Молекулярная масса.
- Д. Катализ одной и той же реакции.

3.3. К какому классу ферментов относится креатинкиназа?

- А. Оксидоредуктазы.
- Б. Трансферазы.
- В. Лиазы.
- Г. Гидролазы.
- Д. Изомеразы.
- Е. Лигазы.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Больной С. после приема внутрь 20 мл метанола в тяжелом состоянии доставлен в клинику, где ему ввели внутривенно этиловый спирт в количестве, которое у здорового человека вызывает интоксикацию. Объясните, почему такое лечение оказывается эффективным, учитывая, что высокая токсичность метанола обусловлена действием продукта его метаболизма — формальдегида, образующегося в печени под действием алкогольдегидрогеназы.

- А. Этанол — конкурирующий субстрат для алкогольдегидрогеназы.
- Б. Этанол вызывает денатурацию фермента.
- В. Вследствие изменения рН среды.
- Г. Происходит частичный протеолиз молекулы фермента.
- Д. Этанол связывает формальдегид.

Задание 2. При лечении опухолей мочевого пузыря в клинике применяется препарат метотрексат, обратимый конкурентный ингибитор дигидрофолатредуктазы, катализирующей синтез тетрагидрофолиевой кислоты. На взаимодействии с каким компонентом основан механизм действия этого препарата?

- А. Апоферментом.
- Б. Активным центром фермента.
- В. Аллостерическим центром фермента.
- Г. Простетической группой.
- Д. Субстратом.

Задание 3. Кроме H^+ и углекислого газа, связывание кислорода гемоглобином регулируется 2,3-дифосфоглицератом, который присоединяется к белку в участках, пространственно удаленных от гема. Как называется такой вид регуляции?

- А. Регуляция по принципу обратной связи.
- Б. Частичный протеолиз молекулы фермента.
- В. Присоединение или отщепление белка-регулятора.
- Г. Присоединение или отщепление низкомолекулярного эффектора (модулятора).
- Д. Фосфорилирование молекулы.

Задание 4. В клетках *E. coli* синтез пиримидиновых нуклеотидов осуществляется по схеме метаболического пути: $CO_2 + NH_3 + 2ATP \rightarrow P_1 \rightarrow P_2 \rightarrow УТФ \rightarrow ЦТФ$. При увеличении в клетке концентрации ЦТФ синтез пиримидиновых нуклеотидов прекращается. Какой вид регуляции описан?

- А. Аллостерическая регуляция.
- Б. Частичный протеолиз.
- В. Фосфорилирование молекулы фермента.
- Г. Присоединение белков ингибиторов.
- Д. Отщепление белков ингибиторов.

Задание 5. В инкубационную среду, содержащую субстраты — аланин, аспартат и креатин, внесли ферменты аланинаминотрансферазу, аспаратаминотрансферазу и креатинкиназу. Какие общие признаки характерны для этих ферментов?

- А. Ферменты катализируют одну и ту же реакцию.

- Б. Ферменты катализируют один тип реакций.
- В. Являются изоферментными формами.
- Г. Осуществляют передачу нервных импульсов.
- Д. Обладают групповой специфичностью.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1– нет. 2–А. 3–Г.

Для самостоятельной работы:

1.1– Б. 1.2–В. 2.1– В. 2.2– Г. 3.1– А. 3.2–А, Д. 3.3–Б.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Количественное определение активности α -амилазы слюны

Принцип метода. Метод основан на определении наименьшего количества амилазы (при максимальном разведении слюны), полностью расщепляющего весь добавленный крахмал. Амилазная активность слюны выражается количеством 0,1 % раствора крахмала в миллилитрах, которое расщепляется 1 мл неразведенной слюны при 38 °С в течение 30 мин. В норме амилазная активность слюны равна 160–320. Амилазная активность обозначается «А 38°/30». Этот метод широко используется для определения амилазной активности крови и мочи.

Ход работы. В 6 пробирок наливают по 1 мл воды и в 1-ю из них добавляют 1 мл разведенной в 10 раз слюны. Содержимое этой пробирки перемешивают, несколько раз втягивая и выпуская жидкость из пипетки. Набирают в пипетку 1 мл смеси и переносят ее во 2-ю пробирку. Содержимое этой пробирки перемешивают и 1 мл смеси переносят в 3-ю пробирку

и т. д. до 6-й пробирки. Из 6-й пробирки отбирают 1 мл смеси и выливают. Во все пробирки добавляют по 2 мл 0,1 % раствора крахмала, перемешивают, встряхивая пробирки, и помещают в термостат при 38 °С на 30 мин. После инкубации пробирки охлаждают водопроводной водой, добавляют по 1 капле 0,1 % раствора йода и перемешивают. При реакции с йодом жидкость в пробирках окрашивается в желтый, розовый и фиолетовый цвета. Отмечают последнюю пробирку с желтой окраской, где гидролиз крахмала прошел полностью, и делают расчет.

Результат:

Гидролиз крахмала в присутствии ферментов слюны при различном ее разведении

	Разведение слюны					
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
	Пробирки					
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я
Окраска раствора с йодом						
Выводы						

Пример расчета. Отметив пробирку, где гидролиз крахмала прошел полностью при наименьшем количестве фермента (желтая окраска раствора), по количеству неразведенной слюны в данной пробирке рассчитывают амилазную активность слюны по следующей про-

порции: A мл слюны расщепили 2 мл 0,1 % раствора крахмала; 1 мл слюны расщепил x мл 0,1 % раствора крахмала, где A — количество неразведенной слюны. Например: желтая окраска появилась в 4-й пробирке, где слюна была разведена в 160 раз; 1/160 мл слюны расщепили 2 мл 0,1 % раствора крахмала; 1 мл неразведенной слюны расщепил x мл 0,1 % раствора крахмала:

$$x = 2 \cdot 1 \cdot 160 / 1 = 320 \text{ мл } 0,1 \text{ \% раствора крахмала.}$$

Следовательно, амилазная активность $A_{38^0/30'}$ равна 320.

Расчет:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 4. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. ЦЕНТРАЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПУТЬ — ЦИКЛ КРЕБСА

Актуальность темы

Знание закономерностей и особенностей метаболизма необходимо для дальнейшего изучения обмена углеводов, липидов и белков на уровне клетки и организма, для понимания механизмов регуляции их метаболизма и возможной коррекции нарушений обмена веществ. Усвоив значение центральных метаболических путей для энергообеспечения клеток, можно понять причины гипоксических состояний и их связь с клеточной энергетикой. Поскольку нарушения энергетического обмена лежат в основе патогенеза многих заболеваний, знание механизма функционирования цикла Кребса позволит врачу провести правильную коррекцию метаболических нарушений (кокарбоксилаза, компоненты адениловой системы, сукцинат и др.).

Цель занятия

Получить представление о метаболизме, анаболических и катаболических метаболических путях, их различиях и взаимосвязи. Сформировать представление о лимоннокислом цикле Кребса как центральном метаболическом пути, о значении водорододонорной функции ЦТК для дальнейших окислительно-восстановительных реакций в цепи тканевого дыхания, понять катаболическую и анаболическую функции цикла Кребса.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биологии*:
 - понятия «обмен веществ», «ассимиляция», «диссимиляция» и связь между ними;
- *общей химии*:
 - понятие «окислительно-восстановительные реакции», способы окисления веществ, основы биоэнергетики, понятия «макроэргическая связь», «макроэрг»;
- *биоорганической химии*:
 - строение АМФ, АДФ, АТФ, пирогосфата, дикарбоновых, трикарбоновых кислот, α -кетокислот, гидроксикислот;
- *нормальной физиологии*:
 - понятие «основной обмен», энергетическая роль обмена веществ;
- *цитологии*:
 - структура митохондрий;
- *биохимии*:
 - класс оксидоредуктазы; дегидрогеназы; строение коферментов ФМН, ФАД, НАД⁺, НАДФ⁺; реакции декарбоксилирования.

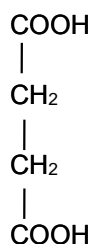
Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. К раствору гидрохинона добавили окислитель, в результате чего раствор потемнел. Какова причина изменения окраски гидрохинона?

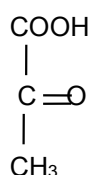
- А. Гидрохинон присоединил 2 электрона.
- Б. Гидрохинон окислился.
- В. Гидрохинон присоединил 2 атома водорода.
- Г. Гидрохинон восстановился.
- Д. Гидрохинон отдал 2 атома водорода.

Задание 2. Проанализируйте формулы указанных ниже соединений и укажите, к какому классу веществ они относятся:

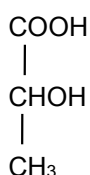
- А. Дикарбоновые кислоты.
- Б. Трикарбоновые кислоты.
- В. Монокарбоновые кислоты.
- Г. α -Кетокислоты.
- Д. Гидроксикислоты.



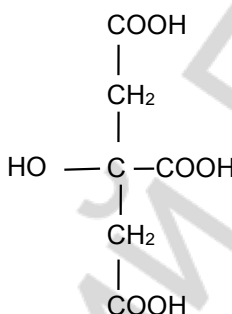
2.1



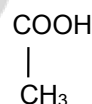
2.2



2.3

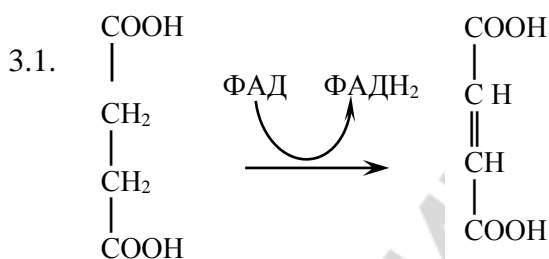


2.4

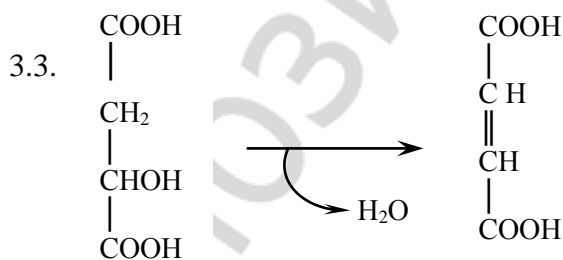
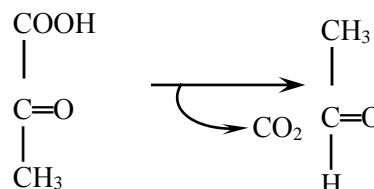


2.5

Задание 3. К написанным ниже реакциям подберите ферменты. Укажите класс.



3.2.



Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Метаболизм, линейные и циклические метаболические пути, регуляторные (ключевые) ферменты.
2. Катаболизм и анаболизм, различия и взаимосвязь между ними.
3. Реакции дегидрирования как основной способ окисления веществ в организме. Пиридин-зависимые и флавинозависимые дегидрогеназы. Роль витаминов РР и В₂ в окислительно-восстановительных реакциях. Схематическое строение коферментов НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, ФМН.

4. Адениловая система клетки, ее участие в энергетическом обмене. Центральная роль АТФ в процессах, связанных с затратой энергии. Способы синтеза АТФ: субстратное, окислительное фосфорилирование. Понятие о макроэргах.

5. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) как центральный метаболический путь. Локализация ферментов ЦТК, химизм реакций (схема), ферменты, коферменты.

6. Дегидрогеназные реакции ЦТК как источник водорода для системы тканевого дыхания. Декарбоксилирование в цикле Кребса как механизм образования в клетках CO_2 — конечного продукта катаболизма соединений углерода.

7. Функции ЦТК: интегративная, катаболическая, анаболическая, энергетическая, водорододonorная. Анаплеротические реакции. Регуляция работы ЦТК.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 133–139, 178–182.
2. Конспект лекций.
3. Биологическая химия / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 33–38, 40–42.

Дополнительная

4. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993.
5. Страйер, Л. Биохимия / Л. Страйер. Москва : Мир, 1985. Т. 2. С. 6–21, 49–68.

Задания для самостоятельной работы

Для усвоения материала темы следует обратить внимание на следующее:

1. ЦТК представляет собой конечный путь катаболизма, общий для окисления продуктов распада белков, жиров и углеводов.

2. ЦТК служит источником строительных блоков для процессов биосинтеза (гем, аминокислоты, глюкоза и т. д.).

3. Большинство топливных молекул вступают в цикл в виде ацетил-КоА.

4. В ходе реакций цикла дважды происходит декарбоксилирование с образованием конечного продукта CO_2 .

5. В результате четырех дегидрогеназных реакций восстанавливаются три молекулы НАД⁺ и одна молекула ФАД. Эти восстановленные переносчики окисляются затем в цепи переноса электронов внутренней мембраны митохондрий.

6. ЦТК функционирует только в аэробных условиях, поскольку регенерация восстановленных коферментов происходит только при переносе электронов на O_2 .

7. Перенос электронов на кислород сопряжен с одновременным образованием АТФ (окислительное фосфорилирование). Скорость цикла зависит, в первую очередь, от энергетического заряда клетки.

Задание 1. У экспериментальных животных исследовали влияние витаминов на скорость ЦТК. При отсутствии какого витамина скорость реакций ЦТК не нарушалась?

- А. Цианокобаламин. Б. Тиамин. Д. Рибофлавин.
В. Пантотеновая кислота. Г. Никотинамид.

Задание 2. В ходе реакций цикла Кребса происходит восстановление коферментов четырех дегидрогеназ. Укажите субстраты ЦТК, причастные к появлению атомов водорода в составе соответствующих коферментов:

- А. Цитрат. В. Фумарат. Д. Акониат. Ж. Сукцинат.
Б. α -Кетоглутарат. Г. Малат. Е. Изоцитрат.

Задание 3. Подберите ферменты к соответствующим реакциям:

1. Оксалоацетат + Ацетил-КоА + H_2O → цитрат + КоА-SH.
2. Изоцитрат + НАД⁺ → α -Кетоглутарат + НАДН \cdot Н⁺ + CO_2 .
3. Сукцинил-КоА + ГДФ + H_3PO_4 ↔ Сукцинат + ГТФ + КоА-SH.
4. Фумарат + H_2O ↔ малат.

А. Фумаратгидратаза.
В. Сукцинил-КоА-синтетаза.

Б. Цитратсинтаза.
Г. Изоцитратдегидрогеназа.

Задание 4. К каждому ферменту подберите соответствующий кофермент:

1. Сукцинатдегидрогеназа.
2. НАДН·Н⁺-дегидрогеназа.
3. Малатдегидрогеназа.
4. α-Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс ферментов.

А. ФМН.
Б. ФАД.
В. НАД⁺.
Г. ТПФ.
Д. КоА-SH.
Е. Липоевая кислота.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. В цикле лимонной кислоты для расщепления ацетил-КоА используются следующие ферменты:

1) цитратсинтаза;
2) аконитатгидратаза;
3) изоцитратдегидрогеназа;
4) α-кетоглутаратдегидрогеназный комплекс;
5) сукцинил-КоА-синтетаза;
6) сукцинатдегидрогеназа;
7) фумаратгидратаза;
8) малатдегидрогеназа.

1.1. Напишите химическую реакцию (схема), катализируемую каждым из этих ферментов.

1.2. Какой кофермент или коферменты необходимы для работы третьего, четвертого, шестого и восьмого ферментов?

1.3. Для каждого из ферментов укажите, к какому из перечисленных ниже типов принадлежит катализируемая им реакция: конденсация, дегидратация, гидратация, декарбонирование, окислительно-восстановительная реакция, субстратное фосфорилирование, изомеризация.

1.4. Укажите, к какому классу относится каждый из ферментов цикла Кребса.

Задание 2. У экспериментального животного на фоне внутривенного введения глюкозы определили снижение активности ферментов ЦТК. Какие соединения являются непосредственными их ингибиторами?

А. НАДФН·Н⁺. Б. НАД⁺. В. НАДН·Н⁺. Г. АТФ. Д. АДФ.

Задание 3. Будет ли происходить накопление оксалоацетата, если к экстракту, содержащему субстраты, ферменты и коферменты ЦТК, добавить ацетил-КоА? Объясните Ваш ответ.

Задание 4. В клинику доставили пострадавших во время землетрясения, находившихся без пищи 10 дней. Исследования активности ферментов ЦТК показали резкое снижение скорости этого процесса. Какие последствия это имеет для организма?

А. Обезвоживание.
В. Снижение уровня глюкозы в крови. Б. Снижение уровня АТФ.
Г. Образование большого количества эндогенной воды.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1–Б,Д. 2.1 –А. 2.2 – Г. 2.3 – Д. 2.4 – Б. 2.5– В. 3.1– дегидрогеназа, оксидоредуктаза; 3.2– декарбоксилаза, лиаза; 3.3– дегидратаза, лиаза.

Для самостоятельной работы:

1– А. 2– Б, Г, Е, Ж. 3 – 1 Б; 2 Г; 3 В; 4 А. 4 – 1 Б; 2 А; 3 В; 4 Б, В, Г, Д, Е.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Изучение функционирования ЦТК по убыли ацетил-КоА*

Принцип метода. Первый этап ЦТК — реакция конденсации ацетил-КоА с оксалоацетатом, которая осуществляется цитратсинтазой. Образовавшаяся лимонная кислота подвергается превращению в цикле трикарбоновых кислот, а освободившийся КоА-SH можно определить, используя реактив Фолина (появляется синее окрашивание). Если заблокировать ЦТК малоновой кислотой, то ацетил-КоА не используется и КоА-SH не образуется. Для работы используем готовый гомогенат печени.

Ход работы. В контрольную и опытную пробирки вносят реактивы согласно схеме:

Содержимое пробирок	Контроль (мл)	Опыт (мл)
Фосфатный буфер pH=7,4	2,0	2,0
Р-р ацетил-КоА	0,5	0,5
Р-р оксалоацетата	0,5	0,5
Р-р малоновой кислоты	1,0	—
Физиологический р-р	—	1,0
Гомогенат печени	0,5	0,5
Инкубация 10 мин при комнатной температуре		
Реактив Фолина А	0,5	0,5
Реактив Фолина Б	0,5	0,5

Результат (окраска растворов):

Вывод:

Работа 2. *Изучение функционирования ЦТК по образованию углекислого газа*

Принцип метода. При окислении ацетил-КоА в ЦТК образуется углекислый газ, который связывается гидроксидом кальция и определяется при добавлении серной кислоты по выделению пузырьков газа.

Ход работы. В контрольную и опытную пробирки вносят реактивы согласно схеме:

Содержимое пробирок	Контроль (мл)	Опыт (мл)
Фосфатный буфер pH=7,4	2,0	2,0
Р-р ацетил-КоА	0,5	0,5
Р-р оксалоацетата	0,5	0,5
Р-р малоновой кислоты	1,0	—
Инкубационный р-р	—	1,0
Р-р Ca(OH) ₂	1,0	1,0
Гомогенат печени	0,5	0,5
Инкубация 10 мин при комнатной температуре		
0,1 н р-р серной кислоты	1,0	1,0

Результат (выделение углекислого газа):

Вывод:

Работа 3. *Изучение функционирования ЦТК по образованию атомов водорода*

Принцип метода. При окислении ацетил-КоА в ЦТК образуется 8 атомов водорода, которые отщепляются от субстратов при участии соответствующих дегидрогеназ. В качестве

акцептора водорода в данном методе используется 2,6-дихлорфенолиндофенол (2,6-ДХФИ). Если цикл функционирует, то 2,6-ДХФИ восстанавливается и обесцвечивается.

Ход работы. В контрольную и опытную пробирки вносят реактивы согласно схеме:

Содержимое пробирок	Контроль (мл)	Опыт (мл)
Фосфатный буфер рН=7,4	2,0	2,0
Р-р ацетил-КоА	–	0,5
Р-р ЩУК	–	0,5
Дистиллированная вода	1,0	–
Гомогенат печени	1,0	1,0
0,001 н р-р ДХФИ	1,0	1,0
Инкубация 15–20 мин при комнатной температуре		

Результат (окраска растворов):

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 5.БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ. ПУТИ УТИЛИЗАЦИИ КИСЛОРОДА КЛЕТКАМИ

Актуальность темы

Знание процесса окисления водорода в митохондриях с образованием эндогенной воды, которое протекает с выделением значительного количества энергии, запасаемой в макроэргических связях АТФ, необходимо для понимания основного пути утилизации кислорода в клетке в норме и патологии. Гипоэнергетические состояния, возникающие в результате нарушения работы дыхательной цепи, нарушения сопряжения дыхания и фосфорилирования, недостаточного поступления субстратов окисления, лежат в основе развития многих патологических состояний. Лечение последних требует четкого представления об окислительном фосфорилировании, о способах его регуляции, энергетической ценности субстратов, поставляющих атомы водорода в дыхательную цепь. Некоторые из них (субстраты цикла Кребса — цитрат, сукцинат) используются для коррекции метаболических нарушений. Оксигеназный путь утилизации кислорода имеет важное значение в процессах обезвреживания в организме ксенобиотиков и токсичных метаболитов.

Цель занятия

Получить представление о путях утилизации кислорода клетками; о локализации, строении и функционировании компонентов дыхательной цепи и цепи митохондриального окисления, об окислительном фосфорилировании. Усвоить, что сопряжение дыхания и фосфорилирования служит основой нормального энергообеспечения клетки. Понять значение митохондриального окисления для жизнедеятельности клетки. Научиться применять эти знания при последующем изучении клеточного метаболизма.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии:*
 - понятия «окисление» («окислитель»), «восстановление» («восстановитель»), «окислительно-восстановительные реакции», «редокс-потенциал», «макроэргическая связь», «макроэрги»;

- *биоорганической химии:*
 - строение АТФ, ее роль как универсального макроэрга; барбитуровая кислота и ее производные;
- *цитологии:*
 - строение митохондриальной мембраны;
- *биохимии:*
 - класс оксидоредуктазы, пиридин- и флавиновзависимые дегидрогеназы, строение и функционирование НАД⁺, ФМН, ФАД; водорододонорная функция цикла Кребса; субстраты ЦТК, поставляющие водород в дыхательную цепь.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Какие из приведенных утверждений не характеризуют АТФ?

- А. Пуриновый нуклеотид.
- Б. Универсальный макроэрг в клетках.
- В. Имеет две гуанидинфосфатные связи.
- Г. Имеет две фосфоангидридные связи.
- Д. Является формой запасаения, хранения и передачи энергии в клетках.

Задание 2. Какие из нижеперечисленных субстратов ЦТК не являются донорами водорода для дыхательной цепи?

- А. Сукцинат.
- В. Изоцитрат.
- Д. Оксалоацетат.
- Б. Цитрат.
- Г. Фумарат.
- Е. Сукцинил-КоА.

Задание 3. Напишите формулу АТФ, обозначив макроэргические связи.

Задание 4. В цикле Кребса протекают четыре дегидрогеназные реакции:

- А. Изоцитрат → α-Кетоглутарат.
- В. Сукцинат → Фумарат.
- Б. α-Кетоглутарат → Сукцинил-КоА.
- Г. Малат → Оксалоацетат.

4.1. Укажите соответствующий каждой реакции фермент.

4.2. Укажите соответствующий(е) каждой дегидрогеназе кофермент(ы).

4.3. Отнесите каждую дегидрогеназу к разряду либо пиридиновых, либо флавиновых дегидрогеназ.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Тканевое дыхание — процесс окисления водорода субстратов в дыхательной цепи с образованием эндогенной воды в клетках. Отличия образования воды в процессе тканевого дыхания от такого же процесса *in vitro*.
2. Строение компонентов дыхательной цепи, комплексы ферментов, коферменты, механизм функционирования.
3. Схема дыхательной цепи, пункты фосфорилирования, механизм формирования электрохимического потенциала.

4. Механизмы митохондриального синтеза АТФ. H^+ -АТФ-синтаза. Сопряжение процессов дыхания и фосфорилирования. Хемииосмотическая теория Митчелла. Коэффициент фосфорилирования (P/O) для различных субстратов, поставляющих водород в дыхательную цепь.

5. Регуляция работы дыхательной цепи и H^+ -АТФ-синтазы.

6. Причины развития гипонергетических состояний. Ингибиторы переноса электронов и окислительного фосфорилирования. Понятие о разобщителях. Как изменится поглощение кислорода митохондриями при действии ингибиторов и разобщителей?

7. Пути утилизации кислорода. Микросомное окисление, схема микросомной цепи, роль в клетке.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бинوم, Минск : Асар. 2008. С. 134–154.
2. Конспект лекций.
3. Биологическая химия / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С.43–48, 55–56.

Дополнительная

4. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993. Т. 1. С. 111–139.

Задания для самостоятельной работы

Для усвоения темы необходимо уяснить следующее:

1. Окисление водорода в цепи тканевого дыхания является основным источником энергии для реакции синтеза АТФ.

2. Процесс образования воды в организме и вне его совершается с выделением 210–230 кДж/моль энергии.

3. В организме синтез H_2O происходит при участии дыхательной цепи.

4. Часть энергии этого процесса ($\approx 40\%$) используется для реакции синтеза АТФ.

5. Реакция окисления водорода в составе субстратов дыхательной цепи в клетках организма сопряжена с процессом окислительного фосфорилирования (синтез АТФ из АДФ и H_3PO_4).

6. Коэффициент фосфорилирования (P/O) — это число молей АТФ, образованных в расчете на один атом кислорода, использованный в процессе тканевого дыхания.

7. Оксигеназный путь утилизации кислорода осуществляется в мембранах эндоплазматического ретикулума и способствует включению кислорода в субстрат. Таким способом происходит обезвреживание многих токсичных веществ (микросомное окисление).

Задание 1. Напишите схему дыхательной цепи для субстратов пиридинзависимых дегидрогеназ (малат, α -кетоглутарат, изоцитрат). Укажите коэффициент фосфорилирования.

Задание 2. Напишите схему дыхательной цепи для субстратов, дегидрируемых с участием ФАД. Укажите коэффициент фосфорилирования. Сколько АТФ будет синтезировано при окислении 5 моль сукцината?

Задание 3. Какое (какие) из приведенных утверждений верно? Последовательность расположения компонентов дыхательной цепи определяется:

А. Химической структурой переносчика электронов.

Б. Величиной редокс-потенциала (E_0').

В. Величиной протонного электрохимического потенциала ($\Delta\mu H^+$).

Г. Является произвольной.

Задание 4. Подберите к каждому комплексу дыхательной цепи соответствующий небелковый компонент:

- | | |
|--|--------------------------|
| 1. НАДН·Н ⁺ : убухинон оксидоредуктаза. | А. ФАД. |
| 2. Убухинол : цитохром с оксидоредуктаза. | Б. Гем. |
| 3. Сукцинатдегидрогеназа. | В. ФМН. |
| 4. Цитохромоксидаза. | Г. НАД ⁺ . |
| | Д. Гем, Cu ²⁺ |

Задание 5. Подберите к этим же ферментативным комплексам (см. задание 4) соответствующие ингибиторы:

- | | | |
|----------------------|----------------------------------|-----------------|
| А. Цианиды. | Г. Азид натрия. | Ж. Антимидин А. |
| Б. СО. | Д. Амита (барбитуровая кислота). | З. Малонат. |
| В. Н ₂ S. | Е. Ротенон. | |

Задание 6. Выберите компоненты монооксигеназных цепей, участвующих в микросомном окислении:

- | | | |
|---------------------------|----------------|--------------------------------|
| А. НАДФН·Н ⁺ . | В. Изоцитрат. | Д. Цитохром Р ₄₅₀ . |
| Б. Аскорбиновая кислота. | Г. Цитохром b. | Е. Цитохром с. |

Задание 7. Подберите к каждому из путей утилизации кислорода соответствующие характеристики:

- | | |
|--|---|
| 1. Оксидазный путь утилизации кислорода. | А. Не дает клетке энергию в виде АТФ. |
| 2. Оксигеназный путь утилизации кислорода. | Б. Способствует включению кислорода в субстрат. |
| | В. Сопровождается образованием эндогенной воды. |
| | Г. Сопровождается синтезом АТФ. |
| | Д. Осуществляется в митохондриях. |
| | Е. Идет в мембранах эндоплазматического ретикулума. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Какое (какие) из приведенных утверждений неверно согласно хемиосмотической теории Митчелла?

А. В процессе функционирования дыхательной цепи происходит перенос Н⁺ через внутреннюю мембрану в матрикс митохондрий.

Б. Энергия, выделяющаяся при транспорте электронов I, III, IV комплексами дыхательной цепи, используется на перекачивание протонов из матрикса в межмембранное пространство.

В. В процессе тканевого дыхания на внутренней мембране митохондрий формируется протонный электрохимический потенциал.

Г. Энергия электрохимического потенциала на внутренней митохондриальной мембране используется для работы V комплекса дыхательной цепи.

Д. Обратный ток протонов из межмембранного пространства в матрикс по протонным каналам Н⁺-АТФ-синтазы сопровождается синтезом АТФ.

Задание 2. Какие из следующих утверждений характеризуют Н⁺-АТФ-синтазу?

А. V-ферментный комплекс на внутренней мембране митохондрий.

Б. Ингибируется олигомицином.

В. Имеет протонные каналы.

Г. Может проявлять АТФ-азную активность.

Д. Переходит в рабочее состояние под влиянием движущихся через нее протонов.

Е. Ингибируется атрактилозидом.

Задание 3. Процесс тканевого дыхания стимулируется при добавлении к суспензии митохондрий:

- | | | | |
|---------|---------|---------|------------------|
| А. АТФ. | Б. АДФ. | В. KCN. | Г. Барбитуратов. |
|---------|---------|---------|------------------|

Задание 4. Причинами гипоэнергетических состояний (нарушение синтеза АТФ) в митохондриях могут быть:

- А. Недостаток субстратов тканевого дыхания.
- Б. Недостаток кислорода.
- В. Избыток витаминов РР и В₂.
- Г. Добавление к изолированным дышащим митохондриям олигомицина.
- Д. Низкая концентрация АДФ в матриксе митохондрии.

Задание 5. В клинику поступила пациентка с отравлением снотворными препаратами — производными барбитуровой кислоты. Какое соединение нужно ввести больной для восстановления тканевого дыхания на период выведения снотворного препарата из организма?

- А. Изоцитрат.
- Б. Ацетил-КоА.
- В. Малат.
- Д. Сукцинат.

Задание 6. Студенты в лабораторной работе *in vitro* исследовали действие малоната на ряд ферментов цикла Кребса. Накопление какого метаболита они обнаружили?

- А. Малат.
- Б. Изоцитрат.
- В. Сукцинат.
- Г. Сукцинил-КоА.
- Д. α -Кетоглутарат.

Задание 7. С целью похудения женщина принимала 2,4 динитрофенол. Какие эффекты вызывают такие препараты?

- А. Разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.
- Б. Улучшение сопряжения дыхания и фосфорилирования.
- В. Улучшение энергообеспечения тканей.
- Г. Гипоэнергетическое состояние.
- Д. Увеличение скорости работы дыхательной цепи.
- Е. Снижение температуры тела.
- Ж. Гипертермия.

Задание 8. Сколько моль АТФ может синтезироваться при окислении 1 моль субстрата в указанных процессах?

- | | |
|---|--------------|
| 1. Ацетил-КоА \rightarrow CO ₂ + H ₂ O. | А. 4 моль. |
| 2. Сукцинат \rightarrow ЩУК. | Б. 10 моль. |
| 3. α -Кетоглутарат \rightarrow ЩУК. | В. 7,5 моль. |
| 4. Изоцитрат \rightarrow Сукцинат. | Г. 6 моль. |
| 5. Сукцинат \rightarrow CO ₂ , H ₂ O. | Д. 24 моль. |

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – В. 2 – Б, Г, Д, Е.

4.1 – (А – изоцитрат ДГ; Б – α -кетоглутарат ДГ; В – сукцинат ДГ; Г – малат ДГ).

4.2 – (А – НАД⁺; Б – НАД⁺, ФАД, ТПФ, КоА, липоевая кислота; В. – ФАД; Г – НАД⁺).

4.3 – (А, Б, Г — пиридиновые ДГ; В — флавиновая ДГ).

Для самостоятельной работы:

1 – P/O = 2,5. 2 – P/O = 1,5, синтезируется 7,5 АТФ. 3 – Б. 4 – 1В; 2 Б; 3 А; 4 Д.

5 – 1Д, Е; 2 Ж; 3 З; 4 А, Б, В, Г. 6 – А, Б, Г, Д. 7 – 1 В, Г, Д; 2 А, Б, Е.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. **Изучение реакций окислительного фосфорилирования**

Принцип метода. При окислении различных субстратов в дыхательной цепи высвобождается энергия, часть которой используется на реакцию окислительного фосфорилирования. Степень последнего (энергетическая ценность субстратов) определяется по убыли неорганического фосфата (коэффициент P/O = 1,5–2,5). Используя различные субстраты (яблоч-

ная, янтарная, аскорбиновая кислоты), оцениваем эффективность окислительного фосфорилирования. Содержание фосфорной кислоты определяем в реакции с молибдатом аммония и редуцирующим раствором аскорбиновой кислоты по интенсивности окраски образующейся молибденовой сини.

Ход работы. В четыре пробирки вносят реактивы согласно схеме:

Содержимое пробирок	Контрольная проба (мл)	Опытные пробы (мл)		
		1	2	3
Инкубационная смесь	1,0	1,0	1,0	1,0
Физиологический раствор	0,5	—	—	—
Раствор яблочной кислоты	—	0,5	—	—
Раствор янтарной кислоты	—	—	0,5	—
Раствор аскорбиновой кислоты + цитохром с	—	—	—	0,5
Суспензия митохондрий	0,5	0,5	0,5	0,5
Инкубация 10 минут при комнатной температуре, затем добавляют:				
Раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ)	1,0	1,0	1,0	1,0
Раствор молибдата аммония	0,5	0,5	0,5	0,5
Редуцирующий раствор Фиске и Субарроу	0,5	0,5	0,5	0,5
Содержимое всех пробирок разбавить водой в 8 раз				

Инкубация 10 минут.

Результаты (интенсивность окраски по четырехбальной шкале):

Вывод:

Работа 2. Изучение влияния 2,4-динитрофенола (2,4-ДНФ) на окислительное фосфорилирование

Принцип метода. 2,4-ДНФ — разобщитель фосфорилирования, сопряженного с окислением. Об эффективности окислительного фосфорилирования судят по убыли в инкубационной среде неорганического фосфата, который определяется, как описано в работе № 1.

Ход работы. В пробирки вносят реактивы согласно схеме:

Содержимое пробирок	Контроль (мл)	Опыт (мл)
Раствор яблочной кислоты	0,5	0,5
Раствор 2,4-ДНФ	—	0,5
Физиологический раствор	0,5	—
Суспензия митохондрий	0,5	0,5
Инкубация 10 минут при комнатной температуре		
Раствор ТХУ	1,0	1,0
Раствор молибдата аммония	0,5	0,5
Редуцирующий раствор	1,0	1,0

Результаты (интенсивность окраски):

Вывод:

Работа 3. *Открытие альдегиддегидрогеназы в молоке*

Фермент вырабатывается микроорганизмами, попадающими в молоко извне. По химической природе он относится к флавопротеинам, способным окислять альдегиды, в частности, формальдегид. При добавлении к некипяченому молоку формальдегида и метиленовой сини альдегиддегидрогеназа окисляет формальдегид в муравьиную кислоту, а освобождающиеся при этом протоны и электроны переносятся на метиленовую синь, восстанавливая ее в бесцветное соединение.

Ход работы. В одну пробирку вносят 15 капель кипяченого молока, в другую — 15 капель некипяченого. В каждую пробирку вносят по капле 0,4% раствора формальдегида и по капле 0,01% раствора метиленовой сини. Пробирки встряхивают и закрывают пробками, чтобы создать относительно анаэробные условия.

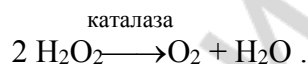
Пробирки помещают в термостат при 37°C и отмечают через 5 мин постепенное обесцвечивание метиленовой сини.

Результат:

Вывод:

Работа 4. *Обнаружение каталазы крови*

В процессе тканевого дыхания образуется не только вода, но и токсичная для клеток перекись водорода. Разложение перекиси водорода катализируется гемсодержащим ферментом — каталазой:



Ход работы. В пробирку вносят 10–15 капель 3% H_2O_2 и 1 каплю крови. Отмечают выделение пузырьков кислорода.

Результат:

Вывод:

Работа 5. *Открытие пероксидазы*

Как и каталаза, пероксидаза — гемсодержащий фермент. Пероксидаза катализирует окисление некоторых веществ (фенолы, ароматические амины) в присутствии перекиси водорода. В организме млекопитающих пероксидазной активностью обладают гемоглобин, миоглобин и цитохромы. Об активности пероксидазы можно судить по изменению окраски гваяковой смолы в присутствии перекиси водорода.

Ход работы. В две пробирки наливают по 5 капель 1% раствора гваяковой смолы или 1% раствора бензидина в ледяной уксусной кислоте и по 5 капель 3% раствора H_2O_2 . В первую пробирку добавляют 1 каплю крови, во вторую — 1 каплю H_2O . Наблюдают за изменением окраски.

Результат:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 6. КОЛЛОКВИУМ ПО ТЕМАМ: «ФЕРМЕНТЫ», «ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ», «БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ»

Вопросы для подготовки к коллоквиуму

1. Ферменты, классификация. Уметь назвать класс фермента и порядковый номер класса на основании приведенной реакции.

2. Свойства ферментов. Термолабильность, специфичность, влияние pH и концентрации субстрата на активность фермента. Понятие о кинетике ферментативных реакций и константе Михаэлиса.

3. Активный центр и его строение.

4. Коферменты, классификация.

5. Механизмы регуляции активности ферментов, обратимая и необратимая регуляция, изостерическая и аллостерическая регуляция, ковалентная модификация структуры фермента.

6. Механизмы регуляции количества фермента в клетке (схемы Жакоба–Моно; Георгиева).

7. Изоферменты, примеры, биологическая роль.

8. Примеры использования ферментов и их регуляторов в медицинской практике (в том числе и в стоматологии).

9. Метаболизм. Понятие о катаболизме (привести примеры) и об анаболизме (привести примеры), различия и уровни взаимосвязи между ними. Виды метаболических путей. Понятие о линейных и циклических путях метаболизма (привести примеры), о ключевых (регуляторных) ферментах, центральных метаболических путях.

10. Адениловая система, ее компоненты, роль в клетке. Способы синтеза АТФ в клетке и способы ее гидролиза. Перечислить реакции и процессы, сопряженные с гидролизом АТФ. Их роль для клеток и организмов.

11. Цикл трикарбоновых кислот. Почему цикл Кребса является центральным метаболическим путем? Показать на схеме. Функции ЦТК. Что такое анаэробные реакции (пример такой реакции)? Написать схему ЦТК, назвать витамины, участвующие в этом процессе. Какие реакции цикла Кребса связаны с комплексами дыхательной цепи? Сколько моль АТФ можно при этом получить? Показать это на схеме ферментов тканевого дыхания. Рассчитать энергетический баланс окисления ацетил-КоА. Катаболическая функция цикла Кребса. Уметь рассчитать и показать на схеме, сколько АТФ синтезируется в митохондриях при окислении различных субстратов (аминокислоты) до конечных продуктов:

а) тир \longrightarrow фумарат \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

б) про \longrightarrow α -кетоглутарат \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

в) асп \longrightarrow оксалоацетат \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

г) арг \longrightarrow α -кетоглутарат \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

д) мет \longrightarrow сукцинил-КоА \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

е) фен \longrightarrow ацетил-КоА \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

ж) вал \longrightarrow сукцинил-КоА \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

з) гис \longrightarrow α -кетоглутарат \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$;

и) иле \longrightarrow сукцинил-КоА \longrightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

12. Виды биологического окисления. Витамины РР и В₂ как участники окислительно-восстановительных реакций. Нарисовать блок-схемы НАД⁺, НАДФ⁺, ФМН и ФАД. Оксигенный путь утилизации кислорода в клетках. Ферменты. Окисление в микросомах. Схема микросомной цепи. Сравнить оксидазный и оксигенный пути утилизации кислорода. Роль этих процессов в клетке.

13. Тканевое дыхание. Схема ферментов тканевого дыхания. Комплексы дыхательной цепи. Указать на схеме участки с энергией, достаточной для образования АТФ. На основании

какого измеряемого показателя можно определить количество энергии, выделяемой в реакции переноса электронов? Регуляция активности ферментов дыхательной цепи, роль АДФ, АТФ. Уметь изобразить схему ферментов тканевого дыхания для НАД⁺-зависимых и ФАД-зависимых субстратов. Уметь включать субстраты цикла Кребса (изоцитрат, α -кетоглутарат, малат, сукцинат) в дыхательную цепь. Знать, чему равен коэффициент фосфорилирования (Р/О) для каждого из этих субстратов. На схеме обязательно указывать участки сопряжения транспорта электронов и фосфорилирования. Можно ли использовать для окисления субстратов в митохондриях НАДФ⁺?

14. Что такое окислительное фосфорилирование (определение, субклеточная локализация)? Основные положения теории П. Митчелла, объясняющие механизм окислительного фосфорилирования. Как изменяется процесс окислительного фосфорилирования при недостатке кислорода в клетках (объяснить механизм)? Сравнить механизмы окислительного и субстратного фосфорилирования. Какой из них преобладает в митохондриях?

15. Гипоэнергетические состояния. Ингибиторы переноса электронов по дыхательной цепи. Указать на схеме ферментов дыхательной цепи место действия а) производных барбитуровой кислоты; б) малоновой кислоты; в) цианидов, угарного газа; г) ротенона; д) антимицина А? Разобшители – примеры, механизм действия. Как изменится поглощение кислорода митохондриями при действии ингибиторов и разобшителей?

ЗАНЯТИЕ 7. ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ. МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА. ГЛИКОЛИЗ И СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ

Актуальность темы

В практике врача встречаются заболевания, сопровождающиеся нарушением переваривания и всасывания углеводов пищи. Диагностика этих состояний и правильный подход к лечению основаны на знаниях, полученных на этом занятии. Состояние гипоксии часто встречается при заболеваниях внутренних органов. Перестройки внутриклеточного обмена при таких состояниях затрагивают и процесс гликолиза. Разные органы обладают неодинаковой способностью адаптироваться к гипоксии, что и лежит в основе направленного врачебного вмешательства. Знакомство с процессом гликолиза дает представление о возможностях энергетического обеспечения клеток в анаэробных условиях.

Цель занятия

Закрепить знания о структуре углеводов животных тканей и растительных углеводов пищи. Сформировать представление об особенностях переваривания углеводов, транспорта глюкозы в клетки, о молекулярных механизмах депонирования и мобилизации гликогена, физиологическом значении и регуляции этих процессов. Усвоить анаэробные процессы окисления глюкозы и их значение.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биоорганической химии*:
 - общее представление об углеводах;
 - химическое строение и свойства моносахаридов (глюкоза, галактоза, фруктоза);
 - строение олигосахаридов (мальтоза, лактоза, сахароза);
 - строение гомополисахаридов (крахмал, гликоген, декстраны, целлюлоза);
 - гидролиз полисахаридов *in vitro*;
 - альдольная конденсация;
- *биохимии*:
 - классификация ферментов, механизм действия, регуляция активности;
 - механизмы образования АТФ в клетках.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Какие моносахариды входят в состав следующих соединений:

1. Глюкоза + глюкоза. А. Лактоза.
2. Глюкоза + фруктоза. Б. Мальтоза.
3. Галактоза + глюкоза. В. Сахароза.
Г. Рафиноза.

Задание 2. Какие из перечисленных ниже углеводов имеют свободный полуацетальный гидроксил и будут обладать восстанавливающими свойствами?

- А. Сахароза. Б. Мальтоза. В. Крахмал. Г. Лактоза.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Переваривание углеводов, продукты. Биологическая роль пищевых волокон.
2. Всасывание продуктов переваривания углеводов, молекулярные механизмы. Судьба всосавшихся моносахаридов. Транспорт глюкозы в клетки.
3. Синтез гликогена, назначение, последовательность реакций, энергозатраты и регуляция.
4. Распад (фосфоролиз, гидролиз) гликогена в печени и мышцах, последовательность реакций, регуляция.
5. Гликолиз, биологическая роль, субклеточная локализация, этапы (неокислительный, гликолитической оксидоредукции), реакции, ферменты, энергетический выход и механизм образования АТФ. Регуляция гликолиза, ключевые ферменты.
6. Спиртовое брожение. Реакции, общие с гликолизом. Различие гликолиза и спиртового брожения, регуляция.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

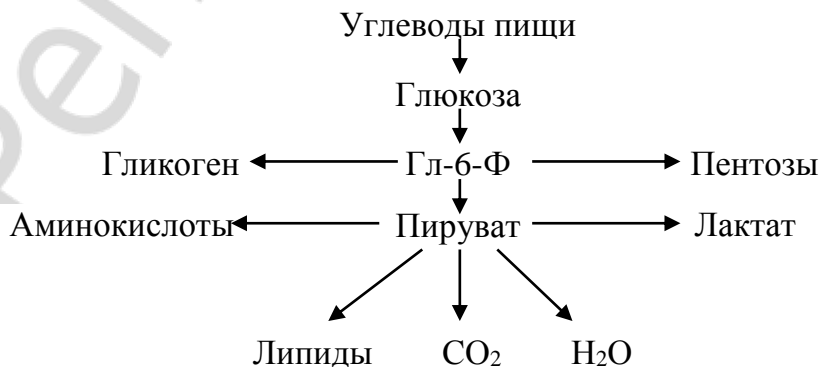
1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бинوم, Минск : Асар, 2008. С. 155–171.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 58–69.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Найдите основные этапы переваривания углеводов в пищеварительном тракте. Усвойте, что в процессе переваривания углеводов происходит ферментативный гидролиз гликозидных связей. Запомните названия ферментов, принимающих участие в переваривании, и их локализацию.

Задание 2. Вспомните способы всасывания моносахаридов из кишечника в кровь. Знайте, что первое химическое превращение глюкозы в клетках — ее фосфорилирование, катализируемое гексокиназой (глюкокиназой). Умейте написать эту реакцию.

2.1. Рассмотрите схему превращения глюкозо-6-фосфата в клетке.



Задание 3. Запомните:

- а) из каких мономеров построен гликоген;
- б) какие связи соединяют мономеры в молекуле гликогена;
- в) в каких органах преимущественно откладывается гликоген.

3.1. Выучите реакции синтеза и распада гликогена. Умейте писать их в виде схемы, запомните ферменты. Запомните необратимые стадии процессов и реакции, связанные с потреблением энергии.

3.2. Запомните ключевые реакции синтеза и распада гликогена.

3.3. Объясните молекулярные механизмы перехода фосфоорилазы и гликогенсинтазы из неактивного состояния в активное.

Задание 4. Усвойте, что гликолиз — серия реакций, в результате которых глюкоза распадается на две молекулы пирувата (в аэробных условиях) или две молекулы лактата (в анаэробных условиях). Умейте писать эти реакции.

4.1. Обратите внимание на следующее:

– в гликолизе можно выделить два этапа:

а) неокислительный: активирование глюкозы и распад глюкозо-6-фосфата на две молекулы глицеральдегид-3-фосфата;

б) гликолитическая оксидоредукция: окисление глицеральдегид-3-фосфата до пируватной кислоты (в аэробных условиях) или лактата (в анаэробных условиях);

– все реакции этапа гликолитической оксидоредукции повторяются дважды;

– большинство реакций гликолиза, за исключением трех, обратимы;

– все промежуточные продукты находятся в фосфорилированном состоянии;

– источником фосфата при гликолизе является АТФ;

– образование АТФ при гликолизе идет путем субстратного фосфорилирования.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Основными углеводами пищи являются гомополисахариды (крахмал, гликоген). Что является конечным продуктом их ферментативного гидролиза в пищеварительном тракте?

А. Лактат.

В. Лактулоза.

Д. Фруктоза.

Б. Лактоза.

Г. Галактоза.

Е. Глюкоза.

Задание 2. Глюкозо-6-фосфат — основная активная форма глюкозы. Какие ферменты участвуют в ее образовании?

А. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.

Г. УДФ-глюкозопирофосфоорилаза.

Б. Гексокиназа.

Д. Фосфоглюкомутаза.

В. Глюкозо-6-фосфатаза.

Е. Глюкокиназа.

Задание 3. Часть поступившей в организм глюкозы откладывается в виде гликогена. Какой фермент участвует в его синтезе?

А. Глюкозо-6-фосфатаза.

В. Гликогенсинтаза.

Д. Фосфофруктокиназа.

Б. Гликогенфосфоорилаза.

Г. α -Декстриназа.

Е. Пируваткиназа.

Задание 4. Фосфоорилиз гликогена в печени и мышцах даёт различные продукты. Укажите фермент, отсутствие которого в миоцитах приводит к этим различиям.

А. Гексокиназа.

Г. Глюкозо-6-фосфатаза.

Б. Глюкокиназа.

Д. УДФ-глюкозопирофосфоорилаза.

В. Фосфоглюкомутаза.

Е. Гликогенфосфоорилаза.

Задание 5. Известно, что в гликолизе имеются реакции, сопряженные с синтезом АТФ путем субстратного фосфорилирования. Укажите такие реакции:

А. Глюкоза → Глюкозо-6-фосфат.

Б. Фруктозо-6-фосфат → Фруктозо-1,6-бисфосфат.

- В. 1,3-Дифосфоглицерат → 3-Фосфоглицерат.
Г. Глицеральдегид-3-фосфат → 1,3-Бисфосфоглицерат.
Д. Фосфоенолпируват → Пируват.

Задание 6. В одной из реакций гликолиза образуется НАДН·Н⁺. Какова его судьба в анаэробных условиях?

- А. Участвует в превращении малата в оксалоацетат.
Б. Используется для восстановления оксалоацетата.
В. Является источником электронов и протонов для дыхательной цепи.
Г. Восстанавливает пируват в лактат.
Д. Используется в субстратном фосфорилировании.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний: 1 – 1 Б; 2 В; 3 А. 2 – Б, В, Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Спиртовое брожение*

Спиртовое брожение — ферментативный процесс распада глюкозы с образованием этилового спирта и углекислого газа:



Процесс гликолиза и брожение протекают одинаково до образования пировиноградной кислоты с выделением тепла и образованием двух молекул АТФ. В анаэробных условиях под действием дрожжевой декарбоксилазы (ТПФ) пировиноградная кислота декарбоксилируется и превращается в уксусный альдегид, который восстанавливается в этиловый спирт под действием алкогольдегидрогеназы.

Порядок выполнения работы

1. Пробирку на 1/3 заполняют раствором дрожжей, доливают доверху 5% раствор глюкозы и закрывают корковой пробкой со стеклянной трубкой. Такой бродильный аппарат помещают в термостат при 37°С на 30–50 минут (в зависимости от активности ферментов дрожжей). Когда в процессе брожения произойдет накопление газа в верхней части пробирки, проделывают качественные реакции на СО₂ и спирт.

2. Обнаружение СО₂. В бродильный аппарат наливают 10% раствор гидроксида натрия почти до краев пробирки и, закрыв отверстие большим пальцем, перемешивают ее содержимое. Углекислый газ поглощается щелочью, создавая вакуум, и палец присасывается к отверстию пробирки.

3. Обнаружение этилового спирта. Спирт можно открыть с помощью реакции получения йодоформа:



Для этого около 2–3 мл жидкости из бродильного аппарата отфильтровывают в пробирку, добавляют несколько капель 10% раствора йода до получения желтого окрашивания и нагревают, не доводя до кипения, в пламени спиртовки. Через некоторое время ощущается характерный запах йодоформа.

Результаты:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 8. ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА ПИРУВАТА. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ. АЭРОБНЫЙ РАСПАД ГЛЮКОЗЫ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПВК В МОЧЕ.

Актуальность темы

Понимание значения аэробного обмена глюкозы для энергообеспечения клеток позволяет понять механизмы нарушения функций отдельных органов и систем при его торможении (гипогликемическая кома, ишемия тканей и др.). Глюконеогенез имеет важное значение для поддержания нормальной концентрации глюкозы в крови в норме и при голодании. В медицинской практике некоторые участники аэробного окисления глюкозы (лимонная кислота, никотинамид, компоненты адениловой системы, кокарбоксилаза и др.) используются для коррекции метаболических нарушений, а определение уровня ПВК в моче имеет диагностическое значение при гиповитаминозе В₁ и ряде других нарушений.

Цель занятия

Сформировать представление о путях превращения ПВК в клетках в зависимости от энергетического статуса и особенностей окислительного метаболизма клеток, о глюконеогенезе как важном процессе поддержания уровня глюкозы крови. Закрепить знания о взаимосвязи аэробного гликолиза с центральными путями метаболизма.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биоорганической химии:*
 - реакции окислительного декарбоксилирования α -кетокислот;
 - реакции альдольной конденсации;
 - природные макроэргические ацилирующие реагенты;
- *биологической химии:*
 - цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса);
 - тканевое дыхание, субстраты, механизм;
 - гликолиз.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подберите к каждому ферменту соответствующий кофермент:

- | | |
|--|------------------------|
| 1. НАДН·Н ⁺ -дегидрогеназа. | А. ФАД. |
| 2. QH ₂ -дегидрогеназа. | Б. Гем. |
| 3. Цитохромоксидаза. | В. ФМН. |
| 4. Малатдегидрогеназа. | Г. Гем, Cu. |
| 5. Сукцинатдегидрогеназа. | Д. НАД ⁺ . |
| | Е. НАДФ ⁺ . |

Задание 2. Укажите, в каких реакциях гликолиза используется, а в каких синтезируется АТФ:

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. 2-ФГК ↔ ФЕПВК. | А. Используется АТФ как донор фосфатной группы. |
| 2. 3-ФГА ↔ 1,3-ДФГК. | Б. Синтезируется АТФ. |
| 3. Фр-6-ф → Фр-1,6-бисфосфат. | В. Реакция не связана с затратой или синтезом АТФ. |
| 4. ФЕПВК → ПВК. | |
| 5. Гл → Гл-6-Ф. | |
| 6. 1,3-ДФГК ↔ 3-ФГК. | |
| 7. Фр-1,6-бисфосфат ↔ 3-ФГА + ФДА. | |

Задание 3. Укажите, к какому классу относятся перечисленные ферменты:

- | | |
|-----------------------|---------------------|
| 1. Гексокиназа. | А. Оксидоредуктазы. |
| 2. Альдолаза. | Б. Лиазы. |
| 3. Фосфофруктокиназа. | В. Лигаза. |

- | | |
|---------------------------|-----------------|
| 4. Фосфоглицераткиназа. | Г. Трансферазы. |
| 5. Дегидрогеназа 3-ФГА. | Д. Гидролазы. |
| 6. Енолаза. | Е. Изомеразы. |
| 7. Пируваткиназа. | |
| 8. Триозофосфатизомераза. | |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Пируват как центральный метаболит. Пути превращения ПВК в зависимости от энергетического статуса и особенностей окислительного метаболизма клеток.
2. Восстановление пирувата в лактат (реакция, изоферменты ЛДГ, назначение реакций), цикл Кори. Утилизация лактата клетками.
3. Глюконеогенез (назначение, субстраты, ключевые реакции и ферменты, регуляция, энергозатраты).
4. Окислительное декарбоксилирование ПВК (биологическая роль, субклеточная локализация, реакции); пируватдегидрогеназный комплекс (ферменты, коферменты), регуляция активности пируватдегидрогеназы.
5. Лимоннокислый цикл (субклеточная локализация, схема реакций, энергетический выход, ферменты, регуляция, биологическая роль).
6. Аэробное окисление глюкозы до CO_2 и H_2O (этапы, сопряжение с процессом окислительного фосфорилирования, энергетический баланс). Челночные механизмы переноса цитоплазматического НАДН $\cdot\text{H}^+$ в митохондрии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 172–182.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 39–42, 70–73, 80–81 .

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Запомните, что аэробный распад глюкозы — это процесс полного окисления ее до CO_2 и H_2O . Он включает реакции аэробного гликолиза (сравнить с анаэробным) и последующее окисление пирувата в общем пути катаболизма.

1.1. Выучите реакции, катализируемые отдельными ферментами пируватдегидрогеназного комплекса.

1.2. Определите количество молей АТФ, синтезируемое за счет дегидрирования 1 моля ПВК. Для этого:

а) напишите суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования ПВК;

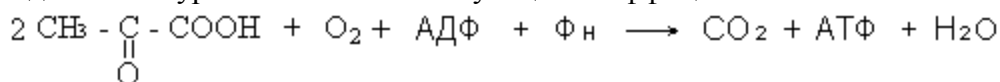
б) покажите путь от восстановленного кофермента до кислорода;

в) вспомните определение коэффициента фосфорилирования и рассчитайте его для этого процесса.

Задание 2. Вспомните последовательность реакций, составляющих цитратный цикл, название ферментов, катализирующих эти реакции, и их коферменты.

2.1. Используя схему связи общего пути катаболизма с цепью тканевого дыхания, проследите путь водорода от окисляемых субстратов к кислороду и оцените выход АТФ для отдельных реакций и общего пути катаболизма в целом.

2.2. Подставьте в уравнение соответствующие коэффициенты:



Для этого:

а) найдите на схеме связи общего пути катаболизма с цепью ферментов тканевого дыхания реакции, в которых происходит декарбоксилирование, выпишите названия метаболитов, которые декарбоксилируются;

б) найдите на схеме связи общего пути катаболизма с цепью ферментов тканевого дыхания реакции дегидрирования и выпишите названия первичных доноров водорода;

в) найдите на схеме связи общего пути катаболизма с цепью ферментов тканевого дыхания компоненты дыхательной цепи, на которые поступает водород от первичных доноров;

г) расставьте коэффициенты в уравнении.

Задание 3. Выучите:

а) реакции синтеза глюкозы из ПВК (уметь писать);

б) ферменты глюконеогенеза (обратить внимание на ключевые ферменты);

в) основные субстраты и пути их включения в глюконеогенез.

Задание 4. Образовавшийся в кардиомиоцитах лактат, наряду с диффузией в кровь, окисляется в самих клетках в аэробных условиях. Укажите этапы окисления лактата и энергетический баланс этого процесса.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. В образовании ацетил-КоА из пирувата участвует мультиферментный комплекс. Выберите коферменты, необходимые для работы этого комплекса:

А. ФМН, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺.

Б. ФМН, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺, липоевая кислота.

В. ФМН, HS-КоА, ТПФ, НАДФ⁺.

Г. ФАД, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺, липоевая кислота.

Д. ФАД, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺.

Задание 2. Укажите ферменты, катализирующие следующие реакции:

1. Оксалоацетат + Ацетил-КоА + H₂O → Цитрат + HS-КоА.

2. Изоцитрат + НАД⁺ → α-Кетоглутарат + CO₂ + НАДН·Н⁺.

3. Сукцинил-КоА + ГДФ + H₃PO₄ ↔ Сукцинат + ГТФ + HS-КоА.

4. Фумарат + H₂O ↔ Малат.

А. Фумаратгидратаза.

В. Сукцинил-КоА-синтетаза.

Б. Цитратсинтаза.

Г. Изоцитратдегидрогеназа.

Задание 3. Сколько молей АТФ может синтезироваться при окислении 1 моля субстрата в указанных реакциях?

1. Пируват → CO₂ + H₂O.

А. 2,5 моль.

2. Ацетил-КоА → CO₂ + H₂O.

Б. 4 моль.

3. Пируват → Ацетил-КоА.

В. 10 моль.

4. Сукцинат → ЦУК.

Г. 12,5 моль.

Задание 4. Укажите субстраты глюконеогенеза:

А. Глицерол. Б. Оксалоацетат. В. Гликоген. Г. Лактат. Д. Аланин. Е. Пируват.

Задание 5. Глюконеогенез — ферментативный процесс, имеющий необратимые реакции. Выберите ключевые ферменты глюконеогенеза.

- А. Фруктозо-1,6-бисфосфатаза. Г. Пируватдегидрогеназа.
Б. Пируваткарбоксилаза. Д. Глюкокиназа.
В. Глюкозо-6-фосфатаза. Е. Фосфоенолпируваткарбоксикиназа.

Задание 6. В процессе синтеза глюкозы из пирувата затрачивается энергия. Сколько молей АТФ необходимо для этого метаболического пути?

- А. 2 АТФ. Б. 4 АТФ. В. 6 АТФ. Г. 5 АТФ. Д. 7 АТФ.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – 1 В; 2 Б; 3 Г; 4 Д; 5 А. 2 – 1 В; 2 В; 3 А; 4 Б; 5 А; 6 Б; 7 В.

3 – 1 Г; 2 Б; 3 Г; 4 Г; 5 А; 6 Б; 7 Г; 8 Е.

Для самостоятельной работы:

4 – 15 АТФ.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (45 минут)

Инструкция к практическому занятию

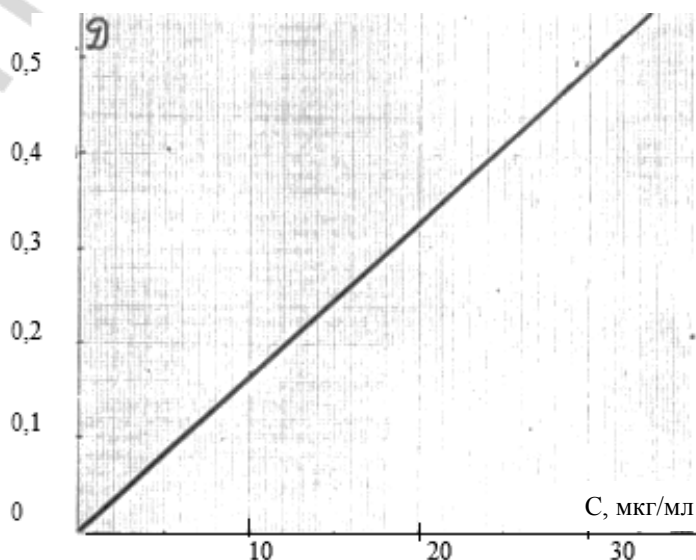
Количественное определение пировиноградной кислоты в моче

Пировиноградная кислота — один из промежуточных продуктов углеводного обмена. В анаэробных условиях (гипоксия) пировиноградная кислота восстанавливается в молочную кислоту. В аэробных условиях пировиноградная кислота под влиянием пируватдегидрогеназного комплекса (коферменты ТПФ, липоевая кислота в виде амида, КоА-SH, НАД⁺, ФАД) в результате окислительного декарбоксилирования превращается в ацетил-КоА, который в цикле Кребса окисляется до СО₂ и Н₂О. За сутки с мочой выделяется 113,7–283,9 мкмоль (10–25 мг) пировиноградной кислоты.

Принцип метода. Пировиноградная кислота, взаимодействуя с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде, образует 2,4-динитрофенилгидразоны пировиноградной кислоты желто-оранжевого цвета, интенсивность окрашивания которых пропорциональна концентрации пировиноградной кислоты.

Ход работы. Берут 2 пробирки: в контрольную наливают 1 мл Н₂О, а в опытную – 1 мл мочи. Затем в обе пробирки приливают по 0,5 мл раствора 2,4-динитрофенилгидразина и оставляют на 20 мин при комнатной температуре. После этого в каждую пробирку добавляют по 5 мл 0,4н NaOH и через 10 мин колориметрируют опытную пробу против контрольной пробы на ФЭК, используя зеленый светофильтр (500–560 нм), в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Расчет проводят по готовому калибровочному графику. Найденную величину умножают на суточный диурез (1500 мл для мужчин и 1200 мл для женщин) и получают содержание пировиноградной кислоты в суточной моче.



Калибровочный график зависимости величины оптической плотности раствора (D) от концентрации ПВК в пробе

Коэффициент пересчета в единицы СИ – 11,4.

Результат: $D =$

Расчет:

Клинико-диагностическое значение. При авитаминозе и гиповитаминозе B_1 в крови и других тканях, особенно в мозге, накапливается большое количество пировиноградной кислоты и увеличивается ее выделение с мочой. Содержание этой кислоты в крови возрастает при сахарном диабете, сердечной недостаточности, гиперфункции гипофизарно-адреналовой системы. Количество пировиноградной кислоты увеличивается после введения некоторых лекарств — камфоры, стрихнина, адреналина. При наркозе содержание этой кислоты в крови снижается.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 9. ВТОРИЧНЫЕ ПУТИ ОБМЕНА ГЛЮКОЗЫ — ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ, ГЛЮКУРОНОВЫЙ. ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ У МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА. ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ

Актуальность темы

Пентозофосфатный путь (ПФП) и глюкуроновый путь обмена глюкозы не приводят к синтезу АТФ. В ходе ПФП происходит образование НАДФН·Н⁺ для восстановительных синтезов, антиоксидантной защиты, обезвреживания веществ, фагоцитоза. ПФП обеспечивает рибозой синтез нуклеотидов и последующий синтез нуклеиновых кислот. Недостаточность ряда ферментов ПФП — причина гемолиза эритроцитов. Глюкуроновая кислота в печени используется для детоксикации продуктов метаболизма и ксенобиотиков (чужеродных веществ) путем их связывания и выведения в виде глюкуронидов. Фибробласты используют глюкуроновую кислоту для синтеза гетерополисахаридов соединительных тканей. Тот факт, что аскорбиновая кислота — незаменимый компонент пищи у человека (также у морских свинок и приматов), объясняется отсутствием одного из ферментов синтеза этого витамина из гулоновой кислоты.

Концентрация глюкозы в крови поддерживается на постоянном уровне и находится под строгим гормональным контролем. В связи с этим и патологические изменения со стороны эндокринной системы нередко сопровождаются нарушением углеводного обмена.

Химико-паразитическая теория является доминирующей современной теорией патогенеза кариеса, на которой основываются также меры по профилактике данного заболевания.

Цель занятия

Сформировать представление о значении пентозофосфатного и глюкуронового путей превращения глюкозы; усвоить роль гормональной регуляции обмена углеводов в поддержании концентрации глюкозы в крови. Оценить патогенетическую взаимосвязь углеводов пищи и кариеса.

Требования к исходному уровню знаний

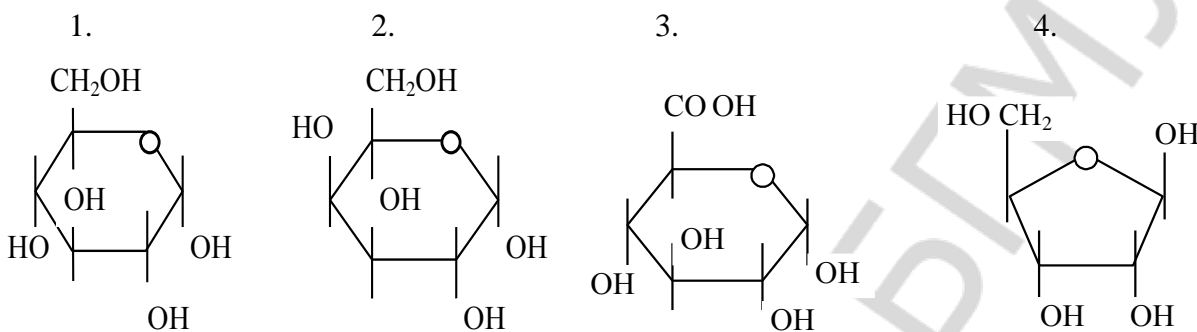
Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биоорганической химии:*

- строение и свойства рибозы, дезоксирибозы, галактозы, фруктозы, глюкуроновой кислоты;
- реакции альдольной конденсации;
- *нормальной физиологии:*
- нейрогормональные механизмы регуляции углеводного обмена.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующее задание:

Задание 1. Напишите названия сахаров под соответствующими формулами:



Правильность решения проверьте, сопоставив его с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Пентозофосфатный путь (субклеточная локализация, этапы, ключевые ферменты, метаболиты, биологическая роль).
2. Глюкуроновый путь (тканевая и субклеточная локализация, пути метаболизма глюкуроновой кислоты, биологическая роль).
3. Регуляция содержания глюкозы в крови. Механизмы регуляторного действия гормонов (инсулин, адреналин, глюкагон, глюкокортикоиды и др.).
4. Особенности обмена углеводов у микроорганизмов полости рта.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар 2008. С. 182–186, 189–192.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С.69–70, 74–78.

Дополнительная

4. *Ленинджер, А. Основы биохимии* / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985.
5. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993. Т. 1. С. 199–205, 212–224.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Рассмотрите реакции окислительного этапа ПФП. Обратите внимание на то, что в двух реакциях дегидрирования в качестве кофермента используется НАДФ⁺.

1.1. Вспомните и укажите сходство и различия в структуре и функциях НАДН·Н⁺ и НАДФН·Н⁺.

1.2. Запомните:

а) отличия неокислительного этапа ПФП от окислительного (ферменты, коферменты, обратимость реакций). Обратите внимание на значение окислительной и неокислительной части ПФП;

б) наиболее активно ПФП протекает в печени, жировой ткани, лактирующей молочной железе, коре надпочечников, половых железах, эритроцитах, макрофагах. Умейте объяснить значение ПФП для этих клеток и тканей.

1.3. Обратите внимание на то, что окислительный путь образования пентоз и путь превращения пентоз в гексозы (неокислительный) вместе составляют циклический процесс — пентозофосфатный цикл, который функционирует, по-видимому, только в жировой ткани.

Задание 2. Ознакомьтесь со схемой глюкуронового пути обмена углеводов. Отметьте для себя главные метаболиты этого пути.

2.1. Умейте объяснить роль глюкуронового пути для печени и фибробластов.

2.2. Какие из приведенных утверждений о глюкуроновом пути обмена глюкозы являются справедливыми?

А. Обеспечивает потребности гепатоцитов в УДФ-глюкуронате для реакций обезвреживания билирубина, лекарственных веществ и ксенобиотиков, связывания стероидов.

Б. В фибробластах УДФ-глюкуроновая кислота используется для синтеза протеогликанов основного вещества соединительных тканей.

В. Источник гулоновой кислоты для синтеза аскорбиновой кислоты у большинства животных.

Г. Дополнительный путь синтеза пентоз.

Д. Выполняет энергетическую функцию.

Е. Путь включения пищевого ксилита в метаболизм.

Задание 3. Заполните таблицу, обобщающую сведения о влиянии гормонов на обмен углеводов, выбирая правильные варианты ответов из приведенных ниже.

Гормональная регуляция концентрации глюкозы в крови

Название гормона	Место синтеза гормона	Ткани-мишени	Влияние на процессы обмена углеводов	Влияние на концентрацию глюкозы в крови
Инсулин				
Адреналин				
Глюкагон				
Кортизол				

Эти гормоны синтезируются:

- α -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы;
- клетками коркового слоя надпочечников;
- клетками мозгового слоя надпочечников;
- β -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы.

Ткани-мишени для этих гормонов: печень, мышечная ткань (гладкая, поперечно-полосатая), жировая ткань.

Концентрация глюкозы в крови зависит от скорости следующих процессов: синтеза гликогена, мобилизации гликогена, глюконеогенеза; поступления глюкозы из крови в клетки.

3.1. Запомните концентрацию глюкозы в плазме (сыворотке) крови в норме — 3,9–6,1 ммоль/л.

3.2. Подберите соответствующие пары гормон – механизм действия:

1. Кортизол. А. Активация аденилатциклазы → повышение уровня цАМФ в клетке → активация протеинкиназы А → фосфорилирование ферментов, участвующих в обмене глюкозы, и изменение их активности.
2. Адреналин. Б. Ускорение транспорта глюкозы через мембраны клеток-мишеней, активация фосфодиэстеразы и снижение уровня цАМФ в клетке.
3. Инсулин. В. Индукция синтеза ферментов на генетическом уровне.

Задание 4. Изучите особенности утилизации углеводов бактериями полости рта.

4.1. Напишите схему расщепления сахарозы (фруктозы, глюкозы) у бактерий. Обратите внимание на то, что конечными продуктами расщепления углеводов у бактерий являются лактат, уксусная и муравьиная кислоты.

4.2. Знайте зависимость выхода Ca^{2+} из эмали зубов от pH ротовой жидкости.

4.3. Умейте объяснить патогенетическую взаимосвязь углеводов пищи и кариеса (хи-мико-паразитическая теория кариеса).

4.4. Повторите обмен гликогена. Укажите различия в синтезе гликогена у человека и бактерий полости рта.

4.5. Знайте, что бактерии зубного налёта могут использовать сахарозу и для синтеза внеклеточных полисахаридов (декстран, леван). Поясните назначение этих полисахаридов.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

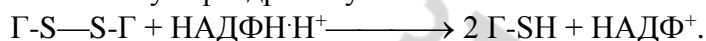
Задание 1. Выберите наиболее важные продукты ПФП:

- А. НАДФН·Н⁺. В. Рибозо-5-фосфат. Д. АТФ.
Б. Глюкозо-6-фосфат. Г. НАДН·Н⁺. Е. Фруктозо-6-фосфат.

Задание 2. Тиаминпирофосфат — необходимый кофермент для следующего фермента ПФП:

- А. Эпимераза. В. Изомераза.
Б. Трансальдолаза. Г. Транскетолаза. Д. Дегидрогеназа.

Задание 3. Применение некоторых лекарственных препаратов может вызвать гемолиз эритроцитов, снижение содержания гемоглобина в крови, желтуху (лекарственная гемолитическая анемия). Причиной является нарушение в эритроцитах реакции восстановления дисульфидной формы глутатиона в сульфгидрильную:



Восстановленный глутатион (Г-SH) — необходимый фактор для восстановления SH-групп в гемоглобине, поддержания нормальной формы эритроцитов, стабилизации клеточной мембраны и т. д. Недостаточная активность каких ферментов ПФП может быть причиной заболевания?

Задание 4. В ходе эксперимента выявлено, что промежуточные продукты ПФП являются метаболитами гликолиза и вовлекаются в него. На уровне каких метаболитов связаны ПФП и гликолиз?

- А. 6-Фосфоглюконолактон. Г. Фруктозо-6-фосфат.
Б. Рибулозо-5-фосфат. Д. Глицеральдегид-3-фосфат.
В. Фруктозо-1,6-дифосфат. Е. Глюкозо-6-фосфат.

Задание 5. Метаболиты ПФП могут быть использованы для синтеза:

- А. НАД⁺. Б. ФАД. В. УТФ.
Г. Кофермента А. Д. Жирных кислот. Е. Половых гормонов.

Задание 6. УДФ-глюкоза требуется для:

- А. Синтеза глюкозо-6-фосфата.
Б. Синтеза гликогена.
В. Распада гликогена.
Г. Образования УДФ-глюкуроната.
Д. Использования галактозы в пластических целях.

Задание 7. Уровень гликемии отражает баланс между следующими метаболическими процессами (выберите оптимальный вариант):

- А. Утилизацией глюкозы тканями и скоростью глюконеогенеза и фосфорилиза гликогена в печени.
Б. Продукцией лактата мышечной тканью и использованием его в ходе глюконеогенеза в печени.
В. Анаэробным и аэробным окислением глюкозы в тканях.
Г. Синтезом и распадом гликогена в тканях.
Д. Окислением глюкозы по пентозофосфатному пути.

Задание 8. Кофеин ингибирует 3',5'-фосфодиэстеразу, превращающую цАМФ в АМФ. Какой из перечисленных эффектов будет наблюдаться после воздействия кофеина?

- А. Снижение активности протеинкиназы А в печени.
- Б. Снижение активности протеинкиназы А в мышцах.
- В. Повышение активности пируваткиназы в печени.
- Г. Снижение активности гликогенсинтазы в печени.

Задание 9. Больной сахарным диабетом после инъекции инсулина не смог своевременно поесть. На работе его состояние резко ухудшилось. Врач скорой помощи при осмотре отмечает беспокойство больного, бледность и влажность кожных покровов, угнетение рефлексов. Уровень глюкозы в крови составляет 2,8 ммоль/л. Что следует срочно ввести этому пациенту?

- А. Адреналин.
- Б. Глюкозу.
- В. Инсулин.
- Г. Нитроглицерин.

Задание 10. Контринсулярными гормонами являются:

- А. Соматотропин.
- Б. Глюкагон.
- В. Тиреоидные гормоны.
- Г. Глюкокортикоиды.
- Д. Катехоламины.

Задание 11. Укажите значения рН ротовой жидкости, при которых происходит деминерализация зубной эмали:

- А. 7,36–7,4.
- Б. Более 7,4.
- В. Менее 6,2.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – 1. Глюкоза. 2. Галактоза. 3. Глюкуроновая кислота. 4. Рибоза.

Для самостоятельной работы:

5.1 – А, Б, В, Г, Е. 3.2 – 1 В; 2 А; 3 Б, В.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

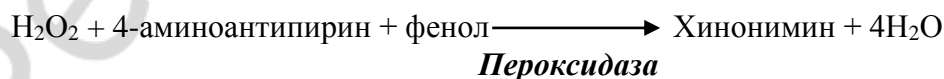
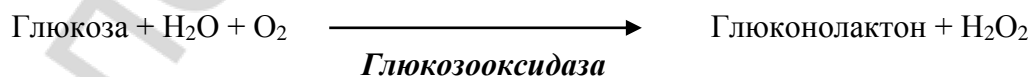
Изучение влияния гормонов на содержание глюкозы в крови

Для изучения влияния гормонов на уровень глюкозы в крови предлагаются три пробы крови (опытные). Одна из них взята до введения гормонов, другая — после введения инсулина, третья — после введения адреналина.

1. Определите содержание глюкозы в каждой из проб.
2. На основании полученных результатов сделайте вывод, какая из проб соответствует приведенным выше состояниям.

Определение концентрации глюкозы в пробах проводят глюкозооксидазным методом.

Принцип метода. Метод основан на следующих ферментативных реакциях:



Образующийся продукт имеет розовую окраску. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации глюкозы и измеряется фотометрически.

Ход работы. Белки сыворотки крови осаждают депротеинизирующим реагентом (трихлоруксусной кислотой, ТХУ). Глюкозу определяют в надосадочной жидкости после центрифугирования. Реактивы добавляют по следующей схеме:

	Опытные пробы, мл			Стандартная проба, мл
	1	2	3	
В центрифужные пробирки вносят:				
Сыворотка крови №1	0,1	—	—	—
Сыворотка крови №2	—	0,1	—	—
Сыворотка крови №3	—	—	0,1	—
Стандартный раствор глюкозы	—	—	—	0,1
Депротеинизирующий раствор (3 % ТХУ)	1,0	1,0	1,0	1,0
Перемешивают и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 минут				
В сухие пробирки вносят:				
Надосадочная жидкость	0,2	0,2	0,2	0,2
Рабочий раствор ферментов	2,0	2,0	2,0	2,0
Перемешивают и инкубируют реакционную смесь 10 мин при 37 °С или 30 мин при комнатной температуре				

По окончании инкубации измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб на ФЭК (длина волны 490–540 нм) в кюветках с толщиной слоя 5 мм против контроля.

Контрольная проба содержит 0,2 мл депротеинизирующего раствора и 2,0 мл рабочего раствора ферментов. Контрольную пробу можно готовить одну на группу.

Расчет производят по формуле:

$$C_{\text{оп.}} = E_{\text{оп.}} \times C_{\text{ст.}} / E_{\text{ст.}}$$

где $C_{\text{оп.}}$ — концентрация глюкозы в крови (ммоль/л); $C_{\text{ст.}}$ — концентрация глюкозы в стандартном растворе (5,55 ммоль/л); $E_{\text{оп.}}$ — экстинкция опытной пробы; $E_{\text{ст.}}$ — экстинкция стандартной пробы.

Результаты:

Проба	Оптическая плотность (E)	Концентрация глюкозы (ммоль/л)
1		
2		
3		
Стандарт		

Нормальные величины концентрации глюкозы в плазме и сыворотке крови — 3,9–6,1 ммоль/л, в спинномозговой жидкости — около 2,78–3,89 ммоль/л.

Клинико-диагностическое значение. Увеличение содержания глюкозы в крови (гипергликемия) наблюдается при сахарном диабете, остром панкреатите, панкреатических циррозах, эмоциональных стрессах, после эфирного наркоза, обильного приема углеводов с пищей, а также при повышении гормональной активности ряда желез (щитовидной, гипофиза, коркового и мозгового слоя надпочечников).

Снижение уровня глюкозы в крови (гипогликемия) встречается при поражении паренхимы печени, снижении активности ферментов гликогенолиза и глюконеогенеза; при недостатке приема с пищей углеводов, недостаточной функции щитовидной железы, надпочечников, гипофиза; передозировке инсулина при лечении сахарного диабета, нарушении всасывания углеводов, отравлениях фосфором, бензолом, хлороформом, после больших потерь крови.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 10. КОЛЛОКВИУМ ПО ТЕМЕ «ОБМЕН УГЛЕВОДОВ»

Вопросы для подготовки к коллоквиуму

1. Переваривание углеводов, ферменты и специфичность их действия. Строение пищевых углеводов. Особенности строения неперевариваемых у человека углеводов (клетчатка, пектины). Биологическая роль пищевых волокон. Механизмы всасывания углеводов в кишечнике.

2. Механизм транспорта глюкозы в клетки. Написать реакцию активирования поступившей в клетку глюкозы и указать пути ее дальнейших превращений.

3. Суммарное уравнение гликолиза, химизм реакций неокислительного и окислительного этапов анаэробного гликолиза, субклеточная локализация. Биологическая роль гликолиза, значение лактатдегидрогеназной реакции. Регуляция гликолиза. Какой из ключевых ферментов гликолиза является ключевым и для других путей обмена глюкозы? Значение 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах. Энергетический баланс гликолиза. Реакции и механизм синтеза АТФ в анаэробных условиях. В каких клетках анаэробный гликолиз является основным источником энергии?

4. Аэробное окисление глюкозы (CO_2 и H_2O). Этапы и их субклеточная локализация, конечные продукты, сопряжение с процессом окислительного фосфорилирования, энергетический выход (расчет проводить поэтапно) и механизмы синтеза АТФ. Уровни регуляции, ключевые ферменты и их регуляторы. Сравнить энергетический выход анаэробной и аэробной дихотомии глюкозы (расчет проводить поэтапно) и механизмы синтеза АТФ.

5. Судьба конечных продуктов гликолиза — пировиноградной и молочной кислот. Какова судьба лактата, образовавшегося в эритроцитах? Этапы и энергетический выход (расчет проводить поэтапно) аэробного окисления лактата.

6. Пути метаболизма пирувата. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты (биологическая роль, субклеточная локализация, суммарное уравнение процесса, реакции). Пируватдегидрогеназный комплекс (ферменты, коферменты и их происхождение), регуляция активности пируватдегидрогеназы. Какой путь утилизации пирувата стимулируется при энергодефиците и при высоком энергетическом заряде в клетках?

7. Лимоннокислый цикл как заключительный этап аэробного окисления глюкозы, регулируемые реакции процесса. Нарисуйте схему цикла Кребса. Назовите витамины и их активные формы, участвующие в этом процессе. Напишите реакции лимоннокислого цикла, катализируемые дегидрогеназами. Объясните сопряжение этих реакций с процессом окислительного фосфорилирования. Рассчитайте энергетический выход цикла трикарбоновых кислот.

8. Глюконеогенез. Биологическая роль, субклеточная локализация, субстраты, ключевые ферменты и регуляция процесса. Химизм ключевых реакций. Уметь рассчитать энергетический баланс синтеза моля глюкозы из ПВК, ЩУК.

9. Гликогенез, биологическая роль. Схема гликогенеза. Каковы запасы углеводов в мышцах, в печени и в целом организме? Рассчитать энерготраты включения молекулы (моля) глюкозы в молекулы гликогена. Регуляция гликогенеза.

10. Гликогенолиз, биологическая роль. Что такое фосфоролиз и гидролиз гликогена? Возможны ли реакции гидролиза гликогена в клетках? Схема фосфоролиза гликогена. Знать различия этого процесса в печени и мышцах. Есть ли в этих различиях биологический смысл, а если есть, то какой? Гормональная регуляция гликогенолиза. Рассчитайте (поэтапно) энергетический баланс анаэробного и аэробного расщепления глюкозы, мобилизуемой из мышечного гликогена.

11. Пентозофосфатный путь распада глюкозы, этапы, биологическая роль, регуляция процесса.

12. Изобразить схематически образование УДФ-глюкозы. Какова биологическая роль процессов, использующих УДФ-глюкозу? Значение глюкуронового пути обмена глюкозы в гепатоцитах и фибробластах.

13. Назовите процессы, поставляющие глюкозу в кровь. Гормональная регуляция уровня глюкозы в крови. Физиологические концентрации глюкозы в сыворотке (плазме) крови. Опишите принцип глюкозооксидазного метода определения концентрации глюкозы.

14. Особенности утилизации углеводов бактериями полости рта. Различия в синтезе гликогена у человека и бактерий. Синтез внеклеточных полисахаридов (декстран, леван) и их назначение. Расщепление сахарозы (фруктозы, глюкозы) бактериями полости рта. Зависимость выхода Ca^{2+} из эмали зубов от pH ротовой жидкости. Поясните патогенетическую взаимосвязь углеводов пищи и кариеса. Химико-паразитическая теория кариеса. Условия развития кариозного процесса. Сорбенты сахарозы на зубах и их происхождение.

15. Что такое субстратное фосфорилирование? Напишите известные Вам реакции субстратного фосфорилирования. Окислительное фосфорилирование, физиологическая регуляция. Цепь ферментов тканевого дыхания (схема). Чему равен коэффициент P/O при окислении гликолитического НАДН·Н⁺ (необходимо учитывать челночные механизмы транспорта НАДН·Н⁺) в дыхательной цепи? Уметь назвать субстраты тканевого дыхания, образующиеся в ходе аэробного окисления глюкозы, и указать место их включения в дыхательную цепь. Чему равен коэффициент P/O при их окислении в дыхательной цепи? Объяснить сопряжение процессов аэробного окисления глюкозы и окислительного фосфорилирования с использованием схемы ферментов тканевого дыхания. Уметь объяснить, почему в отсутствие кислорода аэробное окисление глюкозы не осуществляется. Указать место действия ингибиторов в дыхательной цепи. Как изменяется скорость аэробного окисления глюкозы в присутствии ингибиторов тканевого дыхания?

ЗАНЯТИЕ 11. ОБМЕН ЛИПИДОВ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ, ВСАСЫВАНИЕ И РЕСИНТЕЗ. ТРАНСПОРТ ЭКЗОГЕННЫХ ЛИПИДОВ. ЭМУЛЬГИРОВАНИЕ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ ЖЕЛЧНЫМИ КИСЛОТАМИ. КИНЕТИКА ДЕЙСТВИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ЛИПАЗЫ

Актуальность темы

Липиды — важная составная часть пищевых продуктов не только вследствие высокой энергетической ценности, но также и потому, что в натуральных пищевых жирах содержатся жирорастворимые витамины и «незаменимые» жирные кислоты (полиненасыщенные). Такие жирные кислоты в организме — предшественники эйкозаноидов — липидных гормонов, играющих важную роль в развитии воспаления, аллергии, процесса свертывания крови.

Переваривание липидов в желудочно-кишечном тракте — сложный биохимический процесс. Для создания физиологических условий гидролиза липидов в кишечнике необходимо полноценное функционирование нескольких органов: печени, поджелудочной железы, тонкого кишечника. Дефект участия этих органов в усвоении пищевых липидов организмом приводит к нарушению обмена жиров и развитию патологических проявлений. Одно из таких проявлений — стеаторея (появление в фекалиях непереваренных жиров).

Поскольку липиды — гидрофобные соединения, их присутствие в кровотоке возможно только в виде специальных транспортных форм — липопротеинов. Хиломикроны (один из классов липопротеинов) служат для доставки липидов из кишечника в различные ткани и печень. Нарушения на уровне образования липопротеинов (или их утилизации) являются причинами развития различных форм гипо- и гиперлипидемий. Наиболее распространенные заболевания, связанные с нарушениями обмена липидов, — сахарный диабет и атеросклероз.

Цель занятия

Закрепить знания по химии липидов. Усвоить молекулярные механизмы переваривания и всасывания липидов пищи, ресинтеза липидов, транспорта экзогенных липидов по кровеносному руслу для последующего анализа биохимических аспектов нарушений этих процессов.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии:*
 - свойства поверхностно-активных веществ, мицеллообразование;
 - титрометрические методы анализа;
- *биоорганической химии:*
 - строение и свойства многоатомных спиртов (глицерол, инозитол), природных высших карбоновых кислот;
 - строение простых липидов (восков и нейтральных жиров);
 - особенности структуры и физико-химических свойств фосфолипидов и желчных кислот;
- *нормальной физиологии:*
 - состав и свойства желчи, ее участие в процессах пищеварения. Механизмы регуляции желчеобразования и желчевыделения;
 - состав и свойства пищеварительных соков; переваривание жиров и всасывание продуктов гидролиза жиров.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Вспомните, что природные жирные кислоты бывают насыщенные и ненасыщенные. Полиеновые жирные кислоты являются незаменимыми факторами питания и делятся на 2 группы — ω -3 и ω -6 — в зависимости от положения двойной связи от углеродного атома последней (метильной) группы.

Подберите для каждой жирной кислоты соответствующее обозначение:

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. Пальмитиновая. | А. 18:2 ω -6. |
| 2. Стеариновая. | Б. 18:3 ω -3. |
| 3. Олеиновая. | В. 20:5 ω -3. |
| 4. Линолевая. | Г. 20:4 ω -6. |
| 5. Линоленовая. | Д. 18:1 ω -9. |
| 6. Арахидоновая. | Е. 18:0. |
| 7. Эйкозапентаеновая. | Ж. 16:0. |

Задание 2. При добавлении к капле неэмульгированного жира солей желчных кислот образовалось 10^{12} мелких капель жира. Каким свойством желчных кислот можно объяснить их эмульгирующее действие?

- А. Амфифильностью.
- Б. Растворимостью только в воде.
- В. Растворимостью только в неполярных растворителях.
- Г. Нерастворимостью в воде.
- Д. Нерастворимостью в органических растворителях.

Задание 3. В растворе с помощью специфических реакций определены следующие продукты гидролиза: глицерол и жирные кислоты. Какое вещество было подвергнуто гидролизу?

- А. Холестерол.
- Б. Триацилглицерол.
- В. Фосфатидилхолин.
- Г. Холевая кислота.
- Д. Сфингозин.

Задание 4. Обратите внимание, что в составе глицеролипидов ненасыщенные жирные кислоты обычно располагаются во 2-м (β)-положении. Напишите формулу 1-пальмитоил-2-линолеил-3-стеароилглицерола.

Это соединение:

А. Гидрофильное. Б. Гидрофобное. В. Амфифильное.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Общая характеристика и классификация липидов (омыляемые и неомыляемые, простые и сложные). Характеристика групп липидов (химические формулы и номенклатура ацилглицеролов и глицерофосфолипидов; блок-схемы строения восков, сфингофосфолипидов, гликолипидов, сульфолипидов). Биологическая роль липидов.

2. Липиды пищи. Переваривание липидов, этапы. Эмульгирование (назначение, факторы, стабилизация жировой эмульсии). Желчь, желчные кислоты (первичные, конъюгированные, вторичные). Место образования, участие в усвоении липидов пищи. Представление о печеночно-кишечной рециркуляции желчных кислот.

3. Гидролиз липидов (схемы превращений). Ферменты (место образования, субстратная специфичность). Механизмы активации панкреатической липазы. Всасывание (механизмы, мицеллярное растворение, судьба мицелл). Представление о нарушениях переваривания и всасывания липидов.

4. Ресинтез триацилглицеролов и глицерофосфолипидов в энтероцитах. Транспортные формы липидов в крови. Строение и метаболизм хиломикронов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 193 – 210, 213–216.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. Москва : Медицина, 1990. С. 276–291, 305–309, 315–316.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 163–186.
4. *Конспект лекций.*

Дополнительная

5. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985.
6. *Марри, Р.* Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993. Т. 1. С. 151–164, 238–246, 256–268. Т. 2. С. 287–290, 295–296.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Вспомните классификацию липидов и напишите формулы триацилглицеролов и глицерофосфолипидов. Запомните, что важное свойство некоторых липидов — амфифильность, т. е. способность взаимодействовать как с гидрофобными, так и с гидрофильными молекулами. Обратите внимание на то, что липиды выполняют разные функции в зависимости от их строения и свойств. Какие функции выполняют перечисленные ниже липиды?

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. Холестерол. | А. Энергетическая. |
| 2. Триацилглицерол. | Б. Структурная. |
| 3. Насыщенные жирные кислоты. | В. Предшественник стероидных гормонов, витамина D ₃ , желчных кислот. |
| 4. Полиненасыщенные жирные кислоты. | Г. Предшественники эйкозаноидов. |
| 5. Фосфолипиды. | Д. Терморегуляция. |
| 6. Гликолипиды. | |

Задание 2. Запомните этапы переваривания и всасывания пищевых жиров (эмульгирование, гидролиз, образование мицелл и всасывание в слизистую кишечника). Умейте назвать факторы, способствующие эмульгированию жиров, и механизм стабилизации эмульсии под действием солей желчных кислот, исходя из структуры этих соединений.

2.1. Укажите, какая из перечисленных желчных кислот является наиболее сильным эмульгатором:

- А. Холевая. Б. Хенодезоксихолевая. В. Гликохолевая.
Г. Литохолевая. Д. Дезоксихолевая.

2.2. Подберите место образования для вышеперечисленных желчных кислот:

- 1) печень; 2) кишечник; 3) поджелудочная железа.

2.3. Обратите внимание на то, что ежедневно с калом выделяется 0,5–1 г желчных кислот. Это единственный значимый путь выведения холестерина из организма.

Задание 3. Эмульгирование гидрофобных жиров — одно из условий эффективной работы панкреатической липазы. Напишите в общем виде реакцию поэтапного гидролиза ТАГ под действием этого фермента с учетом того, что панкреатическая липаза с большей скоростью расщепляет в жирах сложно-эфирные связи в α -положении. Подчеркните основные конечные продукты переваривания жиров.

3.1. Выберите правильный вариант ответа:

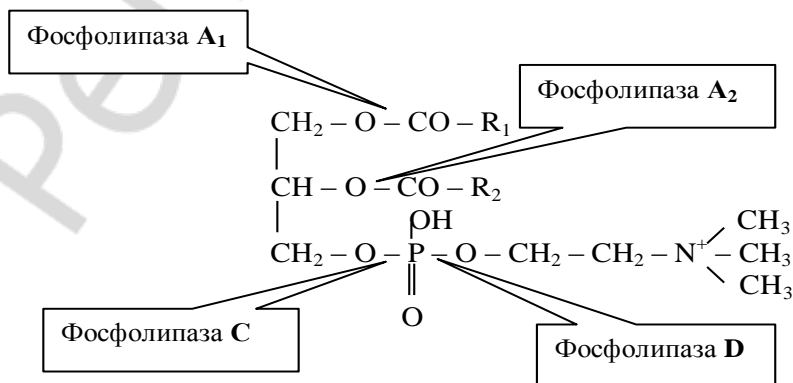
Перед всасыванием в слизистую тонкого кишечника из желчных кислот, холестерина и амфифильных продуктов гидролиза жиров (жирных кислот и β -моноацилглицеролов) образуются:

- А. Смешанные мицеллы. Б. Липосомы.
В. Секреторные гранулы. Г. Триацилглицеролы.

3.2. Запомните, что признаком нарушения переваривания и всасывания жиров является стеаторея. При этом кал больного содержит нерасщепленный жир и имеет серовато-белый цвет. Выполните следующее задание: из левого столбика таблицы выберите все состояния, которые могут привести к стеаторее; из правого столбика — возможные последствия:

- | | |
|---|--|
| А. Снижение секреции или активности панкреатической липазы (панкреатит). | Д. Повышение уровня ТАГ в крови. |
| Б. Нарушение эмульгирования жиров вследствие недостаточного поступления желчи в просвет кишечника (желчнокаменная болезнь). | Е. Нарушение всасывания жирорастворимых витаминов («куриная слепота», кровоточивость). |
| В. Нарушение функции печени и уменьшение синтеза желчных кислот (гепатит). | Ж. Нарушение всасывания незаменимых полиненасыщенных жирных кислот. |
| Г. Дисбактериоз. | З. Ожирение. |

3.3. Переваривание фосфолипидов происходит под действием панкреатических фосфолипаз с образованием глицерола, высших жирных кислот, азотистых соединений и фосфорной кислоты. Запомните, какие связи специфически гидролизуют разные виды фосфолипаз:



Задание 4. Запомните, что в клетках слизистой оболочки кишечника (в энтероцитах) происходит ресинтез ТАГ и фосфолипидов из всосавшихся продуктов гидролиза. Выучите реакции ресинтеза липидов.

4.1. Оцените правильность фразы: состав жирных кислот ресинтезированных липидов может существенно отличаться от пищевых жиров, ПОТОМУ ЧТО субстраты ресинтеза жиров — не только всосавшиеся жирные кислоты, но и жирные кислоты, синтезированные в слизистой кишечника.

4.2. Нужно усвоить, что транспортной формой гидрофобных продуктов ресинтеза (ТАГ и эфиров холестерина) из кишечника служат хиломикроны (один из классов липопротеинов). Ознакомьтесь с общим принципом строения липопротеиновых частиц и укажите компоненты, которые составляют в хиломикроне:

- А. Внутреннюю часть: 1. ... 2. ...
Б. Наружную часть: 1. ... 2. ... 3. ...

4.3. Выберите особенности, характеризующие транспорт экзогенных липидов:

- А. Хиломикроны поступают непосредственно в кровоток.
Б. Хиломикроны поступают в лимфу.
В. После гидролиза ТАГ в составе хиломикронов липопротеинлипазой, располагающейся на эндотелии сосудов, жирные кислоты поступают в клетки различных тканей.
Г. Окончательное расщепление ремнантов хиломикронов на составные компоненты происходит в гепатоцитах.

4.4. Имейте представление о том, что у людей с наследственным дефектом липопротеинлипазы в крови повышается концентрация ТАГ и хиломикронов. К внешним проявлениям гиперлипидемии относится ксантома (отложение жировых бляшек в коже).

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Все перечисленные липиды относятся к глицерофосфолипидам, КРОМЕ:

- А. Дипальмитоилфосфатидилхолина. Б. Фосфатидной кислоты.
В. Сфингомиелина. Г. Фосфатидилсерина. Д. Фосфатидилинозитола.

Задание 2. Пищевые жиры в ЖКТ подвергаются ферментативному гидролизу. В каком отделе ЖКТ происходит расщепление жиров у взрослых людей?

- А. Ротовой полости. Б. Толстом кишечнике. В. Желудке.
Г. Тонком кишечнике. Д. Пищевоме.

Задание 3. Больному с хроническим панкреатитом в курсе комплексной терапии рекомендован препарат желчи. Какие компоненты желчи участвуют в переваривании жиров?

- А. Высшие жирные насыщенные кислоты. Б. Холестерол и его эфиры.
В. Соли желчных кислот. Г. Панкреатическая липаза.
Д. Диацилглицеролы. Е. Панкреатическая α -амилаза.

Задание 4. Сыворотка крови больного, взятой утром натощак, имеет молочный вид. При анализе обнаружено высокое содержание ТАГ и хиломикронов. Наследственный дефект какого фермента приводит к хиломикронемии?

- А. Тканевой гормон-чувствительной липазы. Б. Холестеролэстеразы.
В. Липопротеинлипазы. Г. Панкреатической липазы.
Д. Фосфолипазы.

Задание 5. Какой из перечисленных ферментов высвобождает арахидоновую кислоту из мембранных фосфолипидов?

А. Фосфолипаза А₁.

Б. Фосфолипаза А₂.

В. Панкреатическая липаза.

Г. Гормон-чувствительная липаза.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – (1 – Ж; 2 – Е; 3 – Д; 4 – А; 5 – Б; 6 – Г; 7 – В). 2 – А. 3 – Б. 4 – Б.

Для самостоятельной работы:

1. (1 – Б, В; 2 – А, Д; 3 – А; 4 – Г; 5 – Б).

2.1 – В; 2.2 – (А – 1; Б – 1; В – 1; Г – 2; Д – 2).

3.1 – А. 3.2 – А, Б, В, Е, Ж.

4.1. Верно. 4.2. А – 1) ТАГ; 2) эфиры холестерина. Б – 1) фосфолипиды; 2) холестерол; 3) апобелки (апо-В48). 4.3. – Б, В, Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. Эмульгирование триациглицеролов желчными кислотами

Принцип метода. Желчные кислоты – амфифильные соединения и относятся к поверхностно-активным веществам (детергентам). При их смешивании с триацилглицеролами (растительным маслом) образуется стабильная водно-жировая эмульсия.

Ход работы. Берут 2 пробирки: в первую наливают 0,5 мл желчи, во вторую – 0,5 мл воды (контроль). Затем в обе пробирки добавляют по 2 капли растительного масла. Встряхивают содержимое и оставляют пробирки в штативе для отстаивания эмульсии. Сравнивают наблюдаемую картину.

Результат:

Вывод:

Работа 2. Кинетика действия панкреатической липазы

Принцип метода. Скорость действия липазы в отдельных порциях молока определяется по количеству жирных кислот, образующихся при гидролизе жира молока за определенный промежуток времени. Количество жирных кислот определяют титрованием щелочью.

Ход работы. В пробирку наливают 5 мл молока и добавляют 1 мл 5% раствора панкреатина (сока поджелудочной железы). Приливают 1 мл желчи, содержимое пробирки быстро перемешивают. Отбирают 1 мл смеси в колбу, добавляют 1–2 капли 0,5% раствора фенолфталеина и титруют 0,05н раствором гидроксида натрия до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 30 секунд. Пробирку с оставшейся смесью помещают в термостат при 38°C. Через каждые 10 минут из пробирки отбирают по 1 мл смеси и титруют 0,05н раствором гидроксида натрия в присутствии фенолфталеина до слаборозовой окраски. Проводят 5 таких определений, записывают результаты и на основании полученных данных строят кривую, отражающую процесс гидролиза жира под действием фермента липазы во времени.

Результаты:

	Время инкубации					
	0 мин	10 мин	20 мин	30 мин	40 мин	50 мин
Объем NaOH, мл						



Вывод:

Работа 3. Действие фосфолипаз поджелудочной железы

Принцип метода. О действии фосфолипаз поджелудочной железы на глицерофосфолипиды яичного желтка можно судить по появлению свободной фосфорной кислоты, способной образовывать желтый осадок при нагревании с молибдатом аммония.

Ход работы. В две пробирки наливают по 5 капель суспензии яичного желтка. В 1-ю пробирку добавляют 2 капли панкреатина, а во 2-ю (контрольную) — 2 капли воды. Обе пробирки помещают в термостат при 38°C на 30 мин. После инкубации в обе пробирки наливают по 5 капель молибденового реактива, нагревают их на пламени горелки и охлаждают водой под краном.

Результаты:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 12. ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ КРОВЬЮ. ОБМЕН ХОЛЕСТЕРОЛА. ДЕПОНИРОВАНИЕ И МОБИЛИЗАЦИЯ ЛИПИДОВ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В-ЛИПОПРОТЕИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Актуальность темы

Процессы депонирования и мобилизации липидов из жировых депо взаимосвязаны и подвержены четкой гормональной регуляции.

Холестерол — важный элемент мембранной структуры, предшественник стероидных гормонов, витамина D, желчных кислот. Холестерол присутствует в пищевых жирах и может синтезироваться многими тканями. Механизм его синтеза находится под строгим метаболическим контролем. Холестерол экскретируется с желчью либо в неизменном виде, либо в виде продуктов его метаболизма — желчных кислот. С нарушением обмена липидов и холестерина связаны такие заболевания, как ожирение, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, желчнокаменная болезнь. Потому понимание вопросов синтеза, распада, транспорта и регуляции обмена липидов и холестерина необходимо при изучении этих заболеваний.

Липопротеиновый спектр плазмы крови – основной показатель липидного обмена в организме, и изменение соотношения липопротеинов свидетельствует о нарушении метаболизма липидов.

Цель занятия

Изучить процессы синтеза и распада липидов в организме. Сформировать представление о механизме синтеза холестерина в клетках. Приобрести навыки количественного определения β – липопротеинов в крови.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- **биоорганической химии:**
 - холестерол: вторичный спирт — производное циклопентанпергидрофенантрена, строение, свойства.
- **биологической химии:**
 - гликолиз и пентозофосфатный путь окисления глюкозы, окислительное фосфорилирование.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующее задание:

Задание 1. Исследуемое вещество подвергли гидролизу и с помощью качественных реакций определили в гидролизате жирные кислоты и холестерол. Какое вещество исследовалось?

- | | |
|---------------------|---------------------|
| А. Холевая кислота. | В. Фосфатидилхолин. |
| Б. Триацилглицерол. | Г. Эфир холестерола |

Правильность решения проверьте, сопоставив с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Синтез ТАГ и глицерофосфолипидов в печени и жировой ткани (химизм, общие этапы синтеза, различия). Транспортные формы липидов в крови. Строение и метаболизм ЛПОНП, ЛПВП, ЛПНП, ЛПНП.
2. Холестерол, биологическая роль, пищевые источники. Выведение холестерола из организма. Желчные кислоты как основной конечный продукт обмена холестерола. Представление о желчнокаменной болезни. Биосинтез холестерола (тканевая и субклеточная локализация, субстраты, этапы, химизм I этапа, регуляция).
3. Механизмы поддержания баланса холестерола в клетках. Транспорт холестерола и его эфиров во внепеченочные клетки, роль апоВ₁₀₀. Роль ЛПВП и ЛХАТ в разгрузке клеток от избытка холестерола. Метаболизм эфиров холестерола, роль АХАТ, холестеролэстеразы.
4. Гиперхолестеролемиа и ее причины. Биохимия атеросклероза, гиперхолестеролемиа как фактор риска, другие факторы риска.
5. Мобилизация липидов из жировой ткани (схема, Са²⁺ и цАМФ-зависимые механизмы активации гормон-чувствительной липазы, гормональная регуляция). Роль депонирования и мобилизации жиров.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бинум, Минск : Асар, 2008. С. 210–231, 254–258.
2. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск: Беларусь, 2013. С. 186–199, 210–212, 214–217.
3. *Конспект лекций*.

Дополнительная

4. *Маршалл, В. Дж.* Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл. Москва ; Санкт-Петербург : БИНОМ-Невский Диалект, 1999. 368 с.
5. *Марри, Р.* Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993. 384 с.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Вспомните, что холестерол — структурный компонент биомембран всех клеток организма. Для синтеза различных биологически активных веществ в организме используется свободный холестерол, тогда как этерифицированная форма — резерв холестерола в клетке.

1.1. Из организма человека ежедневно выводится около 1 грамма холестерола. Назовите наиболее значимые пути выделения холестерола:

- А. В составе хиломикронов. Б. В виде солей желчных кислот.
В. Выделение с фекалиями. Г. В виде стероидных гормонов.
Д. Расщепляется до ацетил-КоА.

1.2. Назовите пути поступления и использования холестерола в организме.

Задание 2. Выучите последовательность реакций синтеза холестерола из ацетил-КоА до образования мевалоната, запомните ферменты.

2.1. Ответьте на вопрос: можно ли снижением потребления холестерола с пищей до 100 мг в сутки вызвать снижение концентрации холестерола в крови?

Задание 3. Знайте строение и роль различных липопротеинов в транспорте холестерола в организме, участие ЛПНП и ЛПВП в переносе холестерола из кровотока в ткани и избытка холестерола из тканей в печень.

3.1. Выберите, в какой форме пищевой холестерол поступает в кровоток:
А. ЛПНП. Б. ЛПВП. В. ЛПОНП. Г. Хиломикроны.

Задание 4. При интенсивной физической работе активируется мобилизация нейтральных жиров из депо.

4.1. Какой фермент осуществляет внутриклеточный липолиз?

- А. Пепсин. Б. Гормон-чувствительная липаза. В. Липопротеинлипаза.
Г. Эндопептидаза. Д. Фосфолипаза.

4.2. Каким гормоном активируется этот фермент?

- А. Инсулином. Б. Глюкагоном.
В. Кальцитонином. Г. Окситоцином.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. У больного после курса лечения атеросклероза и строгого соблюдения диетологических рекомендаций в плазме крови лабораторно подтверждено повышение уровня антиатерогенных липопротеинов. Какие липопротеины являются антиатерогенными?

- А. ЛПОНП. Б. ЛПНП. В. ЛПВП. Г. Хиломикроны.

Задание 2. У людей, в рационе которых преобладает растительная пища и рыба, значительно снижен риск заболевания атеросклерозом. Какие вещества, входящие в состав этих продуктов, могут оказывать антиатерогенное действие? Их роль в обмене холестерола?

Задание 3. Пациент, которому с лечебной целью назначено голодание, в течение двух недель значительно похудел. Каким гормоном регулируется скорость мобилизации жиров при изменении режима питания?

- А. Глюкагоном. Б. Окситоцином. В. Адреналином.
Г. Кальцитонином. Д. Паратирином.

Задание 4. Для ситуации, когда происходит депонирование липидов, характерно:

- А. Повышение секреции инсулина.
Б. Увеличение в крови концентрации свободных жирных кислот.
В. Увеличение в крови концентрации ЛПОНП и хиломикронов.
Г. Повышенная активность гормон-чувствительной липазы.
Д. Повышенная активность липопротеинлипазы.

Задание 5. Сравните особенности биосинтеза липидов (триацилглицеролов) в различных тканях, заполнив таблицу:

Ткань	Исходные субстраты синтеза	Форма транспорта липидов из органа
Слизистая оболочка тонкого кишечника		
Печень		
Жировая ткань		

Задание 6. Мобилизация липидов из депо происходит, если:

- А. Концентрация жирных кислот в крови выше нормы.
Б. Концентрация ЛПОНП выше нормы.
В. Гормон-чувствительная липаза находится в фосфорилированной форме.
Г. Липопротеинлипаза находится в фосфорилированной форме.
Д. Активность липопротеинлипазы снижена.

Задание 7.

Сравните биосинтез триацилглицеролов в печени и жировой ткани:

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. Биосинтез жиров в печени. | А. Свободный глицерол используется для синтеза жиров. |
| 2. Биосинтез жиров в жировой ткани. | Б. В процессе биосинтеза образуется фосфатидная кислота. |
| 3. Оба процесса. | В. Стимулируется при низкой концентрации глюкозы в крови. |
| 4. Ни один. | Г. Синтезируемый жир образует вакуоли, заполняющие цитоплазму. |

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – Г;

Для самостоятельной работы:

1.1 – Б, В; 2.1 – да; 3.1 – Г; 4.1 – Б; 4.2 – Б.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Определение содержания β -липопротеинов (липопротеинов низкой плотности) в плазме крови.

Большинство липидов находятся в крови не в свободном состоянии, а в составе белково-липидных комплексов (липопротеинов). Фракции липопротеинов отличаются по относительной молекулярной массе, количеству белка, процентному содержанию отдельных липидных компонентов. Липопротеины можно разделить различными методами: электрофореза, тонкослойной хроматографии, ультрацентрифугирования в солевых растворах различной плотности. При электрофоретическом разделении липопротеинов плазмы крови (на хроматографической бумаге, ацетатцеллюлозе, агаре, в полиакриламидном геле) получают фракции хиломикрон и липопротеинов различной плотности: α -липопротеины (ЛПВП) имеют подвижность α -глобулинов, β -липопротеины (ЛПНП) обладают подвижностью β -глобулинов. Пре- β -липопротеины (ЛПОНП) на электрофореграмме располагаются от линии старта перед β -липопротеинами, поэтому у них такое название.

Определение содержания β -липопротеинов в плазме крови имеет значение для диагностики атеросклероза, острых и хронических заболеваний печени, ксантоматоза и других патологий.

Принцип метода. Фотометрический метод. В основу метода положена способность β -липопротеинов (ЛПНП) осаждаться в присутствии хлорида кальция и гепарина; при этом изменяется мутность раствора. По степени помутнения раствора и судят о концентрации β -липопротеинов в сыворотке крови.

Ход работы. В пробирку вносят 2 мл 0,025М раствора CaCl_2 и 0,2 мл сыворотки крови, перемешивают. Определяют оптическую плотность раствора (E_1) против раствора CaCl_2 на колориметре в кюветах толщиной 5 мм при красном светофильтре (630 нм). В кювету добавляют 0,1 мл раствора гепарина, перемешивают и точно через 4 мин снова определяют оптическую плотность раствора (E_2) в тех же условиях.

Вычисляют разность оптических плотностей и умножают ее на 10 — эмпирический коэффициент, предложенный Ледвиной, т. к. построение калибровочной кривой сопряжено с рядом трудностей (x (г/л) = $(E_2 - E_1) \cdot 10$). В норме содержание β -липопротеинов составляет 3–4,5 г/л. Содержание β -липопротеинов колеблется в зависимости от возраста и пола.

Результаты: $E_1 =$ $E_2 =$ Расчет:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 13. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ЖИРНЫХ КИСЛОТ. КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ.

Актуальность темы

Жирные кислоты — неотъемлемый составной компонент большинства липидов. Понимание механизмов синтеза и распада жирных кислот имеет большое практическое значение в деятельности врача. Многие болезни, врожденные и приобретенные, определяются нарушениями в соотношении процессов анаболизма и катаболизма жирных кислот. Нарушение соотношения незаменимых жирных кислот в питании может приводить к существенным изменениям в составе эйкозаноидов и, как следствие, к различной патологии.

Один из важных показателей липидного обмена – содержание кетоновых тел. Кетоновые тела содержатся в крови здорового человека в небольших количествах. Однако, при сахарном диабете, голодании концентрация кетоновых тел может повышаться в несколько раз, развивается кетонемия.

Цель занятия

Изучить процессы окисления и синтеза жирных кислот. Познакомиться с метаболизмом кетоновых тел. Сформировать представление об эйкозаноидах и их функциях. Приобрести навыки определения холестерина и кетоновых тел.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- **биоорганической химии:**
 - реакции альдольной конденсации, формирование и характеристика сложноэфирной связи, высшие жирные кислоты (строение, номенклатура, свойства);
 - кетоновые тела и их свойства;
- **биологической химии:**
 - центральные пути метаболизма (окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты, ЦТК);
 - пентозофосфатный путь;
 - дихотомический распад глюкозы;
 - окислительное фосфорилирование

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Определите количество моль АТФ, синтезируемое за счет полного окисления одного моля:

- | | |
|------------------------|------------|
| 1. Глюкозы. | А. 17. |
| 2. Ацетил-КоА. | Б. 18. |
| 3. Сукцинил-КоА. | В. 10. |
| 4. Фосфодиоксиацетона. | Г. 25. |
| | Д. 32(30). |

Задание 2. В исследуемой моче определили выраженную кислую реакцию за счет вещества, обладающего свойствами кетонов. Какое из перечисленных веществ может обусловить это изменение pH мочи?

- А. Ацетон. Б. Янтарная кислота.
В. Угольная кислота. Г. Ацетоуксусная кислота. Д. Уксусная кислота.

Задание 3. В моче больного с выраженной кислой реакцией определили содержание β -гидроксибутирата. Из какого предшественника он может образоваться?

- А. Ацетон. Б. Ацетоуксусная кислота.
В. Масляная кислота. Г. Янтарная кислота. Д. γ -Оксимасляная кислота.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами

Вопросы для обсуждения

1. β -Окисление как центральный путь катаболизма жирных кислот. Субклеточная локализация процесса, активация жирных кислот, транспорт в митохондрии. Химизм окисления, участие витаминов. Сопряжение с процессом окислительного фосфорилирования и энергетический выход. β -Окисление жирных кислот с нечетным количеством углеродных атомов, ненасыщенных жирных кислот. Особенности β -окисления в пероксисомах.

2. Биосинтез жирных кислот. Субклеточная локализация, субстраты, химизм, регуляция. Особенности строения ацилсинтазы. Роль малик-фермента.

3. Полиненасыщенные) жирные кислоты как незаменимые факторы питания: представители, биологическая роль. Метаболизм арахидоновой кислоты. Биосинтез эйкозаноидов (простагландины, простаглицлины, лейкотриены, тромбоксаны) и их биологическая роль.

4. Кетогенез: тканевая и субклеточная локализация, субстраты, химизм. Молекулярные механизмы кетонемий при сахарном диабете, недостаточном углеводном питании, голодании. Утилизация кетоновых тел (взаимопревращения, активация, включение в метаболизм, энергетика окисления).

5. Ацетил-КоА как центральный метаболит. Пути его потребления в клетках. Взаимосвязь липидного и углеводного обмена. Пути превращения глицерола в клетках. Энергетический баланс окисления глицерола.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 234–249, 258–260.
2. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 200–210, 212–214.
3. *Конспект лекций*.

Дополнительная

4. *Марри, Р.* Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993.
5. *Биохимия*. Краткий курс с упражнениями и задачами / под ред. Е. С. Северина, А. Я. Николаева. Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2001. С. 186–189, 193–198, 205–210.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Научитесь рассчитывать энергетический выход β -окисления жирных кислот. Для этого нужно помнить, что:

А. Число молей ацетил-КоА, образующихся в результате окисления жирных кислот с четным числом атомов углерода (n), можно рассчитать по формуле: $n/2$.

Б. Каждый моль ацетил-КоА далее окисляется в ЦТК с образованием 10 моль АТФ.

В. В каждом витке β -окисления происходят две реакции дегидрирования, в которых восстанавливаются одна молекула НАД⁺ (НАДН·Н⁺) и одна молекула ФАД (ФАДН₂), поэтому каждый виток дает 4 АТФ при сопряжении с процессом окислительного фосфорилирования.

Г. Число витков можно рассчитать по формуле: $n/2 - 1$, т. к. в последний виток β -окисления всегда вступает бутирил-КоА и при его расщеплении образуется два ацетил-КоА, а не один, как во всех предыдущих витках.

Д. Суммарный выход АТФ для β -окисления жирных кислот с четным числом атомов углерода можно рассчитать по формуле:

$$[(n/2) \cdot 10 + (n/2 - 1) \cdot 4] - 2^*$$

* — 2 АТФ расходуется на активацию жирных кислот.

1.1. Решите задачу. Рассчитайте количество АТФ, образующееся при окислении одной молекулы трипальмитоилглицерола. Алгоритм:

А. Напишите реакцию гидролиза этого соединения.

Б. Рассчитайте количество АТФ, образующееся при окислении каждой молекулы пальмитиновой кислоты до CO_2 и H_2O .

В. Напишите реакции катаболизма глицерола (глицерол \rightarrow фосфоглицерол \rightarrow диоксиацетонфосфат \rightarrow глицеральдегидфосфат) до CO_2 и H_2O .

Г. Рассчитайте количество АТФ, образующееся при окислении одной молекулы глицерола до CO_2 и H_2O .

Д. Рассчитайте суммарный выход АТФ при полном окислении трипальмитоилглицерола.

1.2. При каком условии активируется β -окисление жирных кислот?

- А. При уменьшении синтеза малонил-КоА в цитозоле.
- Б. При увеличении концентрации НАДН·Н⁺ в митохондриях.
- В. При гипоксии.
- Г. При наличии большого количества глюкозы.

Задание 2.

5.1. Напишите реакции первого витка синтеза пальмитиновой кислоты.

5.2. Напишите суммарное уравнение синтеза пальмитиновой кислоты и посчитайте количество циклов, необходимых для ее синтеза.

5.3. Сколько молекул глюкозы и какими путями нужно затратить, чтобы синтезировать 1 молекулу трипальмитоилглицерола?

2.4. Укажите, какие из приведенных ниже жирных кислот

- 1. Синтезируются в организме. А. 18:2 (Δ 9, 12). Б. 18:1 (Δ 9).
- 2. Не синтезируются в организме и должны поступать с пищей. В. 18:3 (Δ 9, 12, 15). Г. 18:0. Д. 16:0.

2.5. При каких условиях будет увеличиваться синтез жирных кислот?

- А. При повышении концентрации глюкозы в крови после еды.
- Б. При снижении секреции инсулина.
- В. При увеличении секреции глюкагона.
- Г. При дефосфорилировании ацетил-КоА-карбоксилазы.
- Д. При избыточном поступлении жиров с пищей.

Задание 3.

3.1. Укажите, какие функции регулируют перечисленные ниже эйкозаноиды:

- 1. Лейкотриены. А. Сокращение гладких мышц, липолиз, секреция, проницаемость, электролитный баланс, свертывание крови.
- 2. Простагландины. Б. Хемотаксис, воспаление, аллергические реакции, сокращение гладкой мускулатуры бронхов и ЖКТ.
- 3. Тромбоксаны. В. Агрегация тромбоцитов, сужение сосудов и бронхов, регуляция уровня цАМФ в тромбоцитах.

3.2. Известно, что аспирин необратимо ингибирует циклооксигеназу.

А. Объясните, почему аспирин в малых дозах может применяться для предотвращения образования тромбов.

Б. У некоторых людей (с генетической предрасположенностью) принятие аспирина может вызвать приступ бронхиальной астмы — так называемую аспириновую астму. Помогут ли данному больному стероидные препараты?

Задание 4. Изучить пути образования кетонных тел в печени и их метаболизм. Обратить внимание на то, что ацетоацетат и β -гидроксибутират образуются в норме в небольших количествах, а ацетон — лишь при значительном накоплении кетонных тел (голодание, сахарный диабет).

4.1. Какие органы в норме используют ацетоацетат в качестве источника энергии?

А. Печень. Б. Сердце. В. Мозг. Г. Скелетная мускулатура.

4.2. Оценить энергетический эффект (в моль АТФ) окисления 1 моль ацетоацетата до CO_2 и H_2O . Расчет записать:

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1.

1.1. Один цикл β -окисления включает четыре последовательные реакции. Выберите правильную последовательность:

А. Окисление, дегидратация, окисление, расщепление.

Б. Восстановление, дегидрирование, восстановление, расщепление.

В. Дегидрирование, гидратация, дегидрирование, расщепление.

Г. Гидрирование, дегидратация, гидрирование, расщепление.

Д. Восстановление, гидратация, дегидрирование, расщепление.

1.2. Известно наследственное заболевание, при котором в скелетных мышцах снижена концентрация карнитина в результате дефекта ферментов, участвующих в его синтезе. Ответьте на вопросы:

А. Как скажется на способности выполнять длительную работу снижение концентрации карнитина?

Б. Под микроскопом в клетках таких мышц видны вакуоли жира. Объясните их происхождение.

Задание 2. Изучив метаболизм жирных кислот, заполните таблицу:

Процессы	β -Окисление	Биосинтез жирных кислот
Локализация процесса в клетке		
Исходный субстрат		
Переносчик субстрата через митохондриальную мембрану		
Коферменты окислительно-восстановительных реакций		
Источник присоединяемого фрагмента или отщепляемый фрагмент		
Регуляторные ферменты		
Регулирующие факторы		
Активаторы		
Ингибиторы		

Задание 3. У пациента обнаружено повышение содержания кетоновых тел в крови. При каких состояниях организма наблюдается кетонемия?

А. При длительной мышечной работе.

Б. При избытке углеводов в пище.

В. При отсутствии жиров в пище.

Г. При голодании.

Д. При нарушении переваривания жиров.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 — (1 – Д; 2 – В; 3 – Г; 4 – А), 2 – А, Г; 3 – Б.

Для самостоятельной работы:

1.1 — 336,5. 1.2 — А.

2.3 — 34 молекулы глюкозы. 2.4 — (1 – Б, Г, Д; 2 – А, В). 2.5 — (А, Г).

3.1 — (1 – Б; 2 – А; 3 – В).

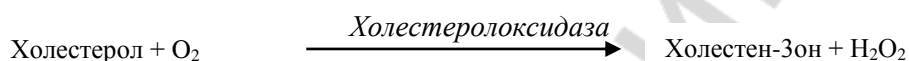
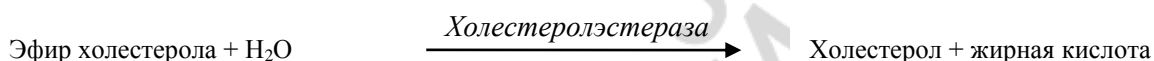
4.1. – Б, Г. 4.2. – 20 АТФ.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. **Определение концентрации холестерина в сыворотке крови ферментативным методом**

Принцип метода. Определение холестерина после его ферментативного гидролиза и окисления. Индикатором является хинонимин, образуемый из перекиси водорода и 4-аминофеназона в присутствии фенола и пероксидазы.



Образующийся продукт имеет розовую окраску. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации холестерина и измеряется фотометрически.

Ход работы. Холестерол определяют в сыворотке крови. Реактивы добавляют по следующей схеме:

Содержимое пробирок	Опытная проба, мл	Стандартная проба, мл
В пробирки вносят:		
Сыворотка крови	0,02	—
Стандартный раствор холестерина	—	0,02
Рабочий раствор ферментов	2,0	2,0
Перемешивают и инкубируют реакционную смесь 5 мин при 37°C или 10 мин при комнатной температуре		

По окончании инкубации измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб на колориметре (длина волны 540 нм) в кюветах с толщиной слоя 5 мм против контроля.

Контрольная проба содержит 2,0 мл рабочего раствора ферментов. Контрольную пробу можно готовить одну на группу.

Для расчета концентрации холестерина используют формулу:

$C \text{ холест. (ммоль/л)} = 5,17 \times (E \text{ опыт.} / E \text{ станд.})$

Результаты: E_{опыт.} = E_{станд.} =

Расчет:

Клинико-диагностическое значение. Норма — 3,9 – 6,2 ммоль/л холестерина в сыворотке крови (150–240 мг%). При нарушении липидного обмена уровень холестерина в крови может увеличиваться. Увеличение уровня холестерина в плазме крови (гиперхолестеролемиа) наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, механической желтухе, нефрите, нефрозе (особенно при липоидных нефрозах), гипотиреозе. Понижение холестерина в крови (гипохолестеролемиа) наблюдается при анемиях, голодании, туберкулезе, гипертиреозе, раковой кахексии, паренхиматозной желтухе, поражении центральной нервной системы, лихорадочных состояниях, при введении инсулина.

Вывод:

Работа 2. *Качественные реакции на ацетон и ацетоуксусную кислоту*

Порядок выполнения работы

1. Проба Легалья на ацетон. Ацетон в щелочной среде дает с нитропруссидом натрия оранжево-красное окрашивание. После подкисления ледяной уксусной кислотой образуется соединение вишневого цвета.

В пробирку вносят 1 каплю мочи, 1 каплю 10% раствора NaOH и 1 каплю свежеприготовленного нитропруссида натрия. Появляется оранжево-красное окрашивание. Добавляют 3 капли ледяной уксусной кислоты, появляется вишнево-красное окрашивание.

6. Реакция Герхардта на ацетоуксусную кислоту. К 5 каплям мочи прибавляют по каплям 5% раствор хлорного железа; при этом выпадает осадок фосфатов в форме FePO₄. При наличии ацетоуксусной кислоты от дальнейшего прибавления хлорного железа появляется вишнево-красное окрашивание. При стоянии окраска бледнеет вследствие самопроизвольного декарбоксилирования ацетоуксусной кислоты. При кипячении процесс протекает очень быстро.

Клинико-диагностическое значение. Гиперкетонемия и кетонурия наблюдаются при сахарном диабете, голодании, гиперпродукции гормонов-антагонистов инсулина.

Результаты:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 14. КОЛЛОКВИУМ ПО ТЕМЕ «ОБМЕН ЛИПИДОВ»

Вопросы для подготовки к коллоквиуму

1. Какие вещества относятся к липидам, простым липидам, сложным липидам, неомыляемым и омыляемым липидам? Структура, физико-химические свойства и функции жирных кислот, природных восков, ацилглицеролов, глицеро- и сфингофосфолипидов, гликолипидов, сульфоллипидов, холестерина. Уметь писать химические формулы ацилглицеролов, фосфатидной кислоты, фосфатидилинозита, фосфатидилхолина, лизолецитина, фосфатидилэтанолamina, фосфатидилсерина, пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот, блок-схемы строения церамида, цереброзидов и ганглиозидов (GM₁), сфингомиелина.

2. Этапы переваривания липидов в желудочно-кишечном тракте. Свойства и функции желчных кислот. Роль таурина и глицина. Ферменты, участвующие в переваривании липидов.
3. Механизмы ресинтеза липидов в энтероцитах (моноацилглицерольный и глицерофосфатный). Реакции ресинтеза триацилглицеролов, фосфолипидов (лецитина), эфиров холестерина. Формирование хиломикрон, их структура и метаболизм.
4. Липопротеины сыворотки крови. Классификация, состав, место образования, взаимопревращения. Роль липопротеинлипазы крови. Лецитин: холестеролацилтрансфераза (ЛХАТ) и ее роль. Уметь оценить вероятные последствия снижения активности липопротеинлипазы, печеночной липазы, ЛХАТ, недостаточности рецепторов для апо В-48/Е, для апо В100.
5. β -Окисление жирных кислот. Уметь писать реакции β -окисления жирных кислот с четным и нечетным числом углеродных атомов, подсчитывать энергетический выход полного окисления отдельных жирных кислот и ацилглицеролов.
6. Какие жирные кислоты подвергаются β -окислению в пероксисомах? Отличие β -окисления в митохондриях и пероксисомах.
7. Регуляторная взаимосвязь β -окисления жирных кислот в клетках и аэробного окисления глюкозы.
8. Синтез триацилглицеролов в печени и жировой ткани, источники жирных кислот и глицерол-3-фосфата. Этапы превращения углеводов в депонируемые липиды (схема). Жировое перерождение печени, причины. Роль липотропных факторов.
9. Мобилизация липидов в жировой ткани, регуляция активности гормончувствительной липазы.
10. Ненасыщенные жирные кислоты, относящиеся к группе незаменимых факторов питания. Пути образования и использования арахидоновой кислоты в клетках.
11. Виды эйкозаноидов, закономерности их действия, функции в организме. Механизм действия противовоспалительных лекарственных препаратов нестероидной природы.
12. Условия, при которых активизируется биосинтез жирных кислот в клетках. Внутриклеточная локализация этого процесса и происхождение исходных субстратов. Образование малонил-КоА. Строение ацилсинтазного комплекса, реакции синтеза жирных кислот, источники НАДФН⁺ для кетоацилредуктазной и еноилредуктазной реакций.
13. Реакции образования β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) и пути использования этого соединения в клетке.
14. Синтез холестерина в клетках (этапы, реакции образования мевалоновой кислоты). Регуляция процесса.
15. Регуляторные механизмы, направленные на защиту клетки от перегрузки холестерином. Поддержание баланса холестерина в клетках и организме.
16. Вероятный механизм участия холестерина в развитии атеросклероза. Происхождение и роль пенистых клеток. Возможные пути снижения концентрации холестерина в плазме крови.
17. Месторасположение действия фосфолипаз А₁, А₂, С и D на структуру фосфолипидов.
18. Понятие «кетонные тела», их химические формулы. Синтез кетонных тел, органная и внутриклеточная локализация процесса, реакции. Роль кетонных тел в организме.
19. Уметь писать реакции включения кетонных тел в процесс энергопродукции, знать органную и внутриклеточную локализацию этого процесса, энергетический выход.
20. Понятие «кетоз», вероятный механизм его происхождения при сахарном диабете, голодании.
21. Центральная роль ацетил-КоА в метаболизме – пути его образования и использования в клетках.

ЗАНЯТИЕ 15. БИОХИМИЯ КРОВИ. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРИДОВ В КРОВИ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЩЕЛОЧНОГО ЗАПАСА ТИТРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ. ОЦЕНКА БУФЕРНЫХ СВОЙСТВ КРОВИ

Актуальность темы

Химический состав крови в определенной степени отражает состояние обмена веществ в организме. Различные заболевания сопровождаются изменением содержания в крови тех или иных веществ. Биохимический анализ крови проводится с целью диагностики и дифференциальной диагностики заболеваний, установления прогноза болезни и оценки эффективности проводимого лечения. На занятии студенты рассматривают основные показатели биохимического анализа крови, закрепляя знания о происхождении веществ крови. Аномальные гемоглобины — одна из причин гипоксии.

Цель занятия

Изучить физико-химические свойства крови, закрепить знания о происхождении компонентов плазмы крови и их физиологических концентрациях, буферных системах крови, строении и функционировании гемоглобина, транспорте газов кровью и механизмах развития гипоксии, диагностическом значении наиболее важных биохимических компонентов крови.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии:*
 - осмотическое и онкотическое давление, водородный показатель, рН крови, буферные системы, титрометрические методы анализа;
- *биоорганической химии:*
 - строение и свойства гемоглобина;
- *нормальной физиологии:*
 - гемоглобин (функции, производные и аномальные формы); общий анализ крови, ацидоз и алкалоз;
- *биологической химии:*
 - особенности метаболизма эритроцитов; пути использования O_2 в клетках; пути образования CO_2 в клетках; происхождение биохимических компонентов плазмы крови.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

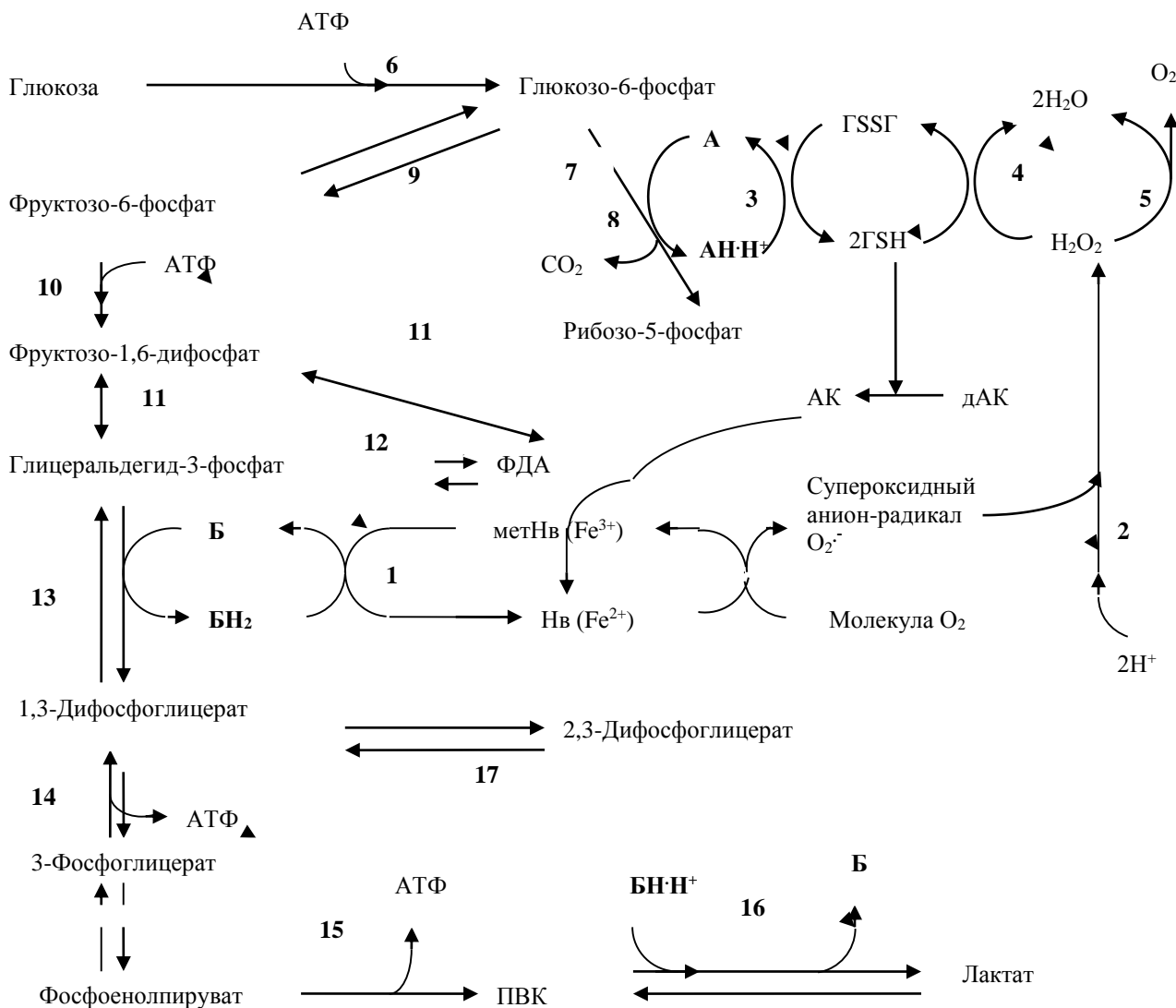
Задание 1. Недостаточность каких ферментов эритроцитов сопровождается их гемолизом?

- А. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Б. Пируваткиназы. Д. Аргиназы.
В. Пируватдегидрогеназы. Г. Изоцитратдегидрогеназы.

Задание 2. В крови новорожденного с четко выраженной синюшностью носогубного треугольника обнаружен повышенный уровень аномального гемоглобина с валентностью железа 3^+ . Как называется этот аномальный гемоглобин?

- А. Метгемоглобин. В. Оксигемоглобин. Д. Гемоглобин S.
Б. Карбоксигемоглобин. Г. Карбгемоглобин.

Задание 3. В схеме метаболизма эритроцитов укажите:



Метаболизм эритроцитов.
 АК — аскорбиновая кислота, дАК — дегидроаскорбиновая кислота,
 А,Б — коферменты; АН·Н⁺, БН·Н⁺ — восстановленные коферменты.

А. Ферменты, обозначенные цифрами 1, 2 и т. д. (варианты ответов: 6-фосфофруктокиназа, гексокиназа, пируваткиназа, альдолаза А, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, триозофосфатизомераза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, дифосфоглицератмутаза, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, фосфогексоизомераза, фосфоглицераткиназа, глицеральдегидфосфатдегидрогеназа, каталаза, супероксиддисмутаза, лактатдегидрогеназа, метгемоглобинредуктаза).

Б. Коферменты, обозначенные буквами А, Б (варианты ответов: НАД⁺, НАДФ⁺).

В. Реакции, обеспечивающие эритроциты АТФ.

Г. Процесс, обеспечивающий эритроциты НАДФН·Н⁺.

Д. Ферменты антиоксидантной защиты.

Е. Аллостерический регулятор, снижающий сродство гемоглобина к кислороду.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Химический состав плазмы крови (физиологические концентрации наиболее важных компонентов плазмы крови и их происхождение). Биохимический анализ крови и его значение в характеристике состояния здоровья человека.

2. Важнейшие буферные системы крови: бикарбонатная, гемоглобиновая, фосфатная, белковая (компоненты и их соотношение, механизм действия, емкость). Представление о нарушениях кислотно-основного состояния (ацидоз, алкалоз).

3. Белки эритроцитов. Строение гемоглобина, гема, глобина; разновидности (нормальные и аномальные) и производные гемоглобина.

4. Дыхательная функция крови. Эритроциты как главный участник транспорта газов кровью (роль гемоглобина и карбангидразы). Обратимое связывание кислорода и углекислого газа как способ транспортировки. Механизмы связывания CO_2 и O_2 с гемоглобином, кооперативное взаимодействие субъединиц гемоглобина, регуляция насыщения гемоглобина кислородом и диссоциации оксигемоглобина (рН, 2,3-дифосфоглицерат, температура). Гипоксия, формы, механизмы развития.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 549–551, 585–598.
2. Конспект лекций.

Дополнительная

3. Биохимия человека : учеб. : в 2 т. / Р. Марри [и др.] ; пер. с англ. Москва : Мир, 1993. Т. 1. С. 52–62.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Повторите и запомните физиологические концентрации химических соединений крови (табл. 1).

Таблица 1

Некоторые биохимические константы крови

Плотность крови (цельной)	1,05–1,06
рН	7,37–7,44
Осмотическое давление	7,6–8,1 атм
Онкотическое давление	0,03–0,04 атм
Глюкоза плазмы (сыворотки)	3,9–6,1 ммоль/л
Общие липиды	3,5–6,5 г/л
Триацилглицеролы	0,85–2,0 ммоль/л
Холестерол	3,9–6,2 ммоль/л
Общий белок сыворотки	65–85 г/л
Альбумин	35–50 г/л
Глобулины	20–35 г/л
Фибриноген	2–4 г/л
Остаточный азот плазмы (сыворотки)	14,3–25 ммоль/л
Мочевина плазмы (сыворотки)	2,5–8,3 ммоль/л
Аммиак крови	6–65 мкмоль/л
Мочевая кислота	0,15–0,5 ммоль/л
Гемоглобин крови:	
мужчины	130–160 г/л
женщины	120–140 г/л (до 150 г/л)
Билирубин плазмы (сыворотки): общий	8,5–20,5 мкмоль/л
прямой	до 5 мкмоль/л
непрямой	до 16 мкмоль/л
Na^+ в плазме	135–150 ммоль/л
K^+ в плазме	3,4–5,6 ммоль/л
Ca^{2+} в плазме (общий)	2,2–2,7 ммоль/л

1.1. Поясните происхождение химических компонентов крови и их биологическую роль.

Задание 2. Знайте механизм функционирования буферных систем крови. Умейте объяснить механизм сопряжения бикарбонатной и гемоглобиновой буферных систем крови.

Задание 3.

3.1. Какие из приведенных утверждений характеризуют гемоглобин человека?

А. Гемоглобин взрослого человека представляет собой смесь, состоящую из гемоглобина А (96–98%), гемоглобина А₂ (2–3%) и гемоглобина F (0,2–1%).

Б. Гемоглобин А содержит по две цепи α и β .

В. Гемоглобин А₂ содержит по две α - и две δ -цепи.

Г. Гемоглобин F содержит по две цепи α и γ .

Д. Гемоглобин F содержит четыре α -цепи.

3.2. Какие из следующих утверждений о структуре гемоглобина верны?

А. Молекула гемоглобина имеет третичную структуру.

Б. Молекула основного гемоглобина взрослого человека состоит из двух идентичных α -субъединиц и двух идентичных β -субъединиц.

В. Субъединица (протомер) гемоглобина состоит из одной полипептидной цепи (глобина) и гема.

Г. Гем — это комплекс протопорфирина со связанным в его центре атомом железа.

Д. Железо гемоглобина остается двухвалентным независимо от присоединения или отдачи кислорода.

Е. В молекуле гемоглобина имеются участки для связывания O₂, CO₂, протонов (H⁺) и 2,3-дифосфоглицерата.

3.3. Какие из следующих утверждений о взаимодействии кислорода и гемоглобина верны?

А. Кислород связывается с молекулой гемоглобина кооперативно.

Б. Кислород связывается с железом гема гемоглобина.

В. Углекислый газ уменьшает сродство гемоглобина к кислороду.

Г. Сродство гемоглобина к кислороду увеличивается при понижении pH и наоборот.

Д. Окись углерода, цианиды конкурируют с кислородом за место связывания в геме гемоглобина.

Е. Диоксид углерода конкурирует с кислородом за место связывания в геме гемоглобина.

3.4. Укажите ошибочное утверждение о 2,3-дифосфоглицерате (2,3-ДФГК):

А. Преобладающий органический фосфат в эритроцитах.

Б. Промежуточный продукт гликолитического пути.

В. В эритроцитах находится в концентрациях приблизительно эквивалентных гемоглобину.

Г. Молекула гемоглобина связывает четыре молекулы 2,3-ДФГК.

Д. Стабилизирует дезоксиформу гемоглобина, способствуя переходу кислорода в ткани.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Определение компонентов какой буферной системы крови используется для диагностики расстройств кислотно-основного состояния?

А. Бикарбонатной (гидрокарбонатной).

Г. Оксигемоглобиновой.

Б. Фосфатной.

Д. Белковой.

В. Гемоглобиновой.

Задание 2. Развитие метгемоглобинемий может быть обусловлено:

А. Отравлением окислителями (нитриты, нитраты, нитрозосоединения, бромиды и др.).

Б. Низким парциальным давлением кислорода.

- В. Наследственным дефектом метгемоглобинредуктазы.
- Г. Аномальной формой гемоглобина (М-гемоглобин и др.).
- Д. Высоким парциальным давлением углекислого газа.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1– А, Б. 2– А. 3– Б: А – НАДФ⁺, Б – НАД⁺; В: фосфоглицераткиназная (14) и пируваткиназная (15) реакции; Г: пентозофосфатный путь; Д: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза; Е: 2,3-дифосфоглицерат..

Для самостоятельной работы:

3.1– А, Б, В, Г. 3.2– Б, В, Г, Д, Е. 3.3– А, Б, В, Д. 3.4– Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. Буферные свойства сыворотки крови

В сыворотке крови функционируют бикарбонатная, белковая и фосфатная буферные системы.

Принцип метода. Титруют 0,1н раствором HCl 1 мл сыворотки крови (1-я пробирка) и 1 мл воды (2-я пробирка) по индикатору бромфеноловому синему (по 1 капле в каждую пробирку) до желтой окраски. Сравнивают результаты титрования.

Результат:

Вывод:

Работа 2. Титрометрический метод определения щелочного запаса крови

Количество всех оснований крови, в том числе связанных с гемоглобином, обозначается щелочным запасом цельной крови. Эта величина не соответствует резервной щелочности крови, т. е. количеству химически связанной плазмой углекислоты при 40 мм ее напряжения, а всегда значительно превышает ее.

Принцип метода. К цельной крови добавляют заведомо большее количество HCl, которая нейтрализует все щелочные компоненты. Избыток кислоты оттитровывают щелочью, заканчивая титрование в точке эквивалентности при pH = 5,0. Это значение pH соответствует изоэлектрическим точкам основных белков крови — альбумина, глобулинов и глобина. В среде, близкой к изоэлектрической точке, белки неустойчивы и легко выпадают в осадок. Поэтому о конце титрования судят по помутнению раствора и выпадению хлопьев белка. Обычно окончание реакции (помутнение) происходит резко с добавлением одной капли щелочи. Щелочной запас крови выражают в миллиэквивалентах щелочи и соответствует количеству связанной основаниями крови HCl в пересчете на один литр крови. Физиологические пределы колебаний щелочного запаса крови — 100–115 мэкв/л.

Ход работы. К 10 мл 0,01нHCl добавляют 0,2 мл крови и тщательно перемешивают. Прозрачный бурый раствор титруют из микробюретки 0,1н NaOH до резко наступающего помутнения. Отмечают количество щелочи, пошедшее на титрование.

Щелочной запас крови рассчитывают по формуле:

$$X(\text{мэкв/л}) = (1 - V_T) \cdot 0,1 \cdot 1000 / 0,2;$$

где 1 — количество HCl, взятой для анализа и выраженной в 0,1н концентрации, мл; V_T — объем щелочи, израсходованный на титрование, мл; 0,1 — количество мэкв в 1 мл щелочи; 0,2 — количество крови, взятое для анализа, мл; 1000 — 1 литр крови.

Результат: $V_T =$

Расчет:

Вывод:

Работа 3. *Количественное определение хлоридов в крови по Левинсону*

Хлор находится в организме в основном в ионизированной форме. Хлорид-ион — главный внеклеточный анион. Анионы хлора — наиболее важные осмотически активные компоненты крови, лимфы, спинномозговой жидкости. Содержание хлора (хлорид-ионов) в сыворотке крови практически здоровых взрослых людей составляет 95–105 ммоль/л. В плазме и сыворотке крови грудных детей концентрация хлорид-ионов в норме равна 80–140 ммоль/л.

Принцип метода. Аргентометрический осадочный метод основан на способности ионов серебра образовывать с ионами хлора нерастворимые соли. Количество осаждающего вещества (AgNO_3) эквивалентно содержанию хлорид-ионов.

Проводят титрование хлорид-ионов крови азотнокислым серебром в присутствии индикатора K_2CrO_4 . По достижении эквивалентной точки титрования избыток ионов серебра образует с индикатором соединение кирпично-красного цвета (Ag_2CrO_4).

Ход работы

1. Осаждение белков крови. В двух пробирках готовят смесь растворов: 5 мл 0,45% ZnSO_4 + 1 мл 0,1н NaOH . Затем в 1-ю пробирку вносят 0,1 мл сыворотки, во 2-ю (контрольную) — 0,1 мл $\text{H}_2\text{O}_{\text{дист}}$. Пробирки нагревают 3 мин над пламенем спиртовки. После этого содержимое пробирок фильтруют в колбочки через вату. Осадок на ватном фильтре промывают два раза водой (по 3 мл).

2. Осаждение ионов хлора в присутствии K_2CrO_4 . К фильтрату приливают 2 капли 1–2% раствора K_2CrO_4 и титруют раствором AgNO_3 до изменения желтого цвета раствора в кирпично-красный.

Для расчета концентрации хлоридов из объема AgNO_3 , пошедшего на титрование опытного раствора ($V_{\text{оп}}$ (мл)), вычитают объем AgNO_3 , пошедший на титрование контроля ($V_{\text{контр}}$ (мл)), и разницу умножают на 0,355, если результат выражают в мг хлора на 0,1 мл крови. Для выражения в мг% полученную величину нужно умножить на 1000. Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/л) — 0,282.

Результат: $V_{\text{оп}} =$ $V_{\text{контр}} =$

Расчет: C (ммоль/л) = $(V_{\text{оп}} - V_{\text{контр}}) \cdot 0,355 \cdot 1000 \cdot 0,282 =$

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 16. БИОХИМИЯ КРОВИ. БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ. СИСТЕМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Актуальность темы

Наряду с определением общего белка плазмы крови важное диагностическое значение имеет выяснение количественных взаимоотношений между отдельными фракциями белков. Тема «Гемостаз. Система свертывания крови» — традиционно сложная для студентов. Знание молекулярных механизмов свертывания крови и фибринолиза важно для врачей-стоматологов для понимания нарушений гемостаза (геморрагий и тромбозов). Кальций является главным минералом по содержанию в организме и выполняет важные биологические функции. На занятии студенты знакомятся с методом количественного определения кальция в крови.

Цель занятия

Понять диагностическое значение определения количественного соотношения белковых фракций и отдельных белков плазмы крови. Получить представление о механизмах гемостаза и изучить функционирование системы свертывания крови.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии:*
 - титрометрические методы анализа;
- *биоорганической химии:*
 - «цитратная кровь»;
- *нормальной физиологии:*
 - гемостаз;
- *биологической химии:*
 - количественное определение белка плазмы крови.

Для проверки исходного уровня знаний ответьте на следующие вопросы:

1. Что понимают под гемостазом? Виды гемостаза.
2. Что такое «цитратная кровь»?

Вопросы для обсуждения

1. Белки плазмы крови. Основные белковые фракции: альбумин, глобулины, фибриноген (содержание, функции); альбумино-глобулиновый коэффициент и его диагностическое значение. Биологическая роль и диагностическое значение некоторых белков плазмы крови (гаптоглобин, трансферрин, церулоплазмин, α_1 -протеиназный ингибитор, α_2 -макроглобулин С-реактивный белок, интерферон, криоглобулины).

2. Ферменты плазмы крови (секреторные, индикаторные, экскреторные) и их диагностическое значение.

3. Представление о гемостазе (определение, структурно-функциональные компоненты, сосудисто-тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз). Система свертывания крови (функциональные звенья и их биологическая роль). Представление о нарушениях функционирования системы свертывания крови.

4. Свертывающая система (компоненты и их происхождение), гемокоагуляция (определение, фазы и их продолжительность, источники тромбопластинов). Внешний и внутренний механизмы свертывания крови.

5. Витамин К (химическая природа, разновидности, природные источники, роль в гемокоагуляции).

6. Антикоагулянтная система, классификация физиологических антикоагулянтов: первичные и вторичные (представители, механизм действия). Представление об искусственных антикоагулянтах.

7. Фибринолитическая система, механизмы фибринолиза. Плазминовая система (компоненты и их происхождение, механизм действия).

8. Представление о коагулограмме (ориентировочные тесты).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биологическая химия / В.К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 551–585.
2. Конспект лекций.
3. Биологическая химия / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 204–210.

Дополнительная

4. Иванов, Е. П. Руководство по гемостазиологии / Е. П. Иванов. Минск : Беларусь, 1991. 304 с.
5. Василькова, Т. В. Молекулярные механизмы гемостаза: учеб. пособие / Т. В. Василькова. Минск : МГМИ, 1999. 57 с.

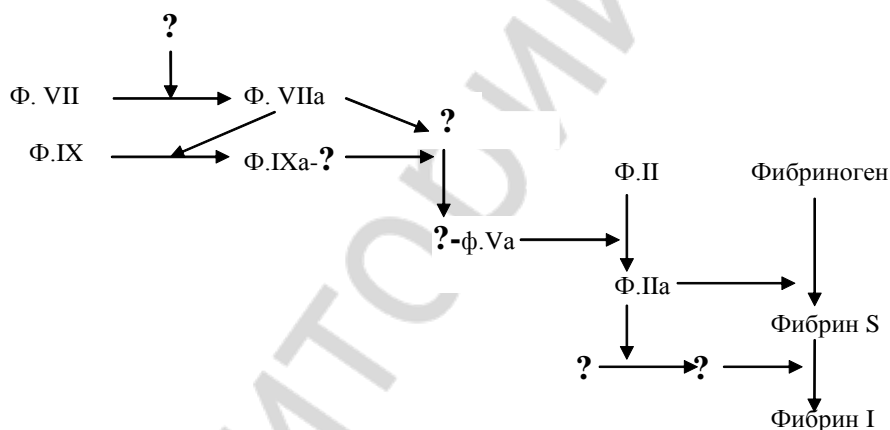
Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Назовите индикаторные ферменты крови и поясните их диагностическое значение.

Задание 2.

5.1. Изучите схему внутреннего пути свертывания крови, запомните активаторы фактора Хагемана.

2.2. На схеме внешнего механизма свертывания крови (см. схему) замените знак вопроса соответствующими факторами.



Внешний механизм свертывания крови

Задание 3. Знайте витамин К-зависимые факторы системы свертывания крови, роль витамина К в их созревании.

Задание 4. Умейте объяснить механизм действия основных физиологических антикоагулянтов.

4.1. Выберите из приведенных физиологических антикоагулянтов:

- | | | |
|---------------|---------------------|--------------------------------------|
| А. Первичные. | 1. Фибрин. | 5. α_2 -Макроглобулин. |
| Б. Вторичные. | 2. Антитромбин III. | 6. Ингибитор пути тканевого фактора. |
| | 3. Гепарин. | 7. Продукты деградации фибрина. |
| | 4. Протеины С и S. | |

Задание 5. Ответьте на вопрос: почему при бактериальных инфекциях, вызванных некоторыми стрептококками, наблюдаются диффузные кровотечения?

Задание 6. Назовите ориентировочные тесты коагулограммы, характеризующие:

- | | |
|--|------------------------------|
| А. Общее состояние свертывания крови. | Г. Антикоагулянтную систему. |
| Б. Состояние отдельных фаз гемокоагуляции. | Д. Систему фибринолиза. |
| В. Посткоагуляционную фазу. | |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Альбумин плазмы крови характеризуются:

- А. Хорошей растворимостью в воде.
- Б. Молекулярной массой около 70000 Да.
- В. Содержит много дикарбоновых аминокислот.
- Г. Не является гликопротеином.
- Д. Содержание в плазме крови в норме составляет 35–50 г/л.

Задание 2. Укажите ошибочное утверждение. Альбумин плазмы крови:

- А. Синтезируется в эритроцитах.
- Б. Сравнительно быстро обновляется.
- В. Играет важную роль в создании онкотического давления.
- Г. Выполняет роль белкового резерва организма.
- Д. Осуществляют транспорт метаболитов (жирных кислот, билирубина, альдостерона, Ca^{2+}) и лекарственных веществ (антибиотиков, сульфаниламидов, салицилатов, барбитуратов, сердечных гликозидов и др.).

Задание 3. Глобулины плазмы крови характеризуются:

- А. Большинство глобулинов — гликопротеины.
- Б. Имеют большую молекулярную массу в сравнении с альбумином.
- В. Многие глобулины — сравнительно гидрофобные белки.
- Г. Выпадают в осадок только в насыщенном растворе сульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.
- Д. Физиологические концентрации глобулинов в плазме крови — 20–35 г/л.

Задание 4. Укажите верные утверждения. Глобулины плазмы крови:

- А. Принимают участие в создании гуморального иммунитета.
- Б. Осуществляют транспорт органических веществ (метаболитов, гормонов, витаминов).
- В. Осуществляют транспорт катионов (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} и др.).
- Г. Являются ингибиторами протеолитических ферментов.
- Д. Играют ведущую роль в создании онкотического давления.

Задание 5. Какие функции выполняют приведенные ниже глобулины крови?

- | | |
|-------------------------------|--|
| 1. Церулоплазмин. | А. Участвует в транспорте железа (Fe^{3+}) по кровеносному руслу. |
| 2. Трансферрин. | Б. Ведущая роль в транспорте меди к тканям. |
| 3. α_2 -Макроглобулин. | В. Обладает оксидазной активностью. |
| 4. Гаптоглобин. | Г. Связывает и транспортирует свободный гемоглобин плазмы крови в клетки ретикулоэндотелиальной системы. |
| | Д. Ингибирует протеолитические ферменты крови (трипсин, химотрипсин, тромбин, плазмин, калликреин). |

Задание 6. Какие из приведенных утверждений характеризуют С-реактивный белок?

- А. Дает преципитат с С-полисахаридом пневмококка.
- Б. Состоит из шести субъединиц с молекулярной массой 23000 Да каждая.
- В. Постоянно в малых количествах содержится в крови практически здоровых людей.
- Г. Концентрация в плазме крови при воспалении или некрозе тканей может увеличиваться в 20–25 раз.
- Д. Является парапротеином.

Задание 7. В процессе тромбообразования внешний и внутренний пути свертывания крови **различаются** на этапе:

- А. Превращения протромбина в тромбин.
- Б. Превращения фибриногена в фибрин.
- В. Образования протромбиназы (активного тромбoplastина крови).
- Г. Ретракции кровяного тромба.
- Д. Превращения плазминогена в плазмин.

Задание 8. Все приведенные утверждения о факторе Хагемана верны, за исключением:

- А. Является сериновой протеазой.
- Б. Активируется калликреином.
- В. Активируется при контакте крови с чужеродной поверхностью (стекло, каолин и др.)
- Г. Активируется тромбоцитарным тромбопластином.
- Д. Активируется тканевым тромбопластином.

Задание 9. Наблюдаемая при наследственной недостаточности фактора XIII повышенная кровоточивость объясняется невозможностью образования стабильного фибринового сгустка. Какова роль плазменной трансглутаминазы (фибриназы) в образовании гемостатического тромба?

- А. Участие в синтезе фибриногена в печени.
- Б. Участие в образовании фибрин-мономера.
- В. Участие в образовании растворимых фибрин-мономерных комплексов.
- Г. Участие в ковалентной сшивке фибриновых молекул.
- Д. Участие в ретракции гемостатического тромба.

Задание 10. Гиповитаминоз К сопровождается повышенной кровоточивостью. Какова роль витамина К в гемокоагуляции?

- А. Необходим для активации свертывающей системы после повреждения сосуда.
- Б. Необходим для одновременного активирования свертывающей и противосвертывающей систем.
- В. Участвует в постсинтетическом созревании II, VII, IX и X факторов свертывания крови.
- Г. Участвует в связывании ионов кальция.
- Д. Участвует в синтезе V и VIII факторов свертывания крови.

Задание 11. Выберите правильные утверждения, характеризующие участие ионов кальция (ф. IV) в гемокоагуляции:

- А. Являются вторичными посредниками в действии ряда гормонов.
- Б. Стимулирование процессов перекисного окисления липидов.
- В. Связывание на тромбопластинах кальций-зависимых факторов свертывания крови (ф. IX, ф. X, ф. VII, ф. II).
- Г. Стабилизация структуры тромбопластинов.
- Д. Активирование некоторых факторов свертывания крови.

Задание 12. Дефицит антитромбина III — частая причина тромбозов. Какова антикоагулянтная роль антитромбина III?

- А. Образование необратимого комплекса с гепарином.
- Б. Ингибирует витамин К-зависимое карбоксилирование остатков глутамата.
- В. Необратимо инактивирует большинство сериновых протеаз свертывающей системы.
- Г. Затрудняет связывание факторов свертывания на тромбопластинах.
- Д. Разрушает V и VIII факторы свертывания крови.

Задание 13. Что определяет противосвертывающую активность гепарина?

- А. Связывает ионы кальция.
- Б. Активирует антитромбин III.
- В. Образует нестабильные комплексы с некоторыми факторами свертывающей системы, выключая их из процесса гемокоагуляции.
- Г. Осуществляет неферментативный фибринолиз.
- Д. Ингибирует витамин К-зависимое карбоксилирование остатков глутамата протеинов С и S.

Задание 14. Выберите те протеолитические ферменты, при действии которых возможно превращение плазминогена в плазмин:

- А. Тканевый активатор плазминогена. Г. α_2 -Антиплазмин.
Б. Урокиназа. Д. α_2 -Макроглобулин.
В. Протеин С (S).

Задание 15. Расположите в правильном порядке события, происходящие при фибринолизе:

- А. Плазминоген осаждается на фибриновых нитях.
Б. Тканевый активатор плазминогена активирует плазминоген.
В. Тканевый активатор плазминогена связывается с фибрином.
Г. Плазминоген превращается в плазмин.
Д. Плазмин гидролизует фибрин.

Ответы к заданиям

Для самостоятельной работы:

4.1– А – 2, 3, 4, 5, 6; Б – 1, 7.

6 – А: 1) время свертывания крови по Ли-Уайту; 2) время рекальцификации; Б: *I фаза*: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), *II фаза*: протромбиновый показатель, международный нормализованный протромбиновый показатель; *III фаза*: 1) количество фибриногена; 2) активность фибриназы; В: 1) ретракция тромба; 2) гематокрит тромба; Г: 1) тромбиновое время (ТВ); 2) толерантность плазмы к гепарину; 3) активность антиромбина III; Д: фибринолитическая активность (спонтанный фибринолиз).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (30 минут)

Инструкция к практическому занятию

Определение содержания кальция в плазме крови

Кальций играет важную роль в осуществлении процессов жизнедеятельности. Он влияет на проницаемость биологических мембран, возбудимость нервов и мышц, участвует в нервно-мышечной проводимости, сокращении и расслаблении мускулатуры (в том числе мышцы сердца), секреторных процессах, формировании костей и хрящей; воздействует на обмен веществ в клетках, является важным фактором гемостаза и посредником действия гормонов в клетке.

Количественное определение кальция в плазме крови имеет важное значение для диагностики ряда заболеваний и при наблюдении за ходом лечения. **В норме концентрация общего кальция в плазме крови — 2,2–2,7 ммоль/л (9–11 мг%).**

Принцип метода. Индикатор хромоген черный ЕТ-00 образует с кальцием соединение фиолетового цвета. При титровании трилоном Б (двухзамещенная натриевая соль этилендиаминотетрауксусной кислоты, образующая прочные комплексы с ионами кальция) такого окрашенного раствора произойдет изменение окраски в синий цвет в эквивалентной точке, соответствующей связыванию трилоном Б всех ионов кальция в растворе.

Ход работы. В колбочку наливают 25 мл H_2O и вносят 1 мл аммиачного буферного раствора. Затем приливают 1 мл исследуемой плазмы крови и 2 капли индикатора хромогена черного. Раствор приобретает фиолетовый цвет. Затем раствор титруют 0,002М раствором трилона Б до синей окраски. По объему трилона Б, пошедшего на титрование, рассчитывают содержание кальция в плазме крови.

$$X = \frac{0,002 \cdot 40,8 \cdot 100 \cdot 0,245 \cdot V_T}{1},$$

где 0,002 — молярность раствора трилона Б; 40,8 — молекулярный вес Са; 100 — коэффициент для пересчета в мг%; 0,245 — коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/л); 1 — объем сыворотки, взятый для анализа; V_T —объем трилона Б, израсходованный на титрование.

Результат: $V_T =$

Расчет:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 17. ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ БЕЛКОВ. АНАЛИЗ ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА

Актуальность темы

Основным поставщиком азота в организме являются аминокислоты. Аминокислоты образуются в процессе протеолиза белков. Распад белков в организме осуществляют протеазы. Существует протеолиз двух типов — тотальный (неограниченный), при котором белки распадаются до аминокислот, и ограниченный (частичный), при котором отщепляется несколько аминокислот. Ограниченный протеолиз имеет регуляторное значение (активация ферментов, гормонов белковой природы, системы свертывания крови, системы комплемента и др.). Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте — это расщепление их до аминокислот. От этого зависит полноценное снабжение организма азотом и незаменимыми факторами питания, к которым относятся незаменимые аминокислоты. В переваривании участвуют соляная кислота и протеазы. Об обмене белков судят по азотистому балансу — разнице между поступившим азотом в составе белков и выделившимся азотом из организма.

Цель занятия

Сформировать представление об общей концепции обмена азота в организме, о белке как главном пищевом источнике азота и аминокислот. Получить представление о молекулярных основах переваривания белков в ЖКТ, особенностях действия различных протеаз и использовании их ингибиторов в клинической практике, всасывании аминокислот и транспорте их в клетки. Научиться применять полученные знания для объяснения причин нарушения усвоения белков пищи. Освоить методы клинического анализа желудочного сока.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биоорганической химии*:
 - строение аминокислот;
 - структурная организация белковых молекул;
- *из биологической химии*:
 - ферменты.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Основными белковыми резервами организма являются:

А. Мышцы. Б. Слизистая кишечника. В. Мозг. Г. Сыворотка крови. Д. Печень.

Задание 2. При исследовании желудочного сока методом гель-фильтрации выделили неактивную форму пепсина с молекулярной массой 42 кДа. После добавления к ферменту соляной кислоты молекулярная масса пепсина уменьшилась до 35 кДа и фермент стал активным. Какой вид регуляции характерен для данного фермента?

- А. Фосфорилирование молекулы фермента.
- Б. Аллостерическая регуляция.
- В. Присоединение или отщепление белков ингибиторов.
- Г. Частичный протеолиз молекулы фермента.
- Д. Регуляция по принципу обратной связи.

Задание 3. Для рассасывания послеоперационных рубцов больному проведен курс электрофореза трипсина. Активация какого типа химических реакций лежит в основе энзимотерапии?

- А. Изомеризации. В. Синтеза. Д. Переноса функциональных групп.
Б. Оксидоредукции. Г. Гидролиза.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Азотистый баланс. Виды азотистого баланса в норме и патологии.
2. Потребность в белках. Биологическая ценность белков.
3. Протеолиз. Роль ограниченного протеолиза в организме.
4. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Общая характеристика протеаз.
5. Роль желудочного сока в переваривании белков. Механизмы образования соляной кислоты в желудке.
6. Всасывание аминокислот, транспорт аминокислот в клетки.
7. Аминокислотный фонд клетки: источники и использование.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 261–267.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 103–106.

Дополнительная

4. *Ленинджер, А. Основы биохимии* / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985. С. 747–750.
5. *Биохимия человека* / Р. Мари [и др.]. Москва : Мир, 1993. С. 286–298.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1.

1.1. Запомните основные этапы переваривания белков:

- А. В желудке.
Б. В просвете тонкого кишечника.
В. «Пристеночное» переваривание.

1.2. Запомните ферменты, участвующие на каждом этапе переваривания белков, и знайте специфичность их действия, рН-оптимум, механизм активации.

1.3. Усвойте, что конечным результатом переваривания белков является образование аминокислот, легко проникающих в клетки слизистой посредством активного транспорта.

1.4. Выберите правильные ответы. Биологическое значение переваривания белков заключается в том, что благодаря этому процессу происходит:

А. Образование набора аминокислот, необходимых для синтеза собственных белков организма и биологически активных соединений.

Б. Отщепление небелковой части сложных белков (липо-, нуклеопротеинов), что облегчает расщепление белковой части молекулы.

В. Образование продуктов, лишенных антигенной специфичности.

Г. Образование продуктов, которые могут легко проникать в клетки слизистой оболочки кишечника.

Задание 2. Ответьте на вопрос. Что является начальной причиной образования активных протеолитических ферментов из проферментов?

- А. Сближение аминокислот, входящих в активный центр.
Б. Изменение вторичной структуры фермента.
В. Образование новых связей в молекуле фермента.
Г. Изменение первичной структуры.
Д. Изменение третичной структуры.

Задание 3. Выберите правильные ответы на вопрос. Что предохраняет секреторные клетки от действия протеаз?

- А. Наличие слизи, содержащей гетерополисахариды.
- Б. Активация фермента только в полости (желудка, кишечника).
- В. Наличие гликопротеинов на наружной поверхности мембран.
- Г. Отсутствие субстратов.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. При острых панкреатитах происходит преждевременная активация проферментов в клетках поджелудочной железы. В результате механического повреждения (сильное сдавливание, травмы) проферменты выходят из клеток и активизируются в самой железе, а не в полости тонкой кишки. Ответьте на вопросы:

- А. Какие ферменты могут активироваться при острых панкреатитах?
- Б. Какие последствия может вызвать такая активация?
- В. Как можно уменьшить разрушительное действие панкреатических протеаз?
- Г. Биохимическим тестом на острый панкреатит в клинической практике служит определение активности α -амилазы в крови больного. Объясните, почему увеличивается активность α -амилазы в крови при остром панкреатите.

Задание 2. При гипоацидном гастрите снижение кислотности желудочного сока вызывает инактивацию пепсина за счет торможения частичного протеолиза молекулы фермента. Изменения какого уровня структурной организации фермента имеют решающее значение при его активации?

- А. Первичной структуры.
- Б. Вторичной структуры.
- В. Третичной структуры.
- Г. Четвертичной структуры.
- Д. Более высокого уровня.

Задание 3. Мужчина направлен в больницу с диагнозом острый панкреатит, при котором вследствие внутриклеточной активации панкреатических ферментов происходит разрушение тканей. Пациенту был назначен препарат контрикал — конкурентный ингибитор панкреатических ферментов. Выберите характерные особенности ингибирования.

- А. Ингибитор является структурным аналогом субстрата.
- Б. Степень ингибирования зависит от концентрации ингибитора.
- В. Структура ингибитора не похожа на структуру субстрата.
- Г. Степень ингибирования зависит от времени действия ингибитора.
- Д. Образование неактивного комплекса ингибитор—субстрат.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний: 1— А, Г, Д. 2— Г. 3— Г.

Для самостоятельной работы: 1.4— А, Б, В, Г. 2— Г. 3— А, Б, В.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. Количественное определение кислотности желудочного сока

Принцип метода. Общую кислотность желудочного сока измеряют в миллилитрах 0,1 н раствора гидроксида натрия, затраченного на нейтрализацию 1000 мл желудочного сока в присутствии индикатора фенолфталеина (зона перехода рН 8,3–10,0; ниже 8,2 — бесцветный, выше 10,0 — красный). В норме общая кислотность для взрослого человека составляет 40–60 ммоль/л, у новорожденных — 2,8 ммоль/л, у детей от 1 месяца до 1 года — 4–20 ммоль/л.

Содержание свободной соляной кислоты в желудочном соке измеряют в миллилитрах 0,1 н раствора гидроксида натрия, затраченного на нейтрализацию 1000 мл желудочного сока в присутствии индикатора диметиламиноазобензола (зона перехода рН 2,9–4,0; ниже 2,9 — розово-красный, выше 4,0 — желтый). Свободная соляная кислота почти вся оттитровывается при рН 3,0; при этом окраска диметиламиноазобензола изменяется от розово-красной до оранжевой. Содержание свободной соляной кислоты в норме составляет 20–40 ммоль/л (у новорожденных — 0,5 ммоль/л).

Определение общей кислотности, свободной соляной кислоты и связанной соляной кислоты проводится в одной порции желудочного сока. Титрование проводят с двумя индикаторами: диметиламиноазобензолом и фенолфталеином.

Ход работы. Отмеривают пипеткой в колбочку 10 мл желудочного сока, добавляют 1 каплю диметиламиноазобензола и 2 капли фенолфталеина. При наличии в желудочном соке свободной соляной кислоты он окрашивается в красный цвет с розовым оттенком, при ее отсутствии сразу появляется оранжевая окраска.

Титруют свободную соляную кислоту 0,1 н NaOH из микробюретки до появления оранжевого окрашивания и результат записывают (1-я отметка). Не добавляя щелочи в бюретку, продолжают титрование до появления лимонно-желтого цвета и результат записывают (2-я отметка). Продолжают титрование до появления розового окрашивания (3-я отметка).

Для расчета содержания свободной HCl используется 1-я отметка (от 0); связанной HCl — разница между 2-й и 1-й отметками; общей кислотности — 3-я отметка (от 0). Расчет проводят по формуле:

$$X \text{ (ммоль/л)} = A \times 1000 \times 0,1 / 10,$$

где A — количество 0,1 н раствора NaOH, пошедшее на титрование, мл; 10 — количество желудочного сока, взятого для титрования, мл; 0,1 — количество мг — экв. щелочи в 1 мл 0,1 н раствора, ммоль; 1000 — пересчет на 1 литр.

Результаты:

	Свободная HCl	Связанная HCl	Общая кислотность
Желудочный сок №1	A ₁ = X (ммоль/л) =	A ₂ = A ₂ – A ₁ = X (ммоль/л) =	A ₃ = X (ммоль/л) =
Желудочный сок №2	A ₁ = X (ммоль/л) =	A ₂ = A ₂ – A ₁ = X (ммоль/л) =	A ₃ = X (ммоль/л) =
Желудочный сок №3	A ₁ = X (ммоль/л) =	A ₂ = A ₂ – A ₁ = X (ммоль/л) =	A ₃ = X (ммоль/л) =

Клинико-диагностическое значение. При заболеваниях желудка кислотность может быть нулевой, пониженной и повышенной. При язвенной болезни желудка или гиперацидном гастрите происходит увеличение содержания свободной соляной кислоты и общей кислотности (гиперхлоргидрия). При гипоацидном гастрите или раке желудка наблюдается уменьшение количества свободной соляной кислоты и общей кислотности (гипохлоргидрия). При раке желудка, хроническом гастрите иногда отмечается полное отсутствие соляной кислоты (ахлоргидрия). При злокачественном малокровии, при раке желудка часто наблюдается полное отсутствие соляной кислоты и пепсина (ахилия).

Вывод:

Работа 2. Обнаружение молочной кислоты реакцией Уффельмана

Молочная кислота относится к патологическим составным частям желудочного сока и обнаруживается при ахлоргидрии вследствие усиления процессов брожения в желудке.

Принцип метода. При добавлении к реактиву Уффельмана, имеющему фиолетовую окраску, патологического желудочного сока появляется желто-зеленое окрашивание вследствие образования лактата железа (положительная реакция Уффельмана).

Ход работы. Готовят в пробирке реактив Уффельмана (20 капель 1%-ного раствора фенола и 2 капли 1%-ного раствора хлорного железа). Добавляют в пробирку 5 капель желудочного сока. При наличии молочной кислоты появляется желто-зеленая окраска.

Результаты:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 18. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Актуальность темы

Поступившие в клетки аминокислоты образуют фонд аминокислот, который пополняется за счет распада пищевых и тканевых белков и аминокислот, образующихся из других веществ. Аминокислоты фонда клетки используются для синтеза белков и других соединений, а также подвергаются индивидуальным превращениям и общим реакциям обмена — дезаминированию, трансаминированию, декарбоксилированию и активации при биосинтезе белков. Реакции дезаминирования приводят к образованию аммиака. Наибольшую роль играет глутаматдегидрогеназная реакция. В ходе реакций переаминирования происходит распад аминокислот, синтез новых аминокислот и обеспечивается взаимосвязь реакций углеводного и белкового обмена. При декарбоксилировании аминокислот образуются биогенные амины — триптамин, серотонин, гистамин, ГАМК, играющие важную роль в организме.

Цель занятия

Усвоить общие пути обмена аминокислот. Получить представление о путях обмена безазотистого остатка аминокислот, о роли аминокислот в образовании важных биологически активных соединений. На примере определения активности аминотрансфераз в сыворотке крови показать значение использования индикаторных ферментов в диагностике, прогнозировании течения заболеваний и оценке эффективности лечения.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биоорганической химии:*
 - строение аминокислот;
 - структурная организация белковых молекул;
- *из биологической химии:*
 - ферменты классов трансфераз, лиаз и оксидоредуктаз; структура коферментов оксидоредуктаз (НАД⁺, НАДФ⁺, ФМН, ФАД).

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Данные врачебного осмотра пожилой женщины, проживающей в доме для престарелых, соответствовали периферической нейропатии. Лабораторные анализы подтвердили недостаточность тиамин. Активность каких процессов снижена при данном гиповитаминозе?

- А. Трансаминирование аминокислот.
- Б. Декарбоксилирование аминокислот.
- В. Окислительное декарбоксилирование α -кетокислот.
- Г. Окислительное дезаминирование аминокислот.

Задание 2. Вспомните классификацию ферментов. Ферменты каких классов участвуют в катализе реакций дезаминирования, переаминирования, декарбоксилирования аминокислот?

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Аминокислотный фонд клетки, источники пополнения и пути использования.
2. Трансаминирование, аминотрансферазы, коферментная функция витамина В₆. Клинико-диагностическое значение определения активности аминотрансфераз сыворотки крови.
3. Пути дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование (ферменты, коферменты). Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты (химизм), значение глутаматдегидрогеназной реакции. Непрямое дезаминирование.
4. Пути использования безазотистого остатка аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Способы синтеза новых аминокислот.
5. Декарбоксилирование аминокислот, ферменты, кофермент. Биогенные амины (триптамин, серотонин, гистамин, γ -аминомасляная кислота), реакции образования, биологическая роль. Катехоламины (дофамин, норадреналин, адреналин), происхождение, биологическая роль. Распад биогенных аминов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 277–281, 286–287, 296–301.
2. *Николаев, А. Я.* Биологическая химия / А. Я. Николаев. Москва : Высшая школа, 1989. С. 308–315.
3. *Конспект лекций.*
4. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 107–112.

Дополнительная

5. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985. С. 571–576.
6. *Марри, Р.* Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993. С. 306–309.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. У мужчины, в течение длительного времени злоупотреблявшего алкоголем, значительно повышен уровень аланинаминотрансферазы крови. Какие биохимические реакции катализирует данный фермент?

- А. Переаминирование.
- Б. Окислительное дезаминирование.
- В. Синтез глутамата.
- Г. Декарбоксилирование.
- Д. Трансметилование.

Задание 2. У больного с инфекционным гепатитом установлено резкое увеличение активности глутаматдегидрогеназы в крови. Укажите витамин, который является коферментом данного энзима:

- А. Никотинамид.
- Б. Тиамин.
- В. Фолиевая кислота.
- Г. Пиридоксин.
- Д. Аскорбиновая кислота.

Задание 3. У больного после перенесенного инфаркта миокарда в течение 2-х суток значительно повышалась активность аспартатаминотрансферазы в крови. Укажите кофермент данного фермента:

- А. НАД⁺.
- Б. ФАД.
- В. НАДФ⁺.
- Г. Пиридоксальфосфат.
- Д. Тиаминпирофосфат.

Задание 4. После эпилептиформного припадка педиатром был осмотрен грудной ребенок, получающий искусственную пищу. У ребенка обнаружен также дерматит. При лабора-

торном обследовании установлено снижение аланин- и аспаргатаминотрансферазной активности в крови. Недостатком какого кофермента обусловлено снижение скорости трансминирования аминокислот?

А. НАД⁺. Б. НАДФ⁺. В. ФАД. Г. Пиридоксальфосфата. Д. Тиаминпирофосфата.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Центральная роль глутаминовой кислоты в промежуточном обмене аминокислот определяется тем, что глутаминовая кислота:

1. Участвует в трансминировании как универсальный донор NH₂-группы.
2. Легко образуется из α-кетоглутаровой кислоты — универсального акцептора аминокислот.
3. Дезаминируется НАД⁺-зависимой глутаматдегидрогеназой.
4. Является заменимой аминокислотой.

Задание 2. При декарбоксилировании каких аминокислот или их производных образуются следующие биогенные амины?

1. Триптамин.
2. Серотонин.
3. Гистамин.
4. ГАМК.
5. Дофамин.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний: 1– В.

Для самостоятельной работы: 1– А. 2– А. 3– Г. 4– Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (80 минут)

Инструкция к практическому занятию

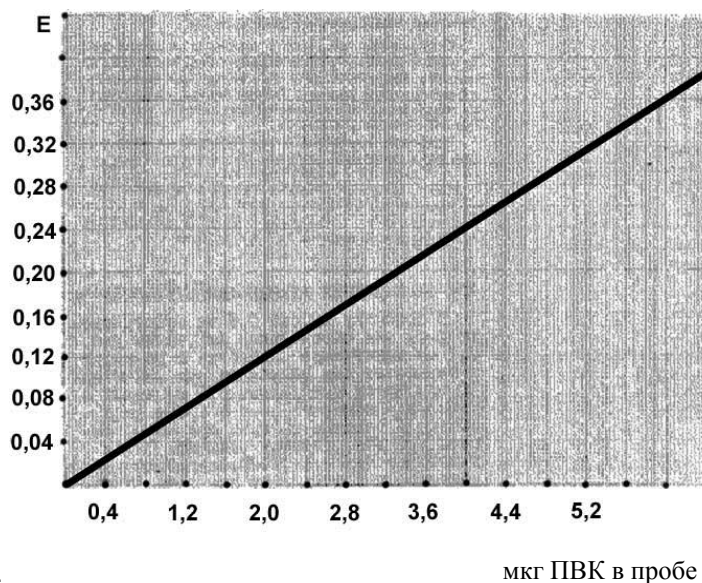
Определение активности аланиновой аминотрансферазы (АлАТ)

Аминотрансферазы (трансминазы) — ферменты, которые используют в качестве кофермента фосфопиридоксаль и катализируют обратимый перенос аминокислоты с аминокислот на кетокислоты. Определение концентрации образующихся α-кетокислот лежит в основе методов определения активности трансминаз.

Принцип метода. В результате переаминирования аланин превращается в пировиноградную кислоту. Добавление кислого 2,4-динитрофенилгидразина останавливает ферментативный процесс. Образовавшийся гидразон пировиноградной кислоты в щелочной среде дает коричнево-красное окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству образовавшегося пирувата.

Активность аминотрансфераз выражают в микромолях пировиноградной кислоты, образованной за 1 час инкубации при температуре 37 °С в расчете на 1 мл сыворотки крови. В норме активность аминотрансфераз в крови невелика и составляет для АсАТ от 0,1 до 0,45 мкмоль/ч · мл, а для АлАТ — 0,1–0,68 мкмоль/ч · мл.

Ход работы. В пробирку вносят 0,5 мл субстратного раствора, затем добавляют 0,1 мл исследуемой сыворотки и инкубируют в термостате 30 мин при 37 °С. Затем приливают 0,5 мл динитрофенилгидразинового раствора и пробы выдерживают 20 мин при комнатной темпе-



ратуре. После этого добавляют 5 мл 0,4н NaOH, тщательно перемешивают и оставляют на 10 минут при комнатной температуре для развития окраски. Оптическую плотность измеряют на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром (530 нм) в кювете с шириной 10 мм против контрольной пробы на реактивы. Контрольная проба содержит все ингредиенты опытной пробы за исключением сыворотки крови, вместо которой берут 0,1 мл дистиллированной воды.

Расчет активности производится по готовому калибровочному графику зависимости концентрации ПВК от оптической плотности окрашенного раствора. Пересчет активности фермента в мкмоль пировиноградной кислоты производят по следующей формуле:

$$\text{АлАТ(мкмоль/ч} \cdot \text{мл)} = a \cdot 10 \cdot 2 / 88,$$

где a — количество пировиноградной кислоты в 0,1 мл сыворотки, найденное по калибровочному графику в мкг; 88 — масса 1 мкмоль пировиноградной кислоты в мкг; 2 — коэффициент перерасчета на 1 час инкубации; 10 — коэффициент перерасчета на 1 мл сыворотки.

Результат: $E =$ $a =$ Расчет:

Клинико-диагностическое значение. Аминотрансферазы относятся к индикаторным ферментам, и определение их активности широко применяется в диагностике заболеваний сердца и печени. При инфаркте миокарда через 4–6 часов наблюдается повышение уровня АсАТ, максимальна ее активность через 24–36 часов. Активность обеих аминотрансфераз, в особенности АлАТ, повышается при инфекционном гепатите. Особенно важна диагностическая ценность определения АлАТ при безжелтушных формах болезни Боткина и в инкубационном периоде.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 19. ПУТИ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ АММИАКА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНОГО АЗОТА КРОВИ И МОЧЕВИНЫ В МОЧЕ

Актуальность темы

Образующийся в процессе метаболизма аммиак является токсичным соединением, в первую очередь для центральной нервной системы. Нарушение процессов его связывания и обезвреживания ведет к гипераммониемии, коматозному состоянию и смерти больного. Знание процессов обезвреживания аммиака необходимо для понимания механизма возникновения гипераммониемии, способов борьбы с ней, а также для своевременной диагностики и лечения врожденных нарушений орнитинового цикла реакций синтеза мочевины. Знакомство с наследственными нарушениями обмена аминокислот необходимо для своевременного выявления этих заболеваний и их лечения.

Остаточный азот крови включает в себя ряд важнейших показателей азотистого обмена. В клинической лабораторной практике определение остаточного азота и его фракций, а также мочевины в моче помогает оценить выделительную функцию почек, степень почечной и печеночной недостаточности.

Цель занятия

Изучить процессы обезвреживания аммиака в организме и возможные механизмы развития гипераммониемии. Приобрести навыки количественного определения остаточного азота крови и мочевины в моче и усвоить диагностическую ценность этих показателей.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии:*

- аммиак и соли аммония как соединения азота;

- *биоорганической химии:*

- мочевина — конечный продукт азотистого обмена в организме человека; структура и свойства мочевины;

- *биологической химии:*

- ферменты классов трансфераз, лиаз, гидролаз, лигаз.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Аммиак в клетке образуется в результате:

А. Реакций дезаминирования аминокислот.

Б. Реакций переаминирования.

Г. Реакций декарбоксилирования аминокислот.

В. Реакций распада биогенных аминов. Д. Непрямого дезаминирования.

Задание 2. Назовите ферменты, катализирующие в организме человека реакции окислительного дезаминирования аминокислот:

А. Оксидаза D-аминокислот.

Г. Глутаматдекарбоксилаза.

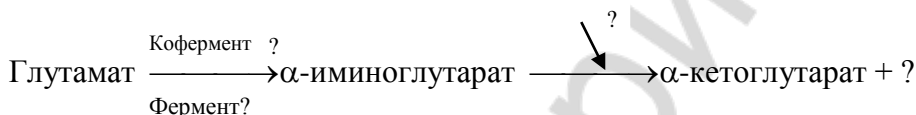
Б. Оксидаза L-аминокислот.

Д. Глутаматдегидрогеназа.

В. Моноаминоксидаза (МАО).

Е. Аланинаминотрансфераза.

Задание 3. Дополните схему реакции окислительного дезаминирования глутамата недостающими компонентами:



А. Глутаматдекарбоксилаза.

Б. Глутаматдегидрогеназа.

В. Аспаратаминотрансфераза.

Г. НАД⁺.

Д. ФАД.

Е. ФМН.

Ж. Н₂O.

З. NH₃.

И. CO₂.

К. NO₂

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Пути связывания аммиака в клетках (восстановительное аминирование α -кетоглутарата, синтез глутамина и аспарагина, образование карбамоилфосфата). Транспортные формы аммиака.

2. Образование солей аммония в почках (источник аммиака, роль глутаминазы и глутаматдегидрогеназы, значение активирования глутаминазы почек при ацидозе).

3. Роль клеток печени в обезвреживании аммиака. Орнитиновый цикл мочевинообразования (схема цикла, субстраты, ферменты, энергетическое обеспечение, связь с лимоннокислым циклом, регуляция). Судьба мочевины. Гипераммониемия, причины.

4. Остаточный азот крови (основные компоненты и их относительное содержание). Клинико-диагностическое значение.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 281–286, 293–296.

2. *Конспект лекций*.

3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 110–111.

Дополнительная

4. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. Москва : Мир, 1985. С. 578–597.

5. *Мак-Мюррей, У.* Обмен веществ у человека / У. Мак-Мюррей. Москва : Мир, 1980. С. 280–300.

Задания для самостоятельной работы

Для закрепления материала необходимо обратить особое внимание на химизм реакций локального обезвреживания аммиака в тканях; на последовательность реакций орнитинового цикла мочевинообразования; на связь орнитинового цикла с лимоннокислым циклом Кребса; на клинико-диагностическое значение определения остаточного азота крови и мочевины в моче.

Задание 1. Подберите соответствующие пары вопрос – ответ:

- | | |
|---|--|
| А. Фермент орнитинкарбамоилтрансфераза (ОКТ). | 1. Участвует в синтезе аргининоянтарной кислоты. |
| Б. Фермент аргиназа. | 2. Участвует в синтезе цитруллина. |
| В. Фермент аргининосукцинатсинтетаза. | 3. Участвует в распаде аргининоянтарной кислоты. |
| Г. Фермент аргининосукцинатлиаза. | 4. Участвует в реакции гидролиза аргинина. |

Задание 2. Назовите ферменты, катализирующие следующие реакции:

1. Образование амида глутаминовой кислоты.
2. Восстановительное аминирование α -кетоглутарата.
3. Гидролиз амида глутаминовой кислоты.
4. Образование амида аспарагиновой кислоты.
5. Образование карбамоилфосфата.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. В клинику поступил больной с повторными рвотами, судорожными припадками, с потерей сознания, вызванным отравлением аммиаком. Выберите причину потери сознания и смерти при высокой концентрации NH_3 в крови:

- А. Снижение концентрации глюкозы в крови.
- Б. Повышение содержания мочевины в крови.
- В. Повышение содержания ацетил-КоА в печени.
- Г. Снижение концентрации АТФ в клетках мозга.
- Д. Повышение содержания глюкозы в крови.

Задание 2. Сколько молей АТФ требуется для синтеза 1 моля мочевины? Какие реакции цикла мочевинообразования идут с затратой АТФ?

Задание 3. Оцените функциональное состояние печени и почек у больных С. и А. с учетом биохимических показателей крови и мочи.

1. У больного С. содержание мочевины в крови 1,8 ммоль/л. С мочой выводится 12 г мочевины в сутки. Потребление белка с пищей — достаточное.

2. Больной А. потребляет в сутки 105 г полноценного белка. Содержание мочевины в крови 14 ммоль/л, с мочой выводится 8,5 г мочевины в сутки.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний: 1 – А, В, Д. 2– А, Б, Д.



Для самостоятельной работы:

1 – А 2, Б 4, В 1, Г 3.

2 – (1 – Глутаминсинтетаза; 2 – Глутамат ДГ ($\text{НАДФН}\cdot\text{H}^+$); 3 – Глутаминаза; 4 – Аспарагинсинтетаза; 5 – Карбамоилфосфатсинтетаза).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (45 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Определение содержания мочевины в моче*

С мочой здорового человека выделяется за сутки 20–35 г или 333–583 ммоль мочевины.

Принцип метода. Метод основан на способности мочевины, содержащей аминогруппы, образовывать с *n*-диметиламинобензальдегидом в кислой среде комплексное соединение, окрашенное в желтый цвет. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации мочевины в исследуемой моче и определяется фотометрически.

Ход работы. Пипетки и пробирки должны быть обязательно сухими.

В три пробирки наливают по 0,2 мл соответственно мочи (опытная проба), стандартного раствора мочевины (25 мг/мл) и воды (контроль на реактивы), добавляют в каждую по 1,2 мл 2% раствора парадиметиламинобензальдегида и тщательно перемешивают. Через 15 мин опытную и стандартную пробы фотометрируют в сухих кюветах толщиной 3 мм с синим светофильтром (440 – 490 нм) против контрольной пробы.

Содержание мочевины в опытной пробе рассчитывают по стандартному раствору мочевины по формуле:

$$C_{\text{оп}} = C_{\text{ст}} \cdot E_{\text{оп}} / E_{\text{ст}},$$

где $C_{\text{оп}}$ — концентрация мочевины в моче в пробе мг/мл; $C_{\text{ст}}$ — концентрация мочевины в стандартной пробе, 25 мг/мл; $E_{\text{оп}}$ — оптическая плотность пробы; $E_{\text{ст}}$ — оптическая плотность стандартного раствора мочевины.

Полученную величину умножают на диурез (1200–1500 мл) и получают суточное содержание мочевины в моче. Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/сут) равен 0,0167.

Результаты: $E_{\text{оп}} =$ $E_{\text{ст}} =$ Расчет:

Клинико-диагностическое значение. Пониженное содержание мочевины в моче отмечается при нефрите, ацидозе, паренхиматозной желтухе, циррозе печени, уремии, повышенное — при голодании, злокачественной анемии, лихорадке, интенсивном распаде белков в организме, после приема салицилатов, при отравлении фосфором.

Вывод:

Работа 2. *Количественное определение остаточного азота*

Азотсодержащие небелковые вещества составляют фракцию остаточного азота плазмы крови (промежуточные или конечные продукты обмена простых и сложных белков). Это мочевина, мочевая кислота, креатин, креатинин, аммиак, индикан, билирубин, полипептиды, аминокислоты и др. Азот этих веществ называют остаточным, поскольку он остается в фильтрате после осаждения белков плазмы крови.

Основной частью остаточного азота крови является азот мочевины — 50 %, затем следует азот аминокислот — 25 % и азот других азотсодержащих компонентов. В норме остаточный азот крови составляет 14,3–25,0 ммоль/л (20–40 мг%); у новорожденных — 42,84–71,40 ммоль/л (60–100 мг%); на 10–12-й день снижается до уровня, определяемого у взрослых.

Принцип метода. Остаточный азот крови определяют в безбелковом фильтрате после осаждения белков плазмы крови различными осадителями (трихлоруксусной кислотой или вольфраматом) с последующей минерализацией безбелкового фильтрата концентрированной серной кислотой. Азот всех исследуемых фракций в виде аммиака связывается с серной кислотой, образуя сульфат аммония, который взаимодействует с реактивом Несслера (щелочной раствор комплексной соли ртути $K_2(HgI_4)$) с образованием соединения желто-оранжевого цвета. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации аммиака, а, следовательно, и азота.

Ход работы. Готовят три обычные пробирки. В одну из них наливают 1 мл готового минерализата и 9 мл воды (опытная проба), в другую вносят 1 мл стандартного раствора

сульфата аммония и 9 мл воды (стандартная проба), а в третью наливают 10 мл воды (контроль). Затем во все пробирки вносят по 0,5 мл реактива Несслера. Фотометрируют опытную (минерализат) и стандартную пробы против контроля при синем светофильтре (440 – 490 нм) в кювете толщиной 5 мм.

Содержание остаточного азота в опытной пробе рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (C_{\text{ст}} \cdot E_{\text{оп}} / E_{\text{ст}}) \cdot 100,$$

где $C_{\text{оп}}$ — концентрация остаточного азота в крови, мг%; $C_{\text{ст}}$ — концентрация азота в стандартной пробе (0,1 мг в 1 мл); $E_{\text{оп}}$ — оптическая плотность опытной пробы (минерализат); $E_{\text{ст}}$ — оптическая плотность стандарта (сульфат аммония).

Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/л) равен 0,714.

Результаты: $E_{\text{оп}} =$ $E_{\text{ст}} =$ Расчет:

Клинико-диагностическое значение. Определение остаточного азота и его фракций используется для диагностики нарушения выделительной функции почек и мочевинообразовательной функции печени. Повышение остаточного азота в крови обозначается термином «азотемия». Азотемия может быть двух видов: абсолютной (накопление в крови компонентов остаточного азота) и относительной (дегидратация организма при рвоте или поносе). Причины абсолютной азотемии могут быть две: ретенционная (почечная) и продукционная (внепочечная). Ретенционная азотемия вызывается задержкой азотистых шлаков при их нормальном образовании и наблюдается при нарушении выделительной способности почек, например при острых и хронических нефритах за счет повышения уровня мочевины в крови. При хронических нефритах стойкая азотемия указывает на развивающуюся недостаточность почек. Продукционная азотемия наблюдается при усиленном распаде белков и преобладании аминокислот, например, при злокачественных новообразованиях. Повышение остаточного азота отмечается при кахексии неракового происхождения, вызванной туберкулезом, диабетом и циррозом печени, при сердечной недостаточности, инфекционных заболеваниях (скарлатине, дифтерии). У недоношенных детей азотемия может быть связана с почечной недостаточностью и усиленным распадом тканевых белков.

Понижение содержания остаточного азота наблюдается при недостаточном питании и иногда при беременности.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 20. КОЛЛОКВИУМ ПО ТЕМАМ «ОБМЕН ПРОСТЫХ БЕЛКОВ», «БИОХИМИЯ КРОВИ»

Вопросы для подготовки к коллоквиуму

1. Азотистый баланс, его состояние в норме и при патологии. Что характеризует коэффициент изнашивания?
2. Биологическая ценность белков. Нормы белка в питании. Незаменимые аминокислоты.
3. Гидролиз белков (протеолиз), виды. Роль ограниченного протеолиза в организме. Общая характеристика протеолитических ферментов.
4. Переваривание белков. Протеазы желудочно-кишечного тракта, место образования, механизм активирования, субстратная специфичность. Образование соляной кислоты в желудке. Роль HCl в переваривании. Всасывание аминокислот. Транспорт аминокислот в клетки.
5. Гниение белков в кишечнике. Обезвреживание токсичных продуктов, образующихся при гниении белков в кишечнике.

6. Кислотность желудочного сока: принцип определения, содержание в норме.
7. Аминокислотный фонд клетки, его пополнение и использование.
8. Переаминирование. Роль витамина В₆. Уметь писать реакции переаминирования с участием аланиновой и аспарагиновой трансаминаз. Знать их диагностическое значение.
9. Виды дезаминирования. Глутаматдегидрогеназная реакция: химизм, коферменты, значение. Непрямое дезаминирование.
10. Пути превращения безазотистого остатка аминокислот. Глюкогенные и кетогенные аминокислоты. Реакции трансаминирования и восстановительного аминирования как способы синтеза новых аминокислот.
11. Механизмы обезвреживания аммиака. Уметь изобразить схему синтеза мочевины, реакции синтеза аспарагина, глутамина и восстановительного аминирования α- кетоглутарата.
12. Остаточный азот, принцип определения. Значение определения мочевины и остаточного азота в клинике.
13. Реакции декарбоксилирования аминокислот, биогенные амины. Уметь написать реакции синтеза серотонина, гистамина, γ-аминомасляной кислоты, знать их роль в организме.
14. Катехоламины, образование и биологическая роль.
15. Основные белки плазмы крови (альбумин, глобулины, фибриноген), их химическая структура, функции и содержание в крови.
16. Биологическая роль и диагностическое значение некоторых белков плазмы крови (гаптоглобин, трансферрин, церулоплазмин, ингибиторы трипсина, С-реактивный белок, интерферон, криоглобулины).
17. Химический состав плазмы крови (физиологические концентрации наиболее важных компонентов плазмы крови и их происхождение). Биохимический анализ крови и его значение в характеристике состояния здоровья человека.
18. Ферменты плазмы крови (секреторные, индикаторные, экскреторные). Диагностическое значение определения активности ферментов плазмы крови.
19. Структура гемоглобина (гем, глобины), разновидности и производные гемоглобина.
20. Общие представления о регуляции кислотно-основного состояния (КОС). Буферные системы крови и их значение. Доказательство буферных свойств сыворотки крови.
21. Механизмы переноса кислорода и углекислого газа кровью. Механизмы развития гипоксических состояний.
22. Представление о гемостазе (определение, структурно-функциональные компоненты, сосудисто-тромбоцитарный и коагуляционный гемостаз).
23. Система свертывания крови (функциональные звенья и их биологическая роль). Фазы гемокоагуляции и их продолжительность. Внешний и внутренний механизмы свертывания крови, схемы.
24. Значение ионов кальция и витамина К в процессах свертывания крови. Антивитамины витамина К и их использование в медицинской практике.
25. Фибринолиз. Биологическая роль. Плазминовая система.
26. Антикоагулянтная система. Первичные и вторичные антикоагулянты.

ЗАНЯТИЕ 21. ХИМИЯ И ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ

Актуальность темы

У взрослого здорового человека наблюдается азотистое равновесие. Поступающий с пищей азот в организме не задерживается и выделяется, главным образом, почками в составе многих продуктов (мочевины, аминокислот, мочевой кислоты и др.). Для изучения состояния азотистого обмена в организме пользуются определением общего азота мочи. В диагностике ряда заболеваний применяют методы определения содержания в моче отдельных азотсодер-

жащих соединений. Например, при врожденных нарушениях обмена аминокислот исследуют содержание отдельных аминокислот или продуктов их метаболизма. Количество мочевой кислоты в моче и крови зависит от поступления нуклеопротеинов с пищей и от интенсивности их клеточного метаболизма. Этот показатель — важный критерий в диагностике и контроле лечения подагры.

Знание механизмов распада и синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, регуляции этих процессов позволило разработать и применить лекарственные препараты, влияющие на процессы деления клеток (например, антифолатов в химиотерапии опухолей), и способствует пониманию механизмов действия препаратов, используемых в коррекции гипонергетических состояний органов (ИМФ (рибоксин), оротат калия и др.).

Цель занятия

Получить представление о катаболизме нуклеопротеинов в тканях и желудочно-кишечном тракте, механизмах биосинтеза и распада нуклеотидов и регуляции этих процессов. Познакомиться с примерами использования этих знаний в диагностике и лечении болезней. Для закрепления теоретического материала провести лабораторную работу по количественному определению мочевой кислоты в моче.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *общей химии*: титрометрические методы анализа;
- *биологии*: строение генетического аппарата клетки;
- *биоорганической химии*:
 - формулы и свойства гетероциклических соединений (пурины, пиримидины);
 - химические свойства и формулы гипоксантина, ксантина, мочевой кислоты;
 - свойства солей мочевой кислоты (уратов);
 - формулы азотистых оснований, нуклеозидов, нуклеотидов.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подберите соответствующие пары вопрос – ответ.

- | | |
|----------------------|---|
| А. Аденозин. | 1. Пиримидиновый нуклеозид. |
| Б. Гуанин. | 2. Азотистое основание пуринового ряда. |
| В. Цитозин. | 3. Пиримидиновый нуклеотид. |
| Г. Уридинтрифосфат. | 4. Азотистое основание пиримидинового ряда. |
| Д. Тимидин. | 5. Пуриновый нуклеозид. |
| Е. Гуанозиндифосфат. | 6. Пуриновый нуклеотид. |

Задание 2. Назовите нуклеотиды, структура которых схематически изображена ниже.

1. Аденин – дезоксирибоза – фосфат – фосфат.
2. Цитозин – рибоза – фосфат.
3. Гуанин – дезоксирибоза – фосфат – фосфат – фосфат.
4. Урацил – рибоза – фосфат – фосфат.

Задание 3. Подберите соответствующие пары вопрос – ответ.

- | | |
|--|---|
| А. Первичная структура ДНК. | 1. Модель «двойная спираль». |
| Б. Вторичная структура ДНК. | 2. 3',5'-фосфодиэфирные связи. |
| В. Для первичной структуры РНК характерны связи. | 3. Последовательность нуклеотидов в полинуклеотидной цепи. |
| Г. Для вторичной структуры ДНК характерны связи. | 4. Водородные связи между азотистыми основаниями. |
| | 5. Силы гидрофобного взаимодействия между выше- и нижележащими азотистыми основаниями |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Мононуклеотиды, строение, номенклатура, биологическая роль.
2. Первичная, вторичная и третичная структуры нуклеиновых кислот (особенности структуры, разновидности, типы стабилизирующих связей).
3. Обмен нуклеопротеинов. Переваривание нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте (значение, этапы, ферменты). Распад нуклеиновых кислот в тканях, роль лизосомных ферментов.
4. Распад пуриновых нуклеотидов (химизм, мочева кислота как конечный продукт катаболизма). Представление о нарушениях пуринового обмена (гиперурикемия и подагра, почечно-каменная болезнь).
5. Биосинтез пуриновых нуклеотидов *de novo* (источники азота и углерода пуринового кольца, участие фолиевой кислоты, основные промежуточные продукты, ключевой фермент, регуляция синтеза). Представление о синтезе нуклеотидов из свободных азотистых оснований и нуклеозидов.
6. Распад пиримидиновых нуклеотидов.
7. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов (субстраты, схемы реакций, ключевой фермент, роль витаминов, регуляция синтеза).
8. Синтез дезоксирибонуклеозиддифосфатов (дНДФ), нуклеозиддифосфатов (НДФ), нуклеозидтрифосфатов (НТФ).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 307–338.
2. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 113–125.
3. *Конспект лекций*.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Выберите положения, правильно характеризующие свойства ксантиноксидазы.

- А. Ее коферментом является производное витамина РР.
- Б. Одним из продуктов реакции является перекись водорода.
- В. Фермент катализирует две последовательные необратимые реакции образования мочево кислоты.
- Г. Субстрат фермента — гипоксантин — имеет меньшую растворимость, чем мочева кислота.
- Д. Фермент обладает абсолютной специфичностью к субстрату.

Задание 2. При обследовании больного ревматизмом после массивной терапии корти-костероидами установлена гиперурикемия. В результате активации какого метаболического процесса развиваются данные нарушения?

- А. Интенсивного распада белков.
- Б. Активации глюконеогенеза.
- В. Интенсивного распада пуриновых нуклеотидов.
- Г. Мобилизации липидов.
- Д. Интенсивного распада пиримидиновых нуклеотидов.

Задание 3. Дополните недостающими компонентами реакции синтеза пуриновых рибо-нуклеотидов.

1. ФРПФ + ? \rightarrow 5 – фосфорибозиламин.
 2. ИМФ + ГТФ + Асп \rightarrow ?
 3. Рибозо-5-фосфат + АТФ \rightarrow ? + АМФ.
 4. ИМФ + АТФ + ? \rightarrow ГМФ.
- А. Глн.
 - Б. АМФ.
 - В. Глу.
 - Г. ФРПФ.
 - Д. АТФ.

Задание 4. Дополните недостающими компонентами реакции синтеза пиримидиновых нуклеотидов.

- | | |
|--|----------|
| 1. Карбамоилфосфат + ? → карбамоиласпартат. | А. ФРПФ. |
| 2. Оротат + ? → ОМФ + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$. | Б. Асп. |
| 3. ОМФ → CO_2 + ? | В. АТФ. |
| 4. УМФ + ? → УДФ + ? | Г. АДФ. |
| 5. УДФ + ? → УТФ + ? | Д. УМФ. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. При терапии некоторых форм рака применяются ингибиторы дигидрофолатредуктазы. Торможение каких реакций определяет цитостатическое действие препарата?

- | | |
|---|------------------------------------|
| А. Синтез тимидиловых нуклеотидов. | Г. Синтез цитидиловых нуклеотидов. |
| Б. Синтез пуринового ядра нуклеотидов. | Д. Синтез дУМФ. |
| В. Синтез дезоксицитидиловых нуклеотидов. | |

Задание 2. Выберите утверждения, которые правильно характеризуют гистоны.

- | | |
|--------------------------------|---|
| А. Синтезируются в цитоплазме. | Г. Содержат много остатков аргинина и лизина. |
| Б. Образуют ядро нуклеосомы. | Д. Имеют высокий отрицательный заряд. |
| В. Входят в состав хроматина. | |

Задание 3. Женщине с лимфолейкозом назначен ингибитор тиоредоксинредуктазы. На чем основано цитостатическое действие препарата?

- | | |
|--|------------------------------|
| А. Ингибируется синтез ИМФ. | Г. Ингибируется синтез дГДФ. |
| Б. Ингибируется синтез оротовой кислоты. | Д. Ингибируется синтез УМФ. |
| В. Ингибируется синтез ЦМФ. | |

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – А 5; Б 2; В 4; Г 3; Д 1; Е 6.

2 – (1 – дезоксиаденозиндифосфат; 2 – цитидинмонофосфат; 3 – дезоксигуанозинтрифосфат; 4 – уридиндифосфат). 3 – А 3; Б 1; В 2; Г 4, 5).

Для самостоятельной работы:

1 – Б, В. 2 – В. 3 – 1 А; 2 Б; 3 Г; 4 А. 4 – 1 Б; 2 А; 3 Д; 4 В, Г; 5 В, Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (30 минут)

Инструкция к практическому занятию

Определение содержания мочевой кислоты в моче

Мочевая кислота у человека является конечным продуктом обмена пуриновых оснований, входящих в состав сложных белков — нуклеопротеинов.

В норме у человека с мочой выделяется мочевой кислоты 1,6–3,54 ммоль/сут (270–600 мг/сут).

Принцип метода. Метод основан на способности мочевой кислоты восстанавливать фосфорно-вольфрамовый реактив в фосфорно-вольфрамовую синь, интенсивность окраски которой пропорциональна содержанию мочевой кислоты. Количество фосфорно-вольфрамовой синей определяется путем титрования красной кровяной солью $\text{K}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Последняя окисляет фосфорно-вольфрамовую синь, и синее окрашивание исчезает.

Ход работы. К 1,5 мл мочи прибавляют 1 мл 20%-ного раствора карбоната натрия и 1 мл фосфорно-вольфрамового реактива Фолина, перемешивают и титруют 0,01 н раствором $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ до исчезновения синего окрашивания.

Содержание мочевой кислоты (в мг) в суточной моче вычисляют по формуле:

$$\text{Мочевая кислота, мг/сут} = 0,8 \cdot a \cdot v / 1,5,$$

где 0,8 мг мочевой кислоты соответствует 1 мл $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; a — количество $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, пошедшее на титрование, мл; v — суточный диурез, мл; 1,5 — объем пробы, мл.

Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/сут) равен 0,0059.

Результат: $a =$ Расчет:

Клинико-диагностическое значение. Гипоурикурия (уменьшение выделения мочевой кислоты с мочой) отмечается при подагре, нефрите, почечной недостаточности; гиперурикурия (увеличение выделения мочевой кислоты с мочой) — при лейкемии, усиленном распаде нуклеопротеинов. У детей выделяется относительно больше мочевой кислоты, чем у взрослых. Выделение мочевой кислоты зависит от содержания пуринов в пище и интенсивности обмена нуклеопротеинов.

При подагре соли мочевой кислоты (ураты) откладываются в хрящах, мышцах и слизистой сумке суставов. Содержание мочевой кислоты в крови может быть повышено, а в моче понижено.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 22. МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ (СИНТЕЗ ДНК, РНК, БЕЛКОВ). СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Актуальность темы

Знание строения нуклеиновых кислот позволяет понять механизмы передачи и реализации генетической информации в клетке, овладеть основами понимания причин наследственных заболеваний и разработать методы их лечения. Нуклеотиды выполняют ряд специфических функций. Некоторые из них используются в качестве лекарственных препаратов.

Цель занятия

Усвоить молекулярные механизмы репликации, транскрипции, трансляции и механизмы их регуляции. Систематизировать эти знания и обсудить возможные механизмы нарушений реализации генетической информации для понимания последствий и подходов к лечению этих нарушений.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить:

- *из курса биологии:*
 - строение клетки;
 - механизмы митоза и мейоза;
- *биоорганической химии:*
 - строение мононуклеотидов;
 - общие принципы пространственной организации нуклеиновых кислот;
 - биологическая роль нуклеиновых кислот.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подберите пары и напишите формулу.

Название	Составные части
А. Гуанозин	1. Рибоза, фосфат, аденин
Б. Адениловая кислота	2. Дезоксирибоза, тимин
В. Уридин	3. Гуанин, рибоза
Г. ДезоксиЦМФ	4. Урацил, рибоза
Д. Тимидин	5. Фосфат, дезоксирибоза, цитозин

А

Б

В

Г

Д

Задание 2. Выберите, что относится: только к ДНК; только к РНК; к ДНК и РНК.

А. Хранение генетической информации.

Б. А, Г, Т, Ц.

В. Цитоплазма.

Г. 3',5'-фосфодиэфирная связь между мононуклеотидами.

Д. Дезоксирибоза.

Е. Реализация генетической информации.

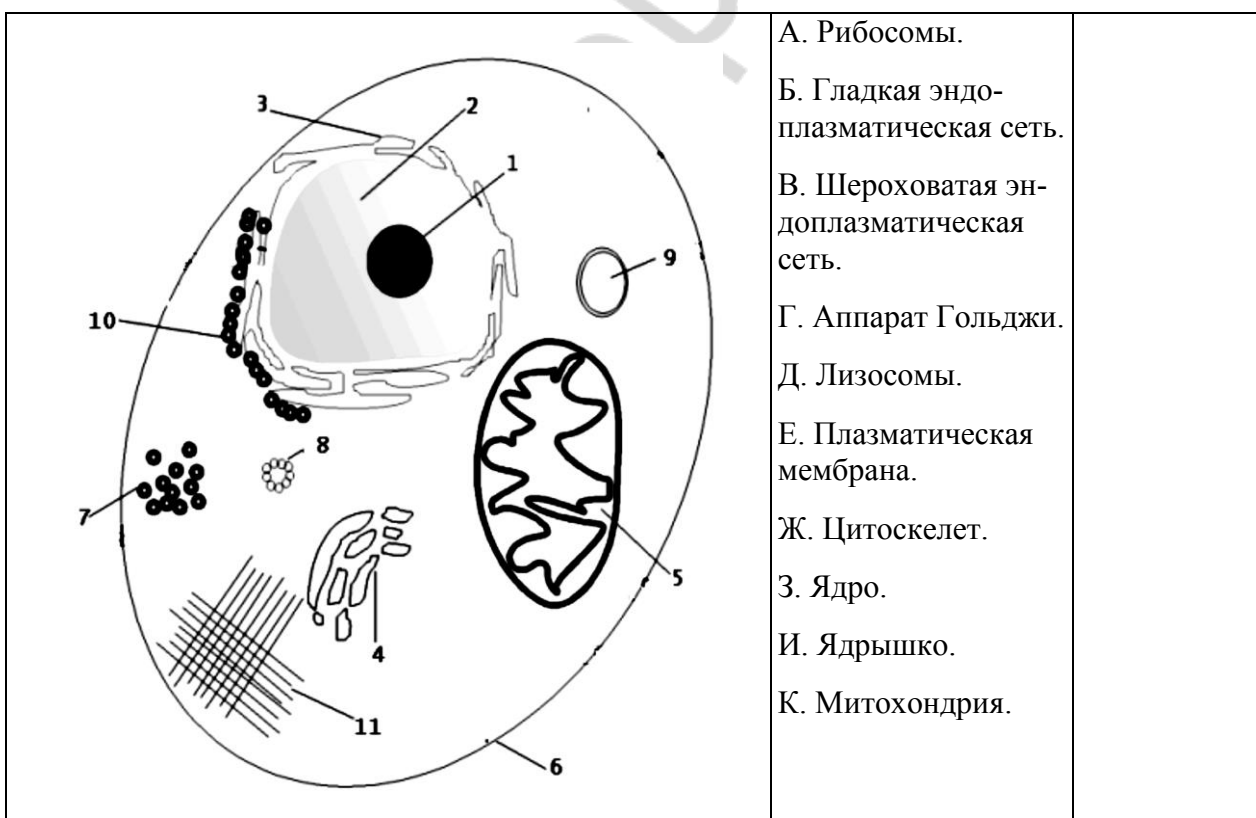
Ж. Рибоза.

З. Ядро.

И. А, Г, У, Ц.

К. Стабильность структуры поддерживается водородными связями.

Задание 3. Пользуясь рисунком (использовать цифру), подберите пары.



Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Репликация, биологическая роль, субстраты, ферменты, молекулярный механизм. Особенности синтеза ДНК у эукариот.
2. Транскрипция, биологическая роль, молекулярный механизм, механизмы регуляции активности генов (схема Жакоба–Моно, схема Георгиева), процессинг РНК.
3. Генетический код и его свойства.
4. Рекогниция и трансляция как этапы реализации генетической информации в клетке. Компоненты белоксинтезирующей системы. Рекогниция (субклеточная локализация, схема, субстратная специфичность АРСаз). Роль тРНК в синтезе белка.
5. Современное представление о биосинтезе белка. Регуляция биосинтеза белка в клетке на генетическом уровне (роль гистонов, гормонов и жирорастворимых витаминов). Посттрансляционная модификация молекул белка (гидроксилирование, гликозилирование, ограниченный протеолиз, фосфорилирование, карбоксилирование).
6. Современные методы молекулярной биологии и их применение (полимеразная цепная реакция, генная инженерия в стоматологии).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 344–373, 379–380, 387–418.
2. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 126–143.
3. *Конспект лекций*.

Дополнительная

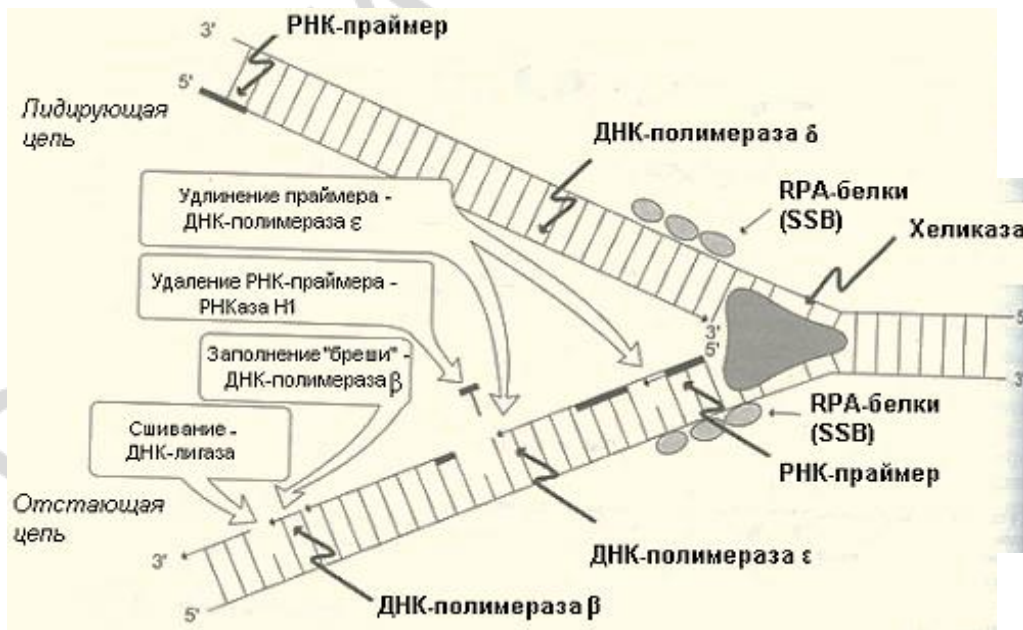
4. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993.
5. *Нуклеопротеины* : учеб. пособие / А. Д. Таганович [и др.]. Минск, 2000. 67 с.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. 1.1. Вспомните, что основная «догма» молекулярной биологии указывает на два основных направления потока генетической информации в клетке:

- А. Хранение и передача информации (репликация и репарация).
- Б. Реализация генетической информации — экспрессия генов (рекогниция, транскрипция и трансляция).

На рисунке показаны основные участники механизма репликации у эукариот.



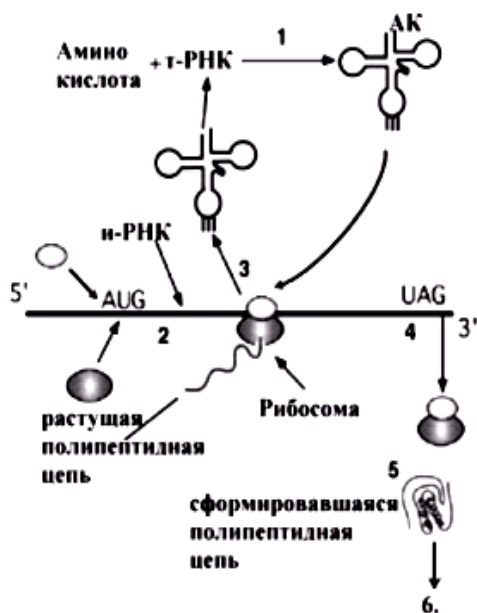
- 3.2. Напишите суммарную реакцию, катализируемую ДНК-полимеразой дел

Задание 2. Выберите утверждения, которые характеризуют процесс транскрипции у эукариот.

- А. РНК синтезируется в ядре.
- Б. РНК-полимераза II требует наличия праймера.
- В. Первичный транскрипт содержит и экзоны, и интроны.
- Г. «Кэпирование» 5'-конца иРНК происходит в цитоплазме и завершает процесс созревания иРНК.

Задание 3. Механизмы реализации генетической информации в клетке многоэтапны. На рисунке изображены основные этапы экспрессии генов. Подберите пары (буква — таблица, цифра — рисунок).

А. Терминация	
Б. Рекогниция	
В. Инициация	
Г. Секреция	
Д. Формирование пространственной структуры	
Е. Элонгация	



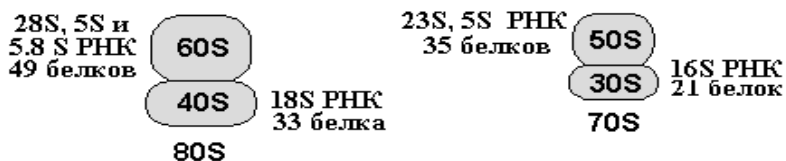
Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Напишите реакцию, катализируемую АРСазой.

Задание 2. Почему $60S+40S=80S$, а $50S+30S=70S$? Выберите правильный ответ.

1. Скорость седиментации зависит от массы частиц.
2. Скорость седиментации зависит от формы частиц.
3. Скорость седиментации зависит от массы и формы частиц.



Задание 3. На рисунке показана схема структуры lac-оперона.



CAP (катаболитами активируемый белок). Этот белок — рецептор цАМФ, уровень которой в клетке определяется уровнем глюкозы (снижение количества глюкозы в питательной среде приводит к повышению уровня цАМФ в клетке). CAP, связанный с цАМФ, присоединяется к ДНК и стимулирует РНК-полимеразу, при этом ее активность увеличивается в 20–50 раз.

Репрессор связан с опероном в отсутствие лактозы.

А. Дополните строку:

промотор — место связывания _____;

оператор — место связывания _____.

Б. Изобразите схематически, используя предлагаемые выше формы для участников, их расположение на опероне при следующих 4-х состояниях. В каком из них будут синтезированы белки, кодируемые опероном?

Компонент среды	1	2	3	4
Лактоза	+	–	–	+
Глюкоза	+	+	–	–

1

2

3

4

Задание 4. Расположите в правильной последовательности этапы проведения ПЦР-диагностики.

А. Денатурация ДНК.

Б. Выделение ДНК из биологического материала.

В. Удвоение ДНК с помощью Таq-полимеразы.

Г. «Отжиг» праймера.

Д. Электрофорез в геле и анализ амплифицированных фрагментов.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – А 3; Б 1; В 4; Г 5; Д 2. **2** – (ДНК – А, Б, Д; РНК – В, Е, Ж, И; ДНК и РНК – Г, К, З).

3 – А 7; Б 3; В 10; Г 4; Д 9; Е 6; Ж 11; З 2; И 1; К 5.

Для самостоятельной работы:

2 – А, В. **3** – А 4; Б 1; В 2; Г 6; Д 5; Е 3.

ЗАНЯТИЕ 23. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

Актуальность темы

Гормоны — молекулы разной химической природы, синтезируемые железами внутренней секреции и/или специальными клетками и выполняющие роль первичных посредников в механизмах передачи сигналов, которыми обмениваются клетки в процессе жизнедеятельности. Сигнальные пути, которые инициируются гормонами, передают информацию внутри клеток к исполнительным системам (ферменты, каналы, процессы синтеза белков и т.д.), что обеспечивает слаженную интегральную ответную реакцию клеток, поддерживая их приспособление к меняющимся условиям во внешней для клеток среде. Нарушение синтеза, секреции, транспорта и рецепции гормонов клетками лежит в основе многообразных эндокринных расстройств. Понимание механизмов таких расстройств — важное условие точной диагностики и целенаправленной терапии эндокринных заболеваний.

Цель занятия

Изучить особенности устройства путей внутриклеточной передачи сигнала в зависимости от химического строения гормонов, и типов гормональных рецепторов. Научиться применять знания о механизме действия индивидуальных гормонов для объяснения расстройств метаболизма при нарушении синтеза, транспорта гормонов и изменениях во внутриклеточных путях передачи сигнала.

Рекомендуемые темы для реферативных докладов

1. Механизм действия стероидных гормонов: внутриклеточная рецепция, взаимодействие с геномом клетки, активация синтеза ферментов.
2. Типы гормональных рецепторов. Механизм рецепции гормонов 1-TMS и 7-TMS рецепторами. Проявления наследственного дефекта рецепторов.
3. Оксид азота: происхождение, регуляторное действие в организме, использование в лекарственной терапии.
4. Газообразные молекулы — участники передачи сигналов
5. Факторы роста, их рецепторы, механизм действия. Значение в межклеточном взаимодействии.
6. Гормоны в практике стоматолога.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *анатомии человека:*
 - анатомию желез внутренней секреции;
- *гистологии:*
 - гистологическое строение желез внутренней секреции и гормоны, синтезируемые ими;
 - АПУД-систему;
 - типы гормональной секреции: эндокринную, нейроэндокринную, пара- и аутокринную;
- *биоорганической химии:*
 - строение и свойства белков и пептидов;
 - холестерол и стероиды — строение и свойства.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подберите соответствующие пары гормон — источник гормона:

- | | |
|--|------------------------|
| А. α -Клетки островков Лангерганса. | 1. Глюкагон. |
| Б. β -Клетки островков Лангерганса. | 2. Минералокортикоиды. |
| В. С-Клетки щитовидной железы. | 3. Глюкокортикоиды. |
| Г. Фолликулярные клетки щитовидной железы. | 4. Инсулин. |
| Д. Сетчатая зона коры надпочечников. | 5. Половые гормоны. |
| Е. Пучковая зона коры надпочечников. | 6. Тиреокальцитонин. |
| Ж. Клубочковая зона коры надпочечников. | 7. Тироксин. |

Задание 2. Выберите правильный ответ: термин «эндокринный» используют если:

- А. Гормон, синтезируемый клеткой, выделяется в окружающую среду и действует на рядом расположенные клетки.
- Б. Гормон, синтезируемый клеткой, выделяется в окружающую среду и действует на клетку, в которой он был синтезирован.
- В. Нейромедиатор, выделяется нейронами в синаптическое пространство.
- Г. Гормон, синтезируемый клеткой, выделяется в кровь и действует на отдаленные от места синтеза клетки.

Задание 3. Какие гормоны секретируются эпифизом?

- | | | |
|---------------|---------------|------------------------------------|
| А. Окситоцин. | В. Статины. | Д. Мелатонин. |
| Б. Либерины. | Г. Серотонин. | Е. Меланоцитостимулирующий гормон. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Классификация гормонов.
2. Особенности синтеза гормонов белково-пептидной природы, стероидной природы, производных липидов.
3. Особенности биологического действия гормонов. Транспорт кровью.
4. Понятие «рецептор гормона». Классификация рецепторов: внутриклеточные рецепторы (ядерные и цитозольные, особенности строения), рецепторы цитоплазматической мембраны (строение 1-ТМС и 7-ТМС-рецепторов).
5. Механизм действия гормонов стероидной, аминокислотной и белково-пептидной природы:
 - Механизм проведения сигнала и развития биологического эффекта с участием внутриклеточных рецепторов.
 - Механизм проведения сигнала и развития эффекта с участием мембранных 7-ТМС рецепторов (классификация G-белков и механизм их функционирования; роль аденилатциклазы и фосфолипазы С; понятие о вторичных посредниках действия гормонов – циклические нуклеотиды, инозитолтрифосфат, Ca^{2+} , диацилглицерол; роль протеинкиназы).
 - Механизм проведения сигнала и развития эффекта с участием мембранных 1-ТМС рецепторов (рецепторная и растворимая гуанилатциклазы, роль оксида азота; рецепторные тирозинкиназы; рецепторы, ассоциированные с тирозинкиназами).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 427–454.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С.144–152.

Дополнительная

4. *Строев, Е. А.* Биологическая химия / Е. А. Строев. Москва : Высшая школа, 1986. С. 370–412.
5. *Маршалл, В.* Клиническая биохимия / В. Маршалл. Санкт-Петербург, 2002. 380 с.
6. *Руководство по клинической эндокринологии* / под ред. Н. Т. Старковой. Санкт-Петербург, 1996. С. 7–10, 201–279, 296–376

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Вспомните, какие гормоны связываются с внутриклеточными рецепторами, а какие — с рецепторами, встроенными в цитоплазматическую мембрану. Обратите внимание, что при патологии рецепторов ткани-мишени теряет чувствительность к гормону (гормон не вызовет соответствующего метаболического ответа).

1.1. В клинику поступил больной в состоянии гипергликемической комы. Введение инсулина не нормализовало концентрацию глюкозы крови. Какую причину гипергликемии можно предположить у больного?

- А. Аномалия клеточных рецепторов.
- Б. Гиперфункция гормонов коры надпочечников.
- В. Истинная гипoinsулинемия.
- Г. Опухоль базофильных клеток гипофиза.
- Д. Опухоль мозгового слоя надпочечников

1.2. У лабораторных животных, подвергшихся действию мутагенного вещества, обнаружили в тканях аденилатциклазу с низкой активностью. К какому гормону будут нечувствительны органы-мишени у этих животных?

- А. Эстрадиолу.
- Б. Тироксину.
- В. Глюкагону.
- Г. Прогестерону.
- Д. Альдостерону.

Задание 2. Вспомните химическую природу гормонов.

2.1. Студенту предложили смоделировать биосинтез адреналина, используя в качестве источника ферментов гомогенат мозгового слоя надпочечников, а в качестве субстрата — одно из нижеперечисленных веществ. Студент не справился с заданием, так как использовал для синтеза:

А. Диоксифенилаланин. Б. Фенилаланин. В. Тирозин. Г. Лизин. Д. Дофамин.

2.2. У больных с опухолью клубочковой зоны надпочечника в три раза увеличивается биосинтез кортизола и кортикостерона и в 70 раз возрастает биосинтез альдостерона. Укажите метаболит, использование которого резко увеличивается:

А. Сукцинил-КоА. Б. Эргостерол. В. Холин. Г. Метионин. Д. Холестерол.

2.3. Какой из нижеперечисленных гормонов не является гликопротеином?

А. Соматотропин. В. Лютеинизирующий гормон.
Б. Тиреотропин. Г. Фолликулостимулирующий гормон.

Задание 3. Вторичными посредниками действия гормонов на клетку являются циклические нуклеотиды, ИФ₃, Ca²⁺, диацилглицерол. Запомните, что цАМФ по своему влиянию на метаболизм клетки является антагонистом цГМФ.

3.1. Больному в течение недели вводили препарат теofilлин — ингибитор фосфодиэстеразы цАМФ. Направленность изменений метаболизма у такого пациента будет подобна действию:

А. Адреналина. В. Альдостерона.
Б. Дезоксикортикостерона. Г. Кортизола. Д. Эстрадиола.

3.2. У больного диагностирована опухоль мозгового слоя надпочечников — феохромоцитома. Уровень какого вторичного посредника будет повышаться при этом заболевании?

А. цАМФ. Б. Простагландины. В. цГМФ. Г. Са-кальмодулин. Д. цГМФ.

3.3. Больной поступил в клинику с гипергликемией в результате развития опухоли, продуцирующей адреналин. С помощью введения каких веществ можно уменьшить интенсивность действия адреналина на органы-мишени?

А. Активаторы фосфодиэстеразы. Г. цГМФ.
Б. цАМФ. Д. Ингибиторы кальциевых каналов.

В. Простагландины.

3.4. Какое из названных соединений не является вторичным посредником в действии гормонов?

А. Диацилглицерол. Б. цАМФ. В. цГМФ. Г. Са²⁺. Д. ГМФ.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте свои знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Внутрядерные рецепторы обнаружены для:

А. Адреналина. В. Мелатонина.
Б. Трийодтиронина. Г. Гормона роста. Д. Серотонина.

Задание 2. Фосфолипаза, расщепляющая фосфатидилинозитолдифосфат на диацилглицерол и инозитолтрифосфат, это:

А. Фосфолипаза А₁. Б. Фосфолипаза А₂. В. Фосфолипаза С. Г. Фосфолипаза D.

Задание 3. Какой из нижеперечисленных гормонов не является стероидом?

А. Кортизол. В. Лактогенный гормон.
Б. Альдостерон. Г. Прогестерон. Д. Дигидроксихолекальциферол.

Задание 4. Какой из нижеперечисленных гормонов не является пептидом?

А. Окситоцин. В. Глюкагон.
Б. Трийодтиронин. Г. Вазопрессин. Д. Тиреолиберин.

Задание 5. G_s-белки стимулируют активность аденилатциклазы, однако это действие кратковременно, что обусловлено:

- А. АТФ-азной активностью α-субъединицы.
- Б. АТФ-азной активностью γ-субъединицы.
- В. Фосфодиэстеразной активностью G_s-белка.
- Г. Фосфолипазной активностью G_s-белка.
- Д. ГТФ-азной активностью α-субъединицы.
- Е. АТФ-азной активностью γ-субъединицы.

Задание 6. Фосфорилирование аминокислот, содержащих ОН-группы, в рецепторах гормонов происходит с участием киназ. Выберите киназы, которые катализируют эти реакции:

- А. Тир-киназа. В. Сер/тре-киназа. Д. Тир/гис-киназа.
- Б. Три/тре-киназа. Г. Тир/сер/тре-киназа. Е. Тир/вал-киназа.

Задание 7. Выберите вторичные посредники действия окситоцина:

- А. Ca²⁺. Б. цАМФ. В. цГМФ. Г. Диацилглицерол. Д. Оксид азота. Е. ИФ₃.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – А 1; Б 4; В 6; Г 7; Д 5; Е 3; Ж 2. 2 – Г. 3 Г, Д.

Для самостоятельной работы:

1.1 – А. 1.2 – В. 2.1 – Г. 2.2 – Д. 2.3 – А. 3.1 – А. 3.2 – А. 3.3 – А, Г. 3.4 – Д.

ЗАНЯТИЕ 24. БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ. ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА, ГИПОФИЗА, КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ, ГОРМОНЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ГОРМОНЫ

Актуальность темы

Железы внутренней секреции продуцируют и выделяют в кровь гормоны, которые влияют на обмен веществ, изменяя функцию всего организма или отдельных органов и систем. Знание молекулярных механизмов влияния гормонов на организм в норме и при патологических состояниях важно для понимания регуляторной роли эндокринной системы, в контроле основных процессов жизнедеятельности человека.

Цель занятия

Закрепить знания о химическом строении, механизмах действия гормонов гипоталамуса, гипофиза, коры надпочечников, щитовидной железы и половых гормонов. Изучить их биологическую роль в норме и при эндокринной патологии.

Требования к исходному уровню знаний

Требования те же, что и к предыдущему занятию.

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

– *биохимии*: — механизмы действия гормонов.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. После взаимодействия с рецептором гормоны стероидной природы:

- А. Активируют мембраносвязанные G-белки Г. Стимулируют аденилатциклазу
- Б. Связываются с гормонреспонсивными элементами ДНК Д. Активируют фосфолипазу С
- В. Генерируют инозитол -1,4,5-трифосфат

Задание 2. Гормон, взаимодействующий с рецепторами с тирозинкиназной активностью, это:

- | | |
|----------------|-----------------------|
| А. Тироксин | Д. Прогестерон |
| Б. Инсулин | Е. Ретиноевая кислота |
| В. Тиреотропин | Ж. Адреналин |
| Г. Вазопрессин | |

Задание 3. Назовите гормоны, взаимодействующие с рецепторами, обладающими свойствами факторов транскрипции:

- | | |
|----------------|----------------|
| А. Тироксин | В. Тиреотропин |
| Б. Кальцитриол | Г. Вазопрессин |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Гормоны гипоталамуса: химическое строение, тип рецептора в клетках-мишенях, каскадный механизм усиления гормонального сигнала, ответ клеток гипофиза на действие либеринов и статинов гипоталамуса.

2. Гормоны аденогипофиза: химическое строение, типы рецепторов в тканях-мишенях, каскадный механизм усиления гормонального сигнала, реализация эффекта гормонов на уровне тканей-мишеней. Роль избыточной и недостаточной секреции гормонов.

3. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы. Химическая природа, механизм действия, влияние на метаболизм. Гипо- и гипертиреоз.

4. Вазопрессин: химическое строение, тип рецепторов в тканях-мишенях, каскадный механизм усиления гормонального сигнала, реализация эффекта вазопрессина на уровне ткани-мишени. Роль избыточной и недостаточной секреции вазопрессина. Несахарный диабет.

5. Гормоны коры надпочечников: химическое строение, предшественник синтеза, тип рецептора в ткани-мишени, реализация эффекта глюкокортикоидов и минералокортикоидов на уровне клетки. Синдром Кушинга. «Бронзовая болезнь».

6. Половые гормоны: химическое строение, предшественник синтеза, реализация эффекта эстрогенов, прогестерона и мужских половых гормонов на уровне клетки. Избыточная и недостаточная секреция половых гормонов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 454–468, 488–510.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С.153–155, 157–159.

Дополнительная

4. *Строев, Е. А.* Биологическая химия / Е. А. Строев. Москва : Высшая школа, 1986. С. 370–412.
5. *Маршалл, В.* Клиническая биохимия / В. Маршалл. Санкт-Петербург, 2002. 380 с.
6. *Руководство по клинической эндокринологии* / под ред. Н. Т. Старковой. Санкт-Петербург, 1996. С. 15–486.
7. *Brook, Ch. G. D.* Essential Endocrinology / Ch. G. D. Brook, N. J. Marshall. BlackwellScience (Oxford), 2001. P. 1–164.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Все приведенное ниже характерно для действия вазопрессина, за исключением:

- А. Взаимодействие с мембраносвязанным рецептором
- Б. Активирование мембраносвязанного гетеротримерного G-белка
- В. Активирование мембраносвязанной аденилатциклазы
- Г. Активирование протеинкиназы G

Задание 2. Соматотропин — это:

- А. Ациклический нонапептид
- Б. Гликопротеин
- В. Циклический нонапептид
- Г. Простой белок
- Д. Производное аминокислоты триптофана

Задание 3. Биологическое действие соматотропного гормона:

- А. Увеличивает уровень глюкозы в крови
- Б. Стимулирует липолиз в жировой ткани
- В. Стимулирует распад гликогена в мышцах
- Г. Снижает уровень глюкозы в крови
- Д. Ингибирует липолиз в жировой ткани

Задание 4. В каких железах синтезируются стероидные гормоны?

- А. Кора надпочечников
- Б. Яички
- В. Щитовидная железа
- Г. Яичники
- Д. Мозговое вещество надпочечников

Задание 5. Какие гормоны синтезируются из холестерина?

- А. Эстрадиол
- Б. Тестостерон
- В. Кортизол
- Г. Прогестерон
- Д. Кальцитриол

Задание 6. В передней доле гипофиза образуются:

- А. Т₃, Т₄
- Б. ПГ-Е₂
- В. АКТГ, СТГ
- Г. ЛТГ, ТТГ
- Д. ФСГ, ЛГ

Задание 7. Причиной несахарного мочеизнурения является недостаток:

- А. Тироксина
- Б. Вазопрессина
- В. Инсулина
- Г. Глюкагона

Задание 8. При недостатке тироксина у детей развивается:

- А. Микседема
- Б. Кретинизм
- В. Синдром Иценко-Кушинга
- Г. Тиреотоксикоз
- Д. Акромегалия

Задание 9. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы действуют через рецепторы:

- А. внутриклеточные ядерные
- Б. внутриклеточные цитоплазматические
- В. 7-ТМС
- Г. 1-ТМС

Задание 10. В мышцах глюкокортикоиды оказывают следующее действие:

- А. активируют протеолиз
- Б. активируют глюконеогенез
- В. ингибируют липолиз
- Г. активируют синтез гликогена

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте свои знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Выберите гормон, который стимулирует синтез рецепторов к апо-В-100?

- А. Эстриол
- Б. Пролактин
- В. Фоллитропин
- Г. Окситоцин
- Д. Прогестерон

Задание 2. Синтез каких гормонов нарушается при болезни Аддисона («бронзовой» болезни)?

- А. Андрогенов
- Б. Эстрогенов
- В. Глюкокортикоидов
- Г. Минералокортикоидов
- Д. Катехоламинов

Задание 3. Выберите эффекты глюкокортикоидов:

- А. Активация липолиза
- Б. Повышение уровня глюкозы в крови
- В. Анаболический — в печени, катаболический — в мышцах
- Г. Подавление воспаления и синтеза антител
- Д. Уменьшение проницаемости клеточных мембран

Задание 4. Укажите проявления гиперпродукции соматотропина у взрослых:

- А. Увеличение размеров конечностей
- Б. Увеличение языка и носа
- В. Увеличение роста
- Г. Слабоумие
- Д. Остеопороз

Задание 5. Выберите метаболические изменения, характерные для гипертиреоза:

- А. Стимулируется липолиз
- Б. Стимулируется липогенез
- В. Разобщается тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование
- Г. Стимулируется распад белков
- Д. Активируется синтез гликогена

Задание 6. Укажите эффекты, характерные для действия кортизола:

- А. Стимулирует мобилизацию гликогена в печени
- Б. Стимулирует глюконеогенез
- В. Стимулирует синтез жиров из углеводов
- Г. Стимулирует мобилизацию гликогена в мышцах
- Д. Стимулирует распад белков в мышцах

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – Б. 2 – Б. 3 – А, Б.

Для самостоятельной работы:

1. – Г. 2 – Г. 3 – А, Б. 4 – А, Б, Г. 5 – А, Б, В, Г, Д. 6 – В, Г, Д. 7 – Б. 8 – Б. 9 – А. 10 – А.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (20 минут)

Инструкция к практическому занятию

Качественные реакции на гормоны

Гормоны щитовидной железы

Щитовидная железа синтезирует и секретирует высокоактивные йодсодержащие тиреоидные гормоны: тироксин (T_4) и 3,5,3'-трийодтиронин (T_3), а также нейодированный гормон (полипептид) тиреокальцитонин, функция которого связана с регуляцией уровня кальция и фосфора в крови.

Работа 1. Качественная реакция на тироксин

Принцип метода. При разрушении тиреоидина образуется йодид калия, из которого йод легко вытесняется йодатом калия. Вытеснение йода из соли йодистоводородной кислоты является окислительно-восстановительной реакцией, где йодид калия служит восстановителем, а йодат калия (остаток йодноватой кислоты) — окислителем. Выделившийся йод обнаруживают с помощью крахмала (синее окрашивание) в кислой среде.

Ход работы. В пробирку наливают 24 капли гидролизата тиреоидина, прибавляют 3 капли 1 % раствора крахмала, 1 каплю фенолфталеина, а затем 4 капли йодата калия и приблизительно 10-15 капель 10 % раствора серной кислоты до обесцвечивания и появления синего окрашивания.

Результат:

Гормоны половых желез

Половые гормоны синтезируются в семенниках, яичниках, плаценте и надпочечниках.

Женские половые гормоны — эстрогены — можно рассматривать как производные эстрадиол (углеводорода с 18 атомами углерода). Основными природными эстрогенами являются эстрадиол, эстрон и гормон желтого цвета — прогестерон.

Мужские половые гормоны — андрогены — можно рассматривать как производные андростана (углеводорода с 19 атомами углерода). К мужским половым гормонам относятся тестостерон и андростерон.

Работа 2. *Качественные реакции на фолликулин*

Принцип метода. Качественная реакция на фолликулин (эстрон) проводится с концентрированной серной кислотой и обусловлена образованием эфирного соединения соломенно-желтого цвета с зеленой флюоресценцией.

Ход работы. С масляным раствором фолликулина реакцию проводят при комнатной температуре. К 2 каплям масляного раствора фолликулина приливают 30 капель концентрированной серной кислоты. Постепенно развивается соломенно-желтое окрашивание.

Результат:

Выводы:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 25. БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ. ГОРМОНЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ. ТЕСТ НА ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ГЛЮКОЗЕ

Актуальность темы

Изменения функционального состояния желез внутренней секреции следует учитывать при обследовании пациентов с любым видом патологии. В одних случаях это может быть основной причиной заболевания, в других — оказывать влияние на его течение. Для диагностики эндокринной патологии пользуются не только определением содержания самих гормонов, но исследуются и изменения биохимических показателей метаболизма. В ряде случаев используются оба подхода, в частности для дифференциальной диагностики метаболического синдрома и сахарного диабета II типа. В диагностике последнего широко используется и метод нагрузки глюкозой.

Цель занятия

Закрепить знания о химическом строении и механизмах действия индивидуальных гормонов. Особое внимание уделить эндокринной патологии поджелудочной железы. Научиться строить и интерпретировать результаты построения различных типов гликемических кривых.

Требования к исходному уровню знаний

Требования те же, что и к предыдущему занятию. Следует также вспомнить из курса биохимии глюкозооксидазный метод определения уровня глюкозы в крови.

Вопросы для обсуждения

1. Инсулин: химическое строение, синтез инсулина, типы рецепторов в тканях-мишенях инсулина, реализация эффекта на уровне клеток.
2. Глюкагон: химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, влияние на обмен веществ.

3. Гормоны мозгового вещества надпочечников: адреналин, норадреналин. Механизм передачи сигнала в клетках мишенях. Биологическая роль.
4. Сахарный диабет, метаболические нарушения при сахарном диабете.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 468–475, 476–488.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С.155–157.

Дополнительная

4. *Строев, Е. А.* Биологическая химия / Е. А. Строев. Москва : Высшая школа, 1986. С. 370–412.
5. *Маршалл, В.* Клиническая биохимия / В. Маршалл. Санкт-Петербург, 2002. 380 с.
6. *Руководство по клинической эндокринологии* / под ред. Н. Т. Старковой. Санкт-Петербург, 1996. С. 15–486.
7. *Brook, Ch. G. D.* Essential Endocrinology / Ch. G. D. Brook, N. J. Marshall. BlackwellScience (Oxford), 2001. P. 1–164.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Какой из этих углеводов даст реакцию Троммера?

- А. Сахароза. Б. Лактоза. В. Фруктоза. Г. Глюкоза. Д. Гликоген.

Задание 2. В поджелудочной железе синтезируются:

- А. Кортизол. Б. Инсулин. В. Адреналин. Г. Глюкагон. Д. Гликоген.

Задание 3. После приема пищи соотношение инсулин/глюкагон в крови:

- А. Увеличивается. Б. Уменьшается. В. Не изменяется.

Задание 4. Адреналин является производным аминокислоты:

- А. Аланина. Б. Дофамина В. Тирозина. Г. Триптофана. Д. Триптамина.

Задание 5. Выберите гормоны, которые являются пептидами:

- А. Адреналин. Б. Глюкагон В. Вазопрессин. Г. Кортизол. Д. Тироксин.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Обратите внимание на то, что полиурия может быть в норме (большое количество выпитой жидкости) и при патологии: сахарный (Diabetes mellitus) или несахарный (Diabetes insipidus) (нейро- и нефрогенный) диабеты. Различить причину полиурии помогает анамнез, определение плотности мочи и данные определения уровня гликемии. Не забывайте, что часто диабет носит скрытый характер и выявить заболевание можно на основании результатов нагрузки глюкозой.

1.1. При обследовании больного на толерантность к глюкозе определен натошак уровень глюкозы в крови 7,0 ммоль/л, через 2 часа после нагрузки глюкозой — 10 ммоль/л. Для какого нарушения регуляции углеводного обмена характерны эти показатели?

- А. Сахарный диабет. В. Гиперинсулинизм
Б. Скрытая форма сахарного диабета. Г. Болезнь Аддисона. Д. Микседема.

1.2. При лабораторном анализе у больного выявлен гипергликемический тип сахарной кривой. При каком заболевании, помимо сахарного диабета, это может быть?

- А. Тиреотоксикозе. В. Инсулиноме.
Б. Болезни Аддисона. Г. Несахарном диабете. Д. Гипотиреозе.

1.3. В клинической лаборатории при анализе мочи в одной из проб определили низкий удельный вес. Какие изменения должны сопутствовать этому показателю?

- А. Креатинурия. В. Кетонурия.
Б. Глюкозурия. Г. Протеинурия. Д. Полиурия.

1.4. У больного — полиурия, моча при этом имеет низкую плотность. Уровень какого гормона в крови нужно определить у больного для уточнения нарушения?

- А. Инсулина. В. Кортизола.
Б. Вазопрессина. Г. Альдостерона. Д. Тиреокальцитонина.

1.5. При профосмотре у женщины выявлена скрытая форма диабета. Лабораторные анализы позволили врачу назначить диетотерапию со сниженным количеством углеводов и увеличением липотропных веществ. Какой основной метаболический эффект достигается такой диетой?

- А. Повышение использования глюкозы на синтез жира в жировой ткани.
Б. Снижение окисления жирных кислот в печени.
В. Повышение использования глюкозы на синтез жира в печени.
Г. Увеличение синтеза фосфолипидов и уменьшение отложения нейтрального жира в печени.
Д. Снижение синтеза фосфолипидов.

Задание 2. Инсулин и глюкагон — антагонисты. Вспомните механизм действия этих гормонов на углеводный и липидный обмены.

2.1. Пациент при лечении голоданием потерял 10 кг веса. Активация какого гормона привела к увеличению скорости катаболизма жиров при голодании?

- А. Инсулин. Б. Соматостатин. В. Глюкагон. Г. Альдостерон. Д. Вазопрессин

2.2. В клинику поступил больной без сознания. В выдыхаемом воздухе был запах ацетона. Какой биохимический показатель указывает на происхождение этого симптома?

- А. Гипергаммаглобулинемия.
Б. Снижение содержания $\text{NH}_2\text{--CO--NH}_2$ в крови.
В. Наличие в моче $\text{CH}_3\text{--CH(OH)--CH}_2\text{--COOH}$.
Г. Снижение удельного веса мочи.
Д. Снижение содержания аминокислот в крови.

2.3. Длительное голодание новорожденного с недостаточностью фосфоенолпируват-карбоксикиназы может стать причиной его смерти. Какие гормоны индуцируют синтез этого фермента?

- А. Глюкагон. Б. Тироксин. В. Инсулин. Г. Кортизол. Д. Альдостерон.

2.4. Подростку, длительно страдающему гипогликемией, ввели глюкагон и не получили ответной реакции на гормон. Исследование ткани печени, взятой при биопсии, выявило дефект фермента. Назовите этот фермент:

- А. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа. В. Фосфогексоизомеразы.
Б. Гексокиназа. Г. Фосфоглюкомутаза. Д. Глюкозо-6-фосфатаза.

2.5. У ребенка 2-го года жизни, страдающего мышечной слабостью, обнаружили увеличенную печень и низкий уровень глюкозы в крови натощак. После введения глюкагона гипергликемия не возникает. Исследование ткани печени, взятой при биопсии, выявило дефект фермента. Назовите этот фермент:

- А. α -Амилаза. В. Гликогенфосфорилаза.
Б. Лактатдегидрогеназа. Г. Гексокиназа. Д. Фруктокиназа.

Задание 3. Соотнесите:

Гормон	Биологический эффект в клетке
1) Инсулин 2) Глюкагон	А. Активирует гликогенсинтазу Б. Ингибирует липазу жировой ткани В. Повышает уровень цАМФ в клетке Г. Активирует гексокиназу Д. Активирует глюкокиназу. Е. Ингибирует пируваткиназу

Задание 4. Выберите гормон, который снижает содержание глюкозы в крови

- А. Инсулин Б. Глюкагон В. Кортизол Г. Тироксин

Задание 5. При недостаточном уровне инсулина резко снижается поступление глюкозы в:

- А. Сердечную мышечную ткань Г. Жировую ткань
Б. Печень Д. Скелетную мышечную ткань
В. Нервную ткань

Задание 6. Гипергликемическим действием обладают гормоны:

- А.Альдостерон В.Глюкагон
Б. Кортикостерон Г.Вазопрессин Д. Инсулин

Задание 7. При заболевании сахарным диабетом нарушается усвоение глюкозы тканями и усиливается распад липидов. В результате дефицита ЦУК нарушается функционирование ЦТК и избыток молекул ацетил-КоА используется на синтез кетоновых тел.

В клинику доставлена больная с сахарным диабетом, у которой при клинико-лабораторном обследовании выявлен ацидоз. Увеличение содержания какого метаболита привело к изменению КОС?

- А. Малоната. В. α -Кетоглутарата.
Б. Оксалоацетата. Г. Ацетоацетата. Д. Аспартата.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте свои знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Выберите эффекты, которые оказывает инсулин в печени:

- А. Стимулирует окисление жирных кислот
Б. Стимулирует гликолиз
В. Стимулирует окислительное декарбоксилирование ПВК
Г. Стимулирует гликогенолиз
Д. Стимулирует глюконеогенез

Задание 2. После приема пищи в печени активируется гликогенсинтаза. Укажите механизм активирования этого фермента под действием инсулина:

- А. Ограниченный протеолиз.
Б. Обратимая ковалентная модификация
В. Аллостерическая регуляция
Г. Изостерическая регуляция.

Задание 3. В жировой ткани при сахарном диабете активируется:

- А. Распад гликогена В. Синтез жирных кислот Д. Гликолиз
Б. Липолиз Г. Синтез кетоновых тел

Задание 4. Содержание какого вторичного посредника увеличивается в клетке при недостаточной выработке инсулина:

- А. Оксида азота В. цГМФ Д. Ионов калия
Б. цАМФ Г. Инозитолдифосфата

Задание 5. Выберите ферменты, которые активируются глюкагоном:

- А. Гликогенфосфорилаза в мышцах Г. ГМГ-КоА-редуктаза
Б. Глюкокиназа в печени Д. Протеинкиназа А
В. Гормон-чувствительная липаза

Задание 6. При анализе мочи у больного обнаружена выраженная глюкозурия. Вспомните, чему равен почечный порог для глюкозы. Укажите уровень гликемии, при котором глюкоза будет экскретироваться с мочой:

- А. 6 ммоль/л. Б. 10 ммоль/л. В. 15 ммоль/л. Г. 40 ммоль/л.

Задание 7. Выберите причину, по которой глюкозурия может отмечаться у больного с нормогликемией:

А. Стресс. Б. Голод. В. Заболевания почек. Г. Тиреотоксикоз.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – Г. 2 – Б, Г. 3 – А. 4 – В. 5 – Б, В.

Для самостоятельной работы:

1.1 – А. 1.2 – А. 1.3 – Д. 1.4 – Б. 1.5 – Г. 2.1 – В. 2.2 – В. 2.3 – А, Б, Г. 2.4 – Д. 2.5 – В. 3.1) – А, Б, Д; 2) – В, Е. 4 – А, 5 – А, Г, Д. 6 – Б, В. 7 – Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Изучение углеводного обмена методом нагрузки глюкозой

Для диагностики сахарного диабета и некоторых патологических состояний (недостаточность функции печени и почек, некоторые эндокринные заболевания, новообразования мозга, поджелудочной железы и надпочечников, гиповитаминоз В₁, некоторые наследственные аферментозы) важно иметь представление о состоянии углеводного обмена у больных, одним из показателей которого является уровень глюкозы в крови. В норме **концентрация глюкозы в сыворотке (плазме) крови взрослого человека составляет 3,9–6,1 ммоль/л.**

Пероральный тест на толерантность к глюкозе (нагрузка глюкозой) позволяет выявить патологию в тех случаях, когда исследование содержания глюкозы в крови натощак не позволяет выявить нарушения обмена веществ.

Показания для проведения теста на толерантность к глюкозе:

- Неоднозначные результаты однократных анализов крови натощак.
- Глюкозурия: панкреатическая и внепанкреатическая (первая связана с недостатком секреции или недостаточностью самого инсулина; внепанкреатическая глюкозурия развивается при поражении других органов внутренней секреции, ЦНС, при эмоциональном стрессе, заболеваниях почек, печени, избытке углеводов в диете, при беременности).
- Клинические признаки сахарного диабета или его осложнений при нормальной концентрации глюкозы крови натощак (скрытые формы диабета).

Проведение нагрузки. *Утром натощак у больного берут кровь из пальца для определения содержания глюкозы, после чего ему дают выпить 200 мл раствора глюкозы (из расчета 1 г глюкозы на 1 кг массы тела) в течение 5 мин. Затем через каждые 30 мин у больного снова берут кровь из пальца (в пределах 2,5–3 ч), и результаты определения содержания глюкозы в этих пробах используют для построения гликемических кривых, откладывая на вертикальной оси значение концентрации глюкозы в каждой пробе, а на горизонтальной — время (мин или ч).*

Клинико-диагностическое значение оценки гликемических кривых. В норме после нагрузки концентрация глюкозы в крови возрастает в течение первого часа на 50–80 %, через 2 часа ее уровень снижается (часто ниже исходного), а через 2,5–3 часа он возвращается к исходному. В случаях нарушения толерантности к глюкозе (НТГ) значительное (до 10,0 ммоль/л) повышение концентрации глюкозы после нагрузки сохраняется более 3 ч.

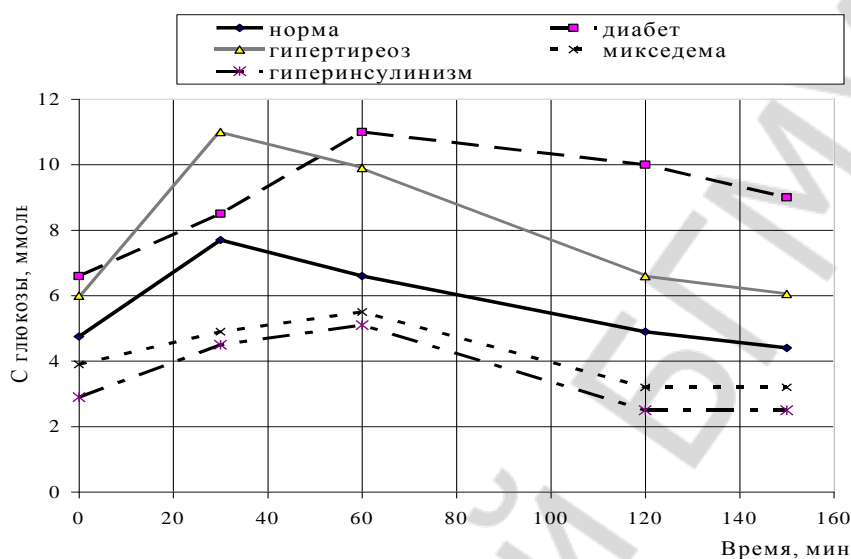
Гликемические кривые у детей имеют такой же характер, что и у взрослых, с тем лишь отличием, что повышение концентрации глюкозы в крови у детей меньшее.

У больных с разными формами диабета нарастание гликемической кривой происходит медленнее, достигая через 60–150 мин значительной величины (более чем в 1,8 раза превышая исходное значение), в большинстве случаев отмечается глюкозурия. Чем тяжелее заболевание, тем позже достигается максимум гликемии и тем он выше. Понижение кривой происходит очень медленно, чаще оно растягивается на 3–4 ч.

Заболеваниям щитовидной железы, связанным с ее гиперфункцией, свойственны гликемические кривые с более быстрым, чем в норме, подъемом, что, возможно, вызвано бо-

лее интенсивным обменом веществ и возбуждением симпатического отдела вегетативной нервной системы.

Для больных с *аденомой островков Лангерганса, гипотиреозом (микседемой), болезнью Аддисона* характерен низкий исходный уровень кривой и низкая ее вершина.



Критерии ВОЗ для постановки диагноза «сахарный диабет» и «нарушение толерантности к глюкозе»

Гликемические кривые при однократной нагрузке глюкозой в норме и при некоторых патологических состояниях

Сахарный диабет	Натощак	> 6,7
	2 ч после нагрузки глюкозой	> 10,0
Нарушение толерантности к глюкозе	Натощак	< 6,7
	2 ч после нагрузки глюкозой	6,7–10,0

Ход работы. В пробах для анализа № 1–6 определите содержание глюкозы (см. Инструкцию к практическому занятию № 9 «Определение глюкозы в крови глюкозооксидазным методом»). В пробирке № 1 — сыворотка крови, взятой натощак, в пробирках № 2–6 — взятой через каждые 30 минут после нагрузки глюкозой. На основании полученных данных постройте кривую. Проанализируйте гликемическую кривую, запишите выводы.

Результаты: $E_{\text{станд.}} =$

		0 мин	30 мин	60 мин	90 мин	120 мин	150 мин
Пациент 1	$E_{\text{оп.}}$						
	С глюкозы (ммоль/л)						
Пациент 2	$E_{\text{оп.}}$						
	С глюкозы (ммоль/л)						

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 26. КОЛЛОКВИУМ ПО ТЕМАМ «ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ», «БИОСИНТЕЗ ДНК, РНК И БЕЛКА», «ГОРМОНЫ»

Вопросы для подготовки к коллоквиуму

1. Нуклеотиды: строение и функции. Знать номенклатуру и уметь писать формулы азотистых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов; изображать образование 3'-5'-фосфодиэфирной связи между нуклеотидами.
2. Особенности строения ДНК и РНК на уровне первичной, вторичной и третичной структуры (строение нуклеосом).
3. Переваривание нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте.
4. Пути реутилизации азотистых оснований и нуклеозидов в клетке.
5. Конечные продукты распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Реакции образования мочевой кислоты. Гиперурикемия: причины и последствия.
6. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов de novo: субстраты, ключевые ферменты, основные промежуточные продукты. Регуляция синтеза. Роль витаминов.
7. Применение в медицине синтетических структурных аналогов нуклеозидов и фолиевой кислоты.
8. Образование дезоксирибонуклеотидов для синтеза ДНК (схема).
9. Репликация. Субстраты, ферменты, механизм. Особенности у эукариот.
10. Транскрипция. Ферменты, субстраты, механизм, особенности у эукариот, регуляция.
11. Генетический код и его характеристика.
12. Рекогниция и собственно трансляция как этапы биосинтеза белка в клетке (роль тРНК, АРСазы, строение рибосом и общие принципы механизма трансляции, источники энергии для биосинтеза белка, регуляция).
13. Виды посттрансляционной модификации белков.
14. Современные методы молекулярной биологии и их применение в медицинской практике (ПЦР, генная инженерия в стоматологии).
15. Гормоны. Химическая природа, классификация. Свойства гормонов. Особенности биологического действия.
16. Рецепторы к гормонам, классификация, строение мембранных рецепторов.
17. G-белки, их роль в механизме действия гормонов, связывающихся с мембранными рецепторами.
18. Эффекторные системы и вторичные посредники проведения гормонального сигнала в клетку. Механизмы образования вторичных посредников, роль протеинкиназ.
19. Гормоны — белки: простые и сложные. Место образования, пример молекулярного действия.
20. Гормоны — производные аминокислот, места образования, механизмы молекулярного действия.
21. Общие принципы синтеза гормонов белково-пептидной природы.
22. Общие принципы синтеза гормонов стероидной природы.
23. Гормоны гипоталамуса. Химическая природа, регуляция секреции. Механизм действия.
24. Вазопрессин: химическая природа, механизм действия. Влияние на метаболизм.
25. Перечислить гормоны передней доли гипофиза. Гормон роста, механизм действия, влияние на метаболизм.
26. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы. Химическая природа, механизм действия, влияние на метаболизм.
27. Глюкагон. Химическая природа, механизм действия, влияние на метаболизм углеводов и липидов.
28. Гормоны мозгового вещества надпочечников. Химическая природа, механизм действия. Влияние на метаболизм.

29. Гормоны коры надпочечников: глюко- и минералокортикоиды. Химическая природа, особенности строения рецепторов, механизм действия, влияние на метаболизм.

30. Половые гормоны, химическая природа, особенности строения рецепторов, механизм действия. Роль половых гормонов в обмене белков и липидов.

31. Инсулин. Химическая природа, строение рецепторов, механизмы передачи гормонального сигнала. Влияние на метаболизм углеводов, липидов, белков. Сахарный диабет.

ЗАНЯТИЕ 27. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. РОЛЬ БЕЛКОВ ЖИРОВ, УГЛЕВОДОВ, ВИТАМИНОВ. ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С В МОЧЕ

Актуальность темы

Использование пищи живыми организмами обозначается термином «питание». Различают три важнейших категории или составных компонента пищи:

1) питательные вещества — источники энергии и пластического материала (белки, жиры, углеводы);

2) микрокомпоненты пищи (витамины и минеральные соединения, необходимые для биохимических процессов);

3) волокнистые структуры (неперевариваемые полисахариды, необходимые для нормального функционирования пищеварительной системы).

Осуществление теми или иными компонентами пищи, в том числе незаменимыми факторами питания, своих функций в организме происходит через биохимические превращения. Понимание того, каким образом различные компоненты пищи вовлекаются в них, поможет осмыслить необходимость и суть сбалансированного питания, своевременно распознавать и активно действовать при встречающемся в клинической практике состоянии недостаточного питания. Дефицит любого витамина ведет к появлению специфических нарушений реакций обмена с характерными клиническими проявлениями. Знание коферментных функций витаминов в организме позволяет понять механизмы развития и профилактики гипо- и авитаминозов и использовать витамины с профилактической и лечебной целью.

Цель занятия

Закрепить знания по химической структуре и молекулярным механизмам биологического действия коферментных форм витаминов, вовлечению в метаболизм других незаменимых факторов питания. Сформировать представление о биохимических механизмах использования компонентов пищи для поддержания нормальной жизнедеятельности организма, о патологических состояниях недостаточного питания. Познакомить студентов с методами обнаружения витаминов и их количественного определения в биологическом материале.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биоорганической химии:*
 - строение и свойства гетероциклических соединений — пурина, пиримидина, тиазола, пиррола, порфирина, парааминобензойной кислоты, никотиновой кислоты, пиридина;
 - биологически активные гетерофункциональные соединения бензольного и гетероциклического рядов;
- *биологической химии:*
 - коферменты и их роль в процессах метаболизма;
 - коферментные формы водорастворимых витаминов и их участие в метаболизме;
 - пути метаболизма белков, жиров, углеводов в клетках.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Какие из нижеследующих выражений относительно панкреатических ферментов правильные?

- А. Они секретируются в виде неактивных проферментов.
- Б. Все они активируются энтерокиназой.
- В. Все они секретируются в ответ на холецистокинин.
- Г. Для оптимальной активности им требуется рН около 7.
- Д. Они важны только для переваривания белков.

Задание 2. Какие из нижеследующих выражений верны?

- А. Действие адреналина и глюкагона направлено на увеличение уровня гликогенфосфоорилазы.
- Б. Интенсивность расщепления гликогена натошак равна интенсивности его синтеза.
- В. Дефосфорилирование гликогенсинтазы в ответ на действие инсулина приводит к увеличению её активности.
- Г. цАМФ — это вторичный посредник, который образуется в ответ на действие адреналина и глюкагона в печени.
- Д. Фосфорилирование гликогенфосфоорилазы в ответ на действие глюкагона увеличивает её активность.

Задание 3. Какова функция гормон-чувствительной липазы в жировой ткани?

- А. Гидролизует гормон, который участвует в расщеплении жира.
- Б. Синтезирует новые жировые клетки из простых жирных кислот.
- В. Гидролизует триацилглицеролы с образованием жирных кислот для других клеток.
- Г. Синтезирует длинноцепочечные жирные кислоты для синтеза липидов в других клетках.

Задание 4. Лабораторный анализ после гидролиза вещества выявил в гидролизате аденин, рибозу и фосфорную кислоту. Какова структура исходного вещества?

- А. Пептид. Б. Нуклеозид. В. Мононуклеотид. Г. Пентозофосфат. Д. Олигосахарид.

Задание 5. Вспомните, что водорастворимые витамины принимают участие в процессах метаболизма после их активации в клетках, т. е. превращения в коферментную форму.

5.1. Объясните, чем руководствовался врач, заменив больному нейродермитом пиридоксин на пиридоксальфосфат.

5.2. Подберите соответствующие пары витамин – кофермент:

- | | |
|-----------------------|--------------------------------------|
| А. НАД ⁺ . | 1. Производное пиридоксина. |
| Б. ТПФ. | 2. Производное рибофлавина. |
| В. NS-КоА. | 3. Производное тиамина. |
| Г. ФАД. | 4. Производное никотиновой кислоты. |
| Д. ПФ. | 5. Производное пантотеновой кислоты. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Пищевая ценность белков, жиров, углеводов. Роль волокнистых полисахаридов для работы пищеварительного тракта и обменных процессов в организме. Незаменимые факторы питания.

2. Водорастворимые витамины: тиамин (В₁), рибофлавин (В₂), пантотеновая кислота, РР (никотиновая кислота), пиридоксин (В₆), фолиевая кислота (В₉), кобаламин (В₁₂), биотин, аскорбиновая кислота (С). Коферментные формы, биологическая роль. Признаки гиповитаминоза, суточная потребность, пищевые источники.

3. Витаминоподобные вещества: биофлавоноиды (витамин Р), парааминобензойная кислота, инозитол, липоевая кислота, холин, витамин U. Биологическая роль.

4. Методы оценки насыщенности организма витаминами.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 87–131, 515–549.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 174–179, 186–189.

Дополнительная

4. *Биохимия человека* / Р. Мари [и др.]. Москва : Мир, 1993.
5. *Морозкина, Т. С.* Витамины: краткое руководство для врачей и студентов медицинских, фармакологических и биологических специальностей / Т. С. Морозкина, А. Г. Мойсеенок. Минск : Асар, 2002. 112 с.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1.

1.1. Запомните суточную потребность человека в витаминах, существенное снижение которой неизбежно приводит к нарушению биохимических процессов и развитию заболеваний. Умейте назвать признаки гиповитаминозов.

1.2. Решите задачу. Как было установлено, синдром Вернике–Корсакова, проявляющийся нарушением тонуса мышц конечностей, снижением умственной способности и дезориентацией, связан с нарушением прочной связи апофермента и кофермента в ферменте транскетолазе. Симптомы этого синдрома могут проявляться у алкоголиков вследствие снижения поступления в организм витамина. Назовите этот витамин и его коферментную форму. С какими ферментами кроме транскетолазы работает этот витамин?

Задание 2. Запомните, что наряду с незаменимыми факторами питания, имеются условно незаменимые, которые не ограничиваются только аминокислотами аргинином и гистидином; они могут стать незаменимыми при определенных состояниях организма. Умейте объяснить, почему при выборе пищевых источников незаменимых жирных кислот необходимо различать омега-3 и омега-6 кислоты. Обратите внимание на преимущества и недостатки неперевариваемых полисахаридов в составе пищи.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Данные врачебного осмотра пожилой женщины соответствовали периферической нейропатии. Лабораторные анализы подтвердили недостаточность тиамина. Активность каких процессов снижена при данном гиповитаминозе?

- А. Трансаминирование аминокислот.
- Б. Декарбоксилирование аминокислот.
- В. Окислительное декарбоксилирование α -кетокислот.
- Г. Трансметилирование аминокислот.
- Д. Окислительное дезаминирование аминокислот.

Задание 2. У больного после перенесенного инфаркта в течение двух суток значительно увеличилась активность аспартатаминотрансферазы в крови. Укажите кофермент данного фермента и тип катализируемой им реакции. Производным какого витамина является этот кофермент?

Задание 3. Гиповитаминоз пантотеновой кислоты практически не встречается, т. к. она обнаружена повсеместно: в тканях животных, растений, микроорганизмов. Укажите коферментные формы данного витамина, назовите тип реакций, в которых он участвует.

Задание 4. Больному сделана операция резекции желудка, после чего вследствие недостаточности витамина В₁₂ у него развилась анемия. Назовите коферментные формы этого витамина. В каких реакциях они принимают участие?

Задание 5. К врачу обратился пациент с жалобами на воспалительные процессы кожи (дерматит), сопровождающиеся усиленной деятельностью сальных желез, выпадением волос — типичными признаками недостаточности витамина Н. Объясните, какие реакции обмена нарушаются при этом.

Задание 6. Каким образом пищевые волокна в составе принимаемой пищи помогают снизить уровень холестерина в крови? Выберите правильные ответы.

- А. Они денатурируют холестерин в желудке.
- Б. Они гидролизуют холестерин в кишечнике.
- В. Они задерживают холестерин в кишечнике и таким образом замедляют его всасывание.
- Г. Они усиливают экскрецию желчи, ускоряя обмен холестерина.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – А, В, Г. 2 – В, Г, Д. 3 – В. 4 – В. 5.2 – А 4; Б 3; В 5; Г 2; Д 1.

Для самостоятельной работы:

1.2 – В₁, его коферментная форма – ТДФ (ТПФ).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (30 минут)

Инструкция к практическому занятию

Определение содержания витамина С в моче

Определение содержания витамина С в моче дает представление о запасах этого витамина в организме, так как имеется соответствие между концентрацией витамина в крови и количеством этого витамина, выделяемым с мочой. Однако при гиповитаминозе С содержание аскорбиновой кислоты в моче не всегда понижено. Часто оно бывает нормальным, несмотря на большой недостаток этого витамина в тканях и органах.

У здоровых людей введение *per os* 100 мг витамина С быстро приводит к повышению его концентрации в крови и в моче. При гиповитаминозе С ткани, испытывающие недостаток в витамине, задерживают принятый витамин С и его концентрация в моче не повышается.

С мочой здорового человека за сутки выделяется 20–30 мг витамина С или 113,55–170,33 мкмоль/сут. Уровень этого витамина понижается при цинге, а также при острых и хронических инфекционных заболеваниях.

Ход работы. В стаканчик или колбочку отмеривают 10 мл мочи и 10 мл дистиллированной воды, перемешивают, подкисляют 20 каплями 10%-ного раствора хлористоводородной кислоты и титруют 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до розовой окраски. Для расчета содержания аскорбиновой кислоты в моче используют формулу:

$$x = \frac{0,088 \cdot A \cdot B}{B},$$

где x — содержание аскорбиновой кислоты в мг/сут; 0,088 — количество аскорбиновой кислоты (мг), соответствующее 1 мл 2,6-дихлорфенолиндофенола; A — результат титрования 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола (мл); B — объем мочи, взятый для титрования (мл); B — среднее суточное количество мочи (для мужчин — 1500 мл, для женщин — 1200 мл).

Результат: $A =$

Расчет:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 28. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ВИТАМИНЫ А, Е, К

Актуальность темы

Жирорастворимые витамины — особая группа соединений, которые контролируют жизненно важные метаболические процессы. Поэтому их недостаток проявляется, как правило, системной патологией. Вовремя распознать ее — значит иметь возможность эффективно предотвратить ее развитие.

Цель занятия

Закрепить знания о природе, путях поступления в организм и влияния на обменные процессы жирорастворимых витаминов для последующего использования их во врачебной деятельности. Познакомить студентов с методами обнаружения жирорастворимых витаминов.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *биоорганической химии*:
 - строение и свойства полиизопренов, стероидов, производных токола;
 - активные формы кислорода
- *биохимии*:
 - пути метаболизма белков, жиров, углеводов в клетках;

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Патологическое состояние, связанное с недостатком витаминов в пище, нарушением их всасывания или нарушением их использования организмом, называется — _____.

Задание 2. Укажите активную форму витамина А:

- | | |
|-------------------------------|-------------------|
| А. Тетрагидрофолиевая кислота | Г. Коэнзим А |
| Б. Пиридоксальфосфат | Д. Карбоксибиотин |
| В. Ретиналь | |

Задание 3. Характерными проявлениями авитаминоза А являются:

- | | |
|-------------------------------|--|
| А. Себорейный дерматит | Д. Деменция |
| Б. Фолликулярный гиперкератоз | Е. Кератомалация |
| Г. Ксерофтальмия | Ж. Торможение роста, потеря массы тела |

Задание 4. Характерными проявлениями гиповитаминоза Е являются:

- | | |
|--|-----------|
| А. Повышение проницаемости клеточных мембран | |
| Б. Куриная слепота (нарушение сумеречного зрения) | |
| В. Бесплодие, выкидыши | |
| Г. Мышечная дистрофия, поражение связочного аппарата | Д. Диарея |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Токоферол. Участие в метаболизме, признаки гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники витамина Е.
2. Ретинол и его производные (ретинол, ретиноевая кислота). Участие в метаболизме, признаки гипо- и гипервитаминоза, суточная потребность, основные источники витамина А.
3. Витамин Д. Всасывание, биологическая роль, явления гипо- и гипервитаминоза, суточная потребность, основные источники.
4. Витамин К. Биологическая роль, явления гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники. Синтетические производные. Антивитамины.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 112–130.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 179–186.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Выберите правильный ответ относительно участия витамина А в антиоксидантной защите организма:

- А. Ослабляет действие витамина Е
- Б. Препятствует окислению SH - содержащих белков
- В. Активирует включение селена в состав глутатионпероксидазы
- Г. Усиливает антиоксидантное действие токоферола
- Д. Взаимодействует со свободными радикалами различных типов
- Е. Активирует супероксиддисмутазу

Задание 2. Запомните, что жирорастворимые витамины в отличие от водорастворимых 1) действуют на генетическом уровне подобно стероидным гормонам, 2) являются структурными компонентами клеточных мембран и проявляют антиоксидантное действие, 3) коферментные функции им, как правило, не присущи (исключение – витамин К). Умейте объяснить механизм антиоксидантного действия витамина Е путем «физической» защиты клеточных мембран от свободных радикалов.

Задание 3. Какие из перечисленных витаминов содержат в качестве структурных элементов изопреноидные фрагменты?

- А. Витамин Е
- Б. Витамин К
- В. Витамин А
- Г. Никотиновая кислота
- Д. Витамин Р

Задание 4. Все приведенные утверждения правильные, за исключением:

- А. Источником витамина Е для человека являются растительные масла, салат, зерновые продукты, различные ткани животных, особенно жировая;
- Б. Суточная потребность в витамине В₆ для человека составляет 2-4 мг;
- В. Витамин В₆ является производным стеролов;
- Г. Источником витамина С является преимущественно пища растительного происхождения;
- Д. Важным источником витаминов служит микрофлора кишечника.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Объясните, почему и недостаток, и избыточное поступление витамина D в организм будет приводить к деструкции костной ткани.

Задание 2. Выберите правильный ответ относительно участия витамина Е в антиоксидантной защите организма:

- А. Защита от окисления двойных связей в молекулах каротинов и витамина А
- Б. Включение селена в состав активного центра глутатионпероксидазы
- В. Разобщение процесса тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования
- Г. Защита от окисления SH – групп мембранных белков
- Д. Мембраностабилизирующее действие
- Е. Сдерживание прооксидантного действия витамина С

Задание 3. Какие витамины являются производными стеролов?

- А. Витамин В₁₂
- Б. Витамин D₂
- В. Витамин D₃
- Г. Филлохинон
- Д. Витамин А

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1. – гиповитаминоз. 2.–В. 3.– Б, Г, Е, Ж. 4.– А, В, Г.

Для самостоятельной работы:

1.–Б, В, Г, Д. 3.–А, Б, В. 4.–В.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (30 минут)

Инструкция к практическому занятию

Качественные реакции на витамины позволяют обнаружить их наличие в пищевых продуктах, в лекарственных препаратах и лекарственных растениях. Принцип, положенный в основу качественных реакций на витамины, используется при разработке количественного определения их в различных природных объектах и лекарствах.

Работа 1. *Качественные реакции на витамин А (ретинол)*

Витамин А содержит β -ионовое кольцо и боковую цепь, состоящую из двух остатков изопрена и первичной спиртовой группы. Провитамином А является желтый пигмент растений – каротин. В организме каротин превращается в витамин А.

1.1. Проба Друммонда

Принцип метода. Метод основан на способности концентрированной H_2SO_4 отнимать воду от ретинола с образованием окрашенных продуктов реакции.

Ход работы. В сухую пробирку вносят 1 каплю ретинола ацетата и 5 капель хлороформа, перемешивают и добавляют 1 каплю конц. H_2SO_4 . Появляется голубое или красно-фиолетовое окрашивание, переходящее в буро-красное.

Результат:

1.2. Реакция с хлорным железом

Ход работы. В сухую пробирку вносят 1 каплю ретинола ацетата и 5 капель хлороформа. Перемешивают и добавляют 3 капли хлорида железа. Появляется окрашивание.

Результат:

Вывод:

Работа 2. *Качественные реакции на витамин Е (α -токоферол)*

2.1. Реакция с азотной кислотой

Принцип метода. Спиртовой раствор витамина Е в присутствии концентрированной азотной кислоты окисляется в хиноидное соединение, окрашенное в красный цвет.

Ход работы. В сухую пробирку вносят 6 капель 0,1% спиртового раствора витамина Е, добавляют несколько крупинок сахарозы. Осторожно по стенке пробирки прибавляют 10 капель конц. HNO_3 . Пробирку слегка встряхивают. Через 1-2 мин наблюдают красное или желтовато-красное окрашивание.

Результат:

2.2. Реакция с хлоридом железа

Принцип метода. Спиртовой раствора-токоферола окисляется $FeCl_3$ в токоферилхинон и раствор окрашивается в красный цвет.

Ход работы. В сухую пробирку берут 4-5 капель 0,1% спиртового раствора α -токоферола, прибавляют 0,5 мл 1% раствора $FeCl_3$, тщательно перемешивают. Содержимое пробирки приобретает красное окрашивание.

Результат:

Вывод:

Работа 3. *Качественная реакция на витамин К (нафтохинон)*

Известны два природных витамина К₁ и К₂, являющиеся производными нафтохинона. Искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина К₁- викасол обладает биологической активностью витамина.

3.1. Качественная реакция на викасол

Принцип метода. Викасол в присутствии цистеина в щелочной среде окрашивается в лимонно-желтый цвет.

Ход работы. На сухое часовое стекло наносят 5 капель раствора викасола, добавляют 5 капель раствора цистеина и 1 каплю 10% гидроксида натрия. Появляется лимонно-желтое окрашивание.

Результат:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 29. ВОДА И МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА. МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНОГО ОБМЕНА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КАЛИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Актуальность темы

Изменение состава минеральных веществ и нарушение распределения электролитов и жидкости в организме являются причиной многих серьезных нарушений, коррекцией которых чаще всего приходится заниматься реаниматологам.

Цель занятия

Закрепить знания об электролитном составе жидкостей организма, роли микро- и макроэлементов в клетках и внеклеточной жидкости для последующего использования их во врачебной деятельности.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *нормальной физиологии:*
 - распределение воды в организме. Аквапорины;
 - состав интерстициальной (межклеточной) и клеточной жидкостей организма;
 - механизм действия Na^+/K^+ - АТФазы;

Задание 4. После назначения препаратов селена в крови у пациента:

- А. Снизилось содержание продуктов ПОЛ.
- Б. Увеличилось содержание продуктов ПОЛ.
- В. Увеличилась активность глутатионпероксидазы эритроцитов.
- Г. Снизилась активность глутатионпероксидазы эритроцитов.

Задание 5. Используя приведенную схему, рассмотрите основные эффекты гормонов и ренина.



Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. У больного нефритом развились отёки. Что может служить их основной причиной?

- А. Уменьшение содержания в крови альбуминов.
- Б. Уменьшение содержания в крови глобулинов.
- В. Увеличение содержания в крови белков острой фазы.
- Г. Снижение концентрации глюкозы в плазме крови.
- Д. Снижение концентрации натрия в плазме.

Задание 2. Объясните, почему и недостаток, и избыточное поступление витамина D в организм будет приводить к деструкции костной ткани.

Задание 3. Назовите минеральные вещества, выполняющие следующие функции:

- А. Поддержка электролитного баланса.
- Б. Поддержка определённого осмотического давления.
- В. Создание благоприятных условий растворимости белков клеток крови.
- Г. Участие в механизмах возбудимости.
- Д. Влияние на обменные процессы путём активирования или ингибирования ферментов.
- Е. Минерализация костей скелета и зубов.

Задание 4. Во время тиреоидэктомии хирург не заметил расположенных в толще щитовидной железы паращитовидных желёз. У больного начались судороги. Почему?

- А. В результате падения содержания в крови тиреокальцитонина.
- Б. В результате снижения содержания в крови паратиринина.
- В. Вследствие снижения содержания Ca⁺⁺ в плазме крови.
- Г. Вследствие увеличения содержания Ca⁺⁺ в плазме крови.

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1– а) 300–400 мл; б) 1200–1500 мл; в) 500–600 мл. 2– В. 3– вправо. 4– А, В.

Для самостоятельной работы:

2– Na, K, Ca, Mg, P, Cl, S. 3– А, В, Д. 4– А, В.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (30 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Определение содержания калия в сыворотке крови турбидиметрическим методом*

Принцип метода. Метод основан на способности ионов калия образовывать стабильную суспензию с ионами тетрафенилбората. Мутность суспензии пропорциональна концентрации ионов калия.

Ход работы. Берут три пробирки. В первую пробирку (опытная проба) наливают 2,0 мл реагента и добавляют 0,04 мл сыворотки крови, во вторую пробирку (стандартная проба) вносят 2,0 мл реагента + 0,04 мл стандартного раствора, в третью пробирку (холостая проба) добавляют только реагент (2,0 мл). **Необходимо строго соблюдать последовательность внесения реактивов в пробирки (сыворотку добавляют к реагенту)!** Перемешивают и инкубируют 2 мин. Вновь тщательно перемешивают и инкубируют точно 10 мин при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность опытной пробы ($E_{оп}$) и стандартного раствора ($E_{ст}$) против холостой пробы, используя кюветы с рабочей шириной 5 мм (длина волны 590 нм). Перед фотометрированием пробы необходимо взболтать.

Концентрацию K^+ (ммоль/л) определяют по формуле:

$$C_{оп} = C_{ст} \times E_{оп} / E_{ст}$$

Концентрация K^+ в стандартном растворе ($C_{ст}$) указана на реагенте.

Результаты: $E_{оп} =$ $E_{ст} =$ Расчет: $C_{оп} =$

Клинико-диагностическое значение. Содержание K^+ в сыворотке крови в норме составляет 3,4–5,6 ммоль/л.

Уменьшение концентрации калия в сыворотке крови приводит к тяжёлым нарушениям — вплоть до появления вялых параличей. Ухудшаются психическая и умственная деятельность, угнетается перистальтика кишечника, развивается метеоризм, расширяются желудок и мочевой пузырь.

Гиперкалиемия сопровождается ощущением «ползания мурашек», исчезновением сухожильных рефлексов, нарушением функции сердца. При двукратном превышении содержания калия в крови сердце останавливается в фазе диастолы.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 30. БЕЛКИ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

Актуальность темы

Соединительные ткани — самые распространенные ткани в организме человека, определяющие его морфологическую и функциональную целостность. Для них характерны: универсальность, тканевая и видовая специфичность, многокомпонентность, полиморфизм, высокая способность к адаптации. Соединительные ткани отличаются от других тканей преобладанием межклеточного вещества (матрикса) над клеточными элементами. Основным компонентом внеклеточного матрикса соединительных тканей являются белки, главным образом, сложные белки — гликопротеины. Знание морфологии и химического состава и понимание метаболических процессов, характерных для соединительных тканей, лежат в основе эффективной профилактики и лечения стоматологических заболеваний.

Цель занятия

Сформировать представление о многообразии форм соединительных тканей и специфическом молекулярном составе каждой формы для понимания механизмов возникновения и развития заболеваний (в том числе стоматологических), разработки мер профилактики и методов лечения.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *морфологии:*
 - виды соединительных тканей;
 - особенности морфологического строения соединительных тканей;
- *биоорганической химии:*
 - классификацию углеводов;
 - строение гетерополисахаридов, входящих в состав основного вещества соединительных тканей.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подберите каждому типу соединительной ткани (А–Д) характерные для нее клетки из следующего списка названий клеток: 1) фибробласт; 2) тканевый базофил; 3) адипоцит; 4) хондробласт; 5) остеокласт; 6) остеобласт; 7) гистиоцит; 8) фиброцит; 9) меланоцит; 10) мукоцит.

- | | |
|---|--------------------|
| А. Рыхлая волокнистая. | Г. Хрящевая ткань. |
| Б. Плотная волокнистая. | Д. Костная ткань. |
| В. Соединительная ткань со специальными свойствами. | |

Задание 2. Какие из нижеперечисленных соединений не относятся к гетерополисахаридам?

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| А. Гиалуроновая кислота. | Д. Клетчатка. |
| Б. Гепарин. | Е. Глюкуроновая кислота. |
| В. Гликоген. | Ж. Хондроитинсульфат. |
| Г. Пектин. | З. N-ацетилгалактозамин. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Коллаген. Аминокислотный состав, особенности пространственной структуры. Изоколлагены. Особенности синтеза коллагена. Внутри- и внеклеточные этапы процесса образования «зрелого» коллагена.
2. Эластин. Роль в организме. Особенности первичной структуры. Значение внеклеточных этапов в механизмах формирования зрелой эластической ткани.
3. Белково-углеводные комплексы. Принципы классификации; биологическая роль; механизмы синтеза и распада.
4. Фибриллярные адгезивные белки внеклеточного матрикса и их функции. Роль их в норме и при патологии.
5. Особенности белкового состава костной тканей. Неколлагеновые белки, биологическая роль.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 625–636.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 216–225.

Дополнительная

4. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993.

5. Биохимия соединительной ткани и органов полости рта : учеб. пособие / Э. И. Олецкий [и др.]. Минск, 2002. 62 с.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Соединительная ткань — одна из четырех главных тканей позвоночных. Какие функции не присущи соединительной ткани человека?

- | | | |
|--------------------|------------------|--------------------|
| А. Опорная. | Г. Барьерная. | Ж. Транспортная. |
| Б. Репаративная. | Д. Дыхательная. | З. Метаболическая. |
| В. Энергетическая. | Е. Депонирующая. | |

Задание 2. Вспомните, что химическую основу межклеточного матрикса составляют белково-углеводные комплексы (БУК), которые классифицируются по количеству углеводов в комплексе и качественному составу этих углеводов. Подберите для каждого типа БУК (А–В) соответствующие характеристики.

БУК	Доля углеводов	Особенности моносахаридов
А. Гликопротеины	1. 10–50 % углеводов	I. Не содержат уроновых кислот
Б. Протеогликаны	2. < 10 углеводов	II. Содержат уроновые кислоты
В. Мукопротеины	3. >95 % углеводов	

Задание 3. Коллагеновые белки составляют 25 % всех белков. Поскольку полипептидные цепи коллагена кодируются разными генами, известно свыше 20 типов коллагена — изоколлагены. В отдельных типах соединительной ткани изоколлагены выполняют разные функции.

3.1. Подберите пары (тип коллагена – функция).

- | | |
|---|----------------------------|
| 1. Коллагены, образующие фибриллы. | А. Коллагены типа I–III. |
| 2. Коллагены, образующие сети. | Б. Коллагены типа IX, XII. |
| 3. Коллагены, ассоциированные с фибриллами. | В. Коллагены типа IV, VII. |

3.2. Расставьте в нужном порядке этапы внутриклеточного процессинга коллагена.

- | | |
|---|----------------------------------|
| А. Гидроксилирование лизина и пролина. | |
| Б. Образование внутри- и межцепочечных дисульфидных связей. | |
| В. Гликозилирование. | Г. Удаление сигнального пептида. |
| Д. Образование тройной спирали. | |

3.3. Выберите из следующего списка неколлагеновые белки соединительных тканей.

- | | | | |
|-------------|-----------------|---------------|------------------|
| А. Эластин. | В. Коллаген. | Д. Альбумин. | Ж. Ламинин. |
| Б. Агрекан. | Г. Фибронектин. | Е. Фибриллин. | З. Фибромодулин. |

Правильность решения проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Подберите к соответствующим гликозаминогликанам (А–Е) компоненты (1–6), входящие в их состав.

- | | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 1. N-ацетил-D-галактозамин. | А. Хондроитинсульфаты А, С. |
| 2. N-ацетил-D-глюкозамин. | Б. Дерматансульфат. |
| 3. D-глюкуроновая кислота. | В. Гепарин. |
| 4. L-идуруновая кислота. | Г. Гепарансульфат. |
| 5. Серная кислота. | Д. Гиалуроновая кислота. |
| 6. Галактоза. | Е. Кератансульфат. |

Задание 2. Выберите правильный ответ.

Эластин отличается от коллагена отсутствием:

1. Глицина.
2. Тройной спирали.
3. Пролина.
4. Дополнительных пептидов на N- и C-концах.
5. Углеводов.
6. Гидроксипролина.
7. Гидроксилизина.
8. Повторов Гли-Х-У.

Задание 3. Выберите правильный ответ.

К неколлагеновым белкам хрящевой ткани относятся:

- | | | | |
|-------------------|-------------|-----------------|------------------|
| А. Фибромодулин. | В. Ламинин. | Д. Остеонектин. | Ж. Бигликан. |
| Б. Тромбоспондин. | Г. Декорин. | Е. Эластин. | З. Остеокальцин. |

Задание 4. Выберите правильный ответ.

Последовательность R-G-D в фибриллярных адгезивных белках представлена следующим аминокислотным триплетом:

- | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| А. Гли-Асп-Арг. | В. Асп-Глу-Гли. | Д. Гли-Арг-Асп. |
| Б. Арг-Глу-Асп. | Г. Арг-Гли-Асп. | Е. Арг-Асп-Гли. |

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – А 1, 2, 7, 8; Б 1, 8; В 3, 9, 10; Г 4; Д 5, 6. 2 – В, Д, Е, З.

Для самостоятельной работы:

1 – В, Д, Ж. 2 – (А – 2–I; Б – 3–II; В – 1–I). 3.1 – 1 А; 2 В; 3 Б. 3.2 – Г, А, В, Б, Д. 3.3 – Б, Г, Д, Е, Ж, З.

ЗАНЯТИЕ 31. БИОХИМИЯ ОРГАНОВ ПОЛОСТИ РТА И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

Актуальность темы

Межклеточное вещество соединительных тканей определяет их основные свойства. Помимо органического компонента (подробно рассматривался ранее), специализированные виды соединительных тканей характеризуются высоким содержанием минерального (неорганического) компонента, главной составной частью которого являются фосфорнокислые соли кальция. Образование и распад минерального компонента тесно связаны с обменом кальция и фосфора в организме. Зубы — особый орган, где прямо соприкасаются закономерности «поведения» органических и минеральных веществ. Понимание взаимоотношений между обменом органических молекул и минеральными компонентами далеко от совершенства, о чем свидетельствуют пока малоутешительные результаты борьбы с кариесом, воспалительными и другими заболеваниями полости рта. Ротовая жидкость (в обиходе слюна) — это многокомпонентная биологическая жидкость, состав которой оказывает существенное влияние на органы и ткани ротовой полости. В ряде случаев исследование химического состава слюны используется для диагностики в клинике внутренних болезней.

Цель занятия

Сформировать представление о химическом составе костной ткани и тканей зуба и систематизировать знания о составе жидкостей ротовой полости для понимания молекулярной природы заболеваний органов и тканей полости рта.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *морфологии:*
 - типы соединительных тканей;
 - особенности морфологического строения соединительных тканей и зубов;

- *общей химии:*
 - общие свойства кальция и фосфора как химических элементов;
 - свойства кальциевых солей фосфорной кислоты;
 - свойства белковых растворов как коллоидных систем;
- *биологической химии:*
 - белки соединительных тканей;
 - особенности утилизации углеводов бактериями полости рта.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подберите пары: формула фосфата кальция – название.

Формула	Название
1. $\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	А. Гидроксиапатит
2. $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Б. Фторапатит
3. $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	В. Стронциевый апатит
4. $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	Г. Брушит
5. $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5 (\text{HCO}_3) (\text{OH})_2$	Д. Карбонатный апатит
6. $\text{Ca}_9\text{Sr}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Е. Октакальций фосфат

Задание 2. Выберите правильный ответ. К неколлагеновым белкам костной ткани относятся:

- | | | |
|-------------------|-----------------|------------------|
| А. Фибромодулин. | Г. Декорин. | Ж. Бигликан. |
| Б. Тромбоспондин. | Д. Остеонектин. | З. Остеокальцин. |
| В. Ламинин. | Е. Эластин. | |

Задание 3. Какой из апатитов самый устойчивый к действию кислот?

- | | | |
|------------------------|----------------|------------------------|
| А. Гидроксиапатит. | В. Фторапатит. | |
| Б. Карбонатный апатит. | Г. Хлорапатит. | Д. Стронциевый апатит. |

Задание 4. Секрет каких слюнных желез в основном мукозный?

- | | | |
|-----------------|------------------|------------|
| А. Околоушных. | В. Язычных. | |
| Б. Подъязычных. | Г. Подчелюстных. | Д. Щечных. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Особенности химического состава тканей зуба (эмали, дентина, цемента, пульпы) и костной ткани. Коллагеновые и неколлагеновые белки, белково-углеводные комплексы. Минеральный компонент костной ткани и зубов. Химический состав. Кристаллы гидроксиапатита.
2. Теории минерализации костной ткани и твердых тканей зуба. Роль органических молекул в механизмах минерализации. Этапы изоморфного замещения элементов кристаллической решетки и его роль в образовании кристаллов апатита. Факторы, влияющие на процессы минерализации.
3. Ca^{2+} -связывающие белки и их роль в организме.
4. Ротовая жидкость. Химический состав. Функции. Слюна из протоков слюнных желез. Нестимулированная и стимулированная слюна. Кальций и фосфат-ионы ротовой жидкости. Значение слюны в процессах реминерализации эмали.
5. Белки и ферменты ротовой жидкости и их роль.
6. «Гингивальная жидкость» и зубной ликвор, особенности химического состава. Значение для тканей полости рта.
7. Поверхностные образования на эмали. Происхождение, химический состав.
8. Фтор и его роль в процессах жизнедеятельности. Источники фтора и потребность в нем.
9. Влияние питания на состояние зубов. Роль углеводов, белков, витаминов и микроэлементов. Кариес. Причины, механизм развития, профилактика.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 625–636.
2. Конспект лекций.
3. Биологическая химия / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 225–234.

Дополнительная

4. Биохимия человека / Р. Мари [и др.]. Москва : Мир, 1993.
5. Биохимия соединительной ткани и органов полости рта : учеб. пособие / Э. И. Олецкий [и др.]. Минск, 2002. 62 с.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Минеральный компонент, входящий в состав межклеточного вещества костной ткани, эмали, дентина и цемента, представлен большим числом элементов. Хотя соотношение основных элементов поддерживается на довольно постоянном уровне, содержание многих элементов зависит от характера питания. Благодаря механизмам изоморфного замещения, этот состав меняется в течение жизни. Основными элементами указанных выше тканей являются кальций и фосфор. Содержание других элементов — фтора, магния, цинка, железа — подвержено более значительным колебаниям.

1.1. Выберите из следующего списка химические соединения, характерные: А — для костной ткани (цемента, дентина); Б — для эмали.

- | | |
|---------------------|---|
| 1. Коллаген типа I. | 4. Кристаллы апатита (1600 × 400 ангстрем). |
| 2. Протеогликаны. | 5. Кристаллы апатита (640 × 40 ангстрем). |
| 3. Амелогенины. | 6. Энамелины. |

Задание 2. Одной из важнейших функций слюны является минерализующая функция. В зрелых зубах поддерживается равновесие двух процессов: растворения эмали (деминерализации) и минерализации. Константа растворимости эмали в физиологических условиях сдвинута в сторону образования кристаллов апатитов. Вспомните, какие факторы влияют на данную константу.

Задание 3. Выберите правильные ответы. Лизоциму присущи следующие функции:

- А. Гидролизует гликозидную связь в гетерополисахаридах микробной оболочки.
- Б. Вызывает агрегацию бактерий.
- В. Ингибирует бактериальные протеазы.
- Г. Активирует бактериальные аутолизины.
- Д. Образует гипохлорит-ион, превращающий аминокислоты бактерий в токсичные для них альдегиды.

Задание 4. Назовите поверхностные образования на эмали, охарактеризуйте их происхождение и химический состав.

Задание 5. Выберите правильный ответ. Карисогенными бактериями являются:

- | | | |
|-----------------------------|---------------------------|-------------------|
| А. <i>Str. mutans</i> . | В. <i>Staph. aureus</i> . | Д. Лактобактерии. |
| Б. <i>Str. salivarius</i> . | Г. <i>Str. sanguis</i> . | |

Задание 6. Вспомните, что существует системная (эндогенная) и местная (экзогенная) фтор-профилактика. Приведите примеры из каждого вида.

Задание 7. Выберите правильный ответ. Рекомендуемая концентрация фтора в зубной пасте для взрослых составляет (ppm):

- | | | | | |
|---------|----------|----------|----------|----------|
| А. 800. | Б. 2000. | В. 1000. | Г. 1500. | Д. 1200. |
|---------|----------|----------|----------|----------|

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Как действуют паратирин, кальцитонин и витамин D на обмен кальция в указанных органах (проставьте стрелочки: ↑ — повышает или ↓ — понижает к стрелкам на рисунке) и как меняется при этом уровень кальция в крови?



Задание 2. Как влияет изменение уровня кальция в крови на секрецию или активирование регуляторов?

Уровень Ca^{2+}	Секреция паратирина	Секреция кальцитонина	Образование кальцитриола
↑			
↓			

Задание 3. Подберите пары: функция – белки (ферменты) слюны.

Функция	Белки
А. Переваривание	1. Амилаза. 2. Муцины слюны. 3. Белки, богатые пролином. 4. Лизоцим. 5. Статерин. 6. Лактоферрин. 7. Пероксидаза нейтрофилов.
Б. Минерализация	
В. Защита	
Г. Смазывание и обволакивание	

Задание 4. Заполните таблицу (процентное содержание веществ в указанных тканях).

Ткани	Минеральные вещества	Органические вещества	Вода
Эмаль			
Дентин			
Цемент			
Пульпа			
Кость			

Ответы к заданиям

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – 1 Г; 2 А; 3 Е; 4 Б; 5 Д; 6 В. 2– Б, Д, 3– В. 4– В, Д.

Для самостоятельной работы:

1 – А 1, 2, 5; Б 3, 4, 6. 3 – А, Б, Г. 5– А, Б, Г, Д. 7– Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 МИНУТ)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Определение рН слюны*

В норме рН слюны — 6,4–7,3.

Ход работы. На лакмусовую бумажку наносят каплю слюны и определяют ее реакцию:

- 1) синяя лакмусовая бумага краснеет, красная не изменяет цвета — кислая реакция;
- 2) красная бумага синееет, синяя не изменяет цвета — щелочная реакция;
- 3) обе бумаги не изменяют своего цвета — нейтральная реакция.

Можно использовать и другие индикаторные бумаги.

Результат:

Вывод:

Работа 2. *Обнаружение минеральных (неорганических) компонентов в костной ткани*

Костная ткань и ткани зуба относятся к плотной оформленной соединительной ткани. Они отличаются высоким содержанием минеральных веществ, среди которых больше всего фосфорнокислого кальция. Для качественного анализа неорганических веществ минерализата кости или зуба пользуются следующими методами исследований.

1. Определение сульфатов. В кислой среде сульфаты минерализата кости (зуба) с хлористым барием образуют белый осадок BaSO_4 .

Ход работы. К 20 каплям минерализата приливают 5 капель 10%-ного раствора HCl и по каплям, медленно, добавляют раствор BaCl_2 до образования осадка. Выпавший осадок отфильтровывают. Фильтрат нагревают и кипятят над пламенем спиртовки 2–3 мин. При этом снова появляется муть из-за того, что из солей эфирсерных кислот освобождается серная кислота.

Результат:

2. Определение фосфатов. Фосфаты минерализата кости (зуба) при реакции с молибденовым реактивом образуют желтый кристаллический осадок фосфорномолибденовокислого аммония.

Ход работы. В пробирку наливают 20–30 капель молибденового реактива и нагревают раствор над пламенем спиртовки до закипания (не кипятить!). Затем добавляют несколько капель минерализата. Выпадает желтый осадок фосфорномолибденовокислого аммония.

Результат:

3. Определение кальция. Кальций минерализата кости (зуба) выпадает в осадок при добавлении щавелевокислого аммония.

Ход работы. К 20 каплям минерализата приливают 1–2 капли 10%-ного раствора уксусной кислоты и 2–3 капли 5%-ного раствора щавелевокислого аммония. Выпадает кристаллический осадок щавелевокислого кальция.

Результат:

Выводы:

Работа 3. **Обнаружение белков в костной ткани**

Ход работы. Небольшой кусочек кости вносят в пробирку с 10 каплями 10%-ного раствора NaOH. Нагревают до кипения. Белки при этом растворяются в щелочи. После охлаждения добавляют каплю 1%-ного раствора CuSO₄ (биуретовая реакция). Появление фиолетового окрашивания свидетельствует о наличии белка.

Результат:

Вывод:

Работа 4. **Количественное определение хлоридов в слюне по Левинсону**

Биологическая роль хлорид-ионов — см. занятие № 15 (работа № 3).

Принцип метода. Аргентометрический осадочный метод основан на способности ионов серебра образовывать с ионами хлора нерастворимые соли. Количество осаждающего вещества (AgNO₃) эквивалентно содержанию хлорид-ионов.

Проводят титрование хлорид-ионов крови азотнокислым серебром в присутствии индикатора K₂CrO₄. По достижении эквивалентной точки титрования избыток ионов серебра образует с индикатором соединение кирпично-красного цвета (Ag₂CrO₄).

Ход работы.

1. Осаждение белков крови. В двух пробирках готовят смесь растворов: 5 мл 0,45 % ZnSO₄ + 1 мл 0,1 н NaOH. Затем в 1-ю пробирку вносят 0,1 мл слюны, во 2-ю (контрольную) — 0,1 мл H₂O_{дист.} Пробирки кипятят в течение 3 мин над пламенем спиртовки. После этого содержимое пробирок фильтруют в колбочки через вату. Осадок на ватном фильтре промывают два раза водой (по 3 мл).

2. Осаждение ионов хлора в присутствии K₂CrO₄. К фильтрату приливают 2 капли 2%-ного раствора K₂CrO₄ и титруют раствором AgNO₃ до изменения желтого цвета раствора в кирпично-красный.

Из объема (мл) AgNO₃, пошедшего на титрование опытного раствора, вычитают объем (мл) AgNO₃, пошедший на титрование контроля, и разницу умножают на 0,355, если результат выражают в мг хлора на 0,1 мл слюны. Для выражения в мг% полученную величину нужно умножить на 1000. Коэффициент пересчета в единицу СИ (ммоль/л) — 0,282.

Результаты: $V_{\text{оп}}$ (мл) = $V_{\text{контр}}$ (мл) =

Расчет: C (ммоль/л) = $(V_{\text{оп}} - V_{\text{контр}}) \cdot 0,355 \cdot 1000 \cdot 0,282$

C (ммоль/л) =

Содержание хлора (хлорид-ионов) в слюне в норме составляет 20–40 ммоль/л.

Вывод:

Работа 5. **Количественное определение содержания кальция в слюне**

Биологическая роль кальция — см. занятие № 16 (лабораторная работа).

Принцип метода. Индикатор хромоген черный ЕТ-00 образует с кальцием соединение розово-фиолетового цвета. При титровании трилоном Б (двузамещенная натриевая соль этилендиаминотетрауксусной кислоты, образующая прочные комплексы с ионами кальция) такого окрашенного раствора произойдет изменение окраски в синий цвет в эквивалентной точке, соответствующей связыванию трилоном Б всех ионов кальция в растворе.

Ход работы. В колбочку наливают 25 мл H₂O и вносят 1 мл аммиачного буферного раствора. Затем приливают 1 мл исследуемой слюны и 2 капли индикатора хромогена черно-

го. Раствор приобретает фиолетовый цвет. Затем раствор титруют 0,002 М раствором трилона Б до синей окраски.

По объему трилона Б, пошедшего на титрование, рассчитывают содержание кальция в слюне:

$$X = \frac{0,002 \cdot 40,8 \cdot 100 \cdot 0,245 \cdot V_T}{1},$$

где 0,002 — молярность раствора трилона Б; 40,8 — молекулярный вес Са; 100 — коэффициент для пересчета в мг%; 0,245 — коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/л); 1 — объем слюны, взятый для анализа; V_T — объем трилона Б, израсходованный на титрование.

Результат: V_T (мл) = Расчет:

Содержание общего кальция в слюне в норме — 1,1–1,3 ммоль/л (4–5 мг %).

Вывод:

Подпись преподавателя:

ЗАНЯТИЕ 32. КОЛЛОКВИУМ ПО ТЕМАМ: «БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ», «БЕЛКИ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ» «БИОХИМИЯ ОРГАНОВ ПОЛОСТИ РТА И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ»

Вопросы для подготовки к коллоквиуму

1. Витамины В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), пантотеновая кислота, РР (никотиновая кислота), В₆ (пиридоксин), В₉ (фолиевая кислота), В₁₂ (кобаламин), Н (биотин), С (аскорбиновая кислота). Коферментные формы, участие в метаболизме, признаки гиповитаминоза, суточная потребность, пищевые источники. Уметь нарисовать блок-схемы для коферментных форм витамина РР (НАД⁺ и НАДФ⁺) и витамина В₂ (ФМН и ФАД). Методы оценки насыщенности организма витаминами.

2. Витаминоподобные вещества и их биологическая роль.

3. Метаболические процессы использования углеводов, жиров и белков в качестве источников энергии.

4. Метаболические процессы депонирования углеводов и липидов пищи.

5. Пищевая ценность белков, углеводов и липидов. Незаменимые и условно незаменимые факторы питания. Роль волокнистых полисахаридов пищи для работы пищеварительного тракта и обменных процессов в организме.

6. Витамин А. Провитамины. Всасывание, биологическая роль, явления гипо- и гипервитаминоза, суточная потребность, основные источники.

7. Витамин D. Всасывание, биологическая роль, явления гипо- и гипервитаминоза, суточная потребность, основные источники.

8. Витамин E. Биологическая роль, явления гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники.

9. Витамин K. Биологическая роль, явления гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники. Синтетические производные. Антивитамины.

10. Роль воды в организме. Нарушения водного баланса организма, причины. Механизмы поддержания постоянства водных пространств.

11. Макроэлементы (натрий, калий, кальций, фосфор). Роль в процессах жизнедеятельности, регуляция обмена.
12. Роль железа в организме. Всасывание и транспорт железа. Участие в метаболизме клетки.
13. Гормоны, регулирующие обмен кальция и фосфора в организме. Места синтеза, химическая природа, механизмы действия.
14. Значение меди и селена в обмене веществ.
15. Коллаген. Аминокислотный состав, особенности пространственной структуры. Изоколлагены.
16. Особенности синтеза коллагена. Внутри- и внеклеточные этапы процесса образования «зрелого» коллагена.
17. Эластин. Роль в организме. Особенности первичной структуры. Значение внеклеточных этапов в механизмах формирования зрелой эластической ткани.
18. Белково-углеводные комплексы. Принципы классификации; биологическая роль; механизмы синтеза и распада.
19. Фибриллярные адгезивные белки внеклеточного матрикса и их функции. Роль их в норме и при патологии.
20. Особенности белкового состава костной ткани. Неколлагеновые белки, биологическая роль.
21. Особенности химического состава тканей зуба (эмали, дентина, цемента, пульпы) и костной ткани. Коллагеновые и неколлагеновые белки, белково-углеводные комплексы. Минеральный компонент костной ткани и зубов. Химический состав. Кристаллы гидрокси-апатита.
22. Теории минерализации костной ткани и твердых тканей зуба. Роль органических молекул в механизмах минерализации. Этапы изоморфного замещения элементов кристаллической решетки и его роль в образовании кристаллов апатита. Факторы, влияющие на процессы минерализации.
23. Ca^{2+} -связывающие белки и их роль в организме.
24. Ротовая жидкость. Химический состав. Функции. Слюна из протоков слюнных желез. Нестимулированная и стимулированная слюна. Кальций и фосфат-ионы ротовой жидкости. Значение слюны в процессах реминерализации эмали.
25. Белки и ферменты ротовой жидкости и их роль.
26. Десневая жидкость и зубной ликвор, особенности химического состава. Значение для тканей полости рта.
27. Поверхностные образования на эмали. Происхождение, химический состав.
28. Фтор и его роль в процессах жизнедеятельности. Источники фтора и потребность в нем.
29. Влияние питания на состояние зубов. Роль углеводов, белков, витаминов и микроэлементов. Кариес. Причины, механизм развития, профилактика.

ЗАНЯТИЕ 33. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

Актуальность темы

Печень играет центральную роль в промежуточном обмене веществ. Особенности ферментативного аппарата печени и ее анатомических связей с другими органами дают возможность печени участвовать в регуляции практически всех видов обмена веществ и поддерживать постоянство концентрации в крови многих жизненно важных соединений.

Печень — большая промежуточная станция между портальным и общим кругами кровообращения организма, поэтому все вещества, всасывающиеся из кишечника, должны пройти через печень. Функции печени обуславливают ее своеобразный «биохимический альтруизм»: многие происходящие в ней процессы настроены на синтез различных веществ для

других органов, а также на защиту этих органов от образующихся в них (или поступающих извне) токсических соединений.

В состав органа входят клетки Купфера, принимающие участие в фагоцитозе. Печень выделяет желчь, необходимую для переваривания жира. Значительную роль играет печень в процессах свертывания крови, т. к. синтезирует белки-компоненты свертывающей и антисвертывающей систем крови.

В печени депонируются железо, медь и витамин В₁₂, необходимые для эритропоэза. Продолжительность жизни эритроцитов составляет 110–120 дней. После этого они разрушаются с освобождением гемоглобина. В печени, селезенке, костном мозге гемоглобин распадается с образованием билирубина. Дальнейшая судьба желчных пигментов (билирубина) связана с их метаболизмом в печени и в кишечнике. Определение в клинике содержания общего билирубина, его фракций и продуктов их деградации имеет важное значение в дифференциальной диагностике желтух различной этиологии.

Следует отметить значительную вариабельность химического состава печени, который зависит от характера питания, состояния обмена веществ. Особенно существенные изменения в соотношении отдельных компонентов наблюдаются при голодании и патологических процессах, например, жировой инфильтрации печени, гликогенозах и др.

В связи с вышеизложенным понятна необходимость правильной оценки функционального состояния печени с использованием различных биохимических тестов, позволяющих установить факт заболевания и отслеживать его течение.

Цель занятия

Научиться применять знания о гомеостатической и интегрирующей роли печени в обмене углеводов, липидов и аминокислот для объяснения механизмов нарушений обмена веществ при болезнях печени и желчных путей. Научиться использовать знания о путях превращения в печени ксенобиотиков для понимания биохимических аспектов фармакологии и токсикологии.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить из:

- *анатомии, гистологии, физиологии:*
 - особенности строения и микроструктуры печени;
 - функции печени;
- *биоорганической химии:*
 - основные реакции введения функциональных групп в молекулы химических веществ с целью повышения их гидрофильных свойств.
- *биологической химии:*
 - метаболические пути обмена углеводов, липидов и белков.

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. При изучении микропрепарата печени студентам дано задание зарисовать структурную морфологическую единицу печени — ацинус.

1.1. Выберите функцию, которую выполняют элементы этой морфологической единицы — клетки Купфера:

- А. Синтетическая. Б. Выделительная. В. Обезвреживающая.

1.2. Какую роль играет пространство Дисе?

А. Участвует в транспорте веществ между кровью синусоидов и паренхиматозными клетками.

Б. Является депо желчи.

В. Участвует в транспорте веществ между артериолами, венулами и центральной веной.

Задание 2. Методом «меченых атомов» была зафиксирована энтерогепатическая циркуляция желчных кислот. По каким кровеносным сосудам происходит возврат желчных кислот из кишечника к гепатоцитам в процессе этой циркуляции?

- А. По центральной вене печени.
- Б. По воротной вене печени.
- В. По нижней полой вене печени.
- Г. По печеночной артерии.

Задание 3. На лабораторном практикуме студенты получили задание сравнить растворимость различных веществ в воде. Сравнив результаты исследования, студенты убедились, что введение некоторых функциональных групп повышает гидрофильность молекул органических соединений.

3.1. Какие функциональные группы могут обеспечить гидрофильные свойства этих молекул?

- А. Изопропильные.
- Б. Дисульфидные.
- В. Гидроксильные.
- Г. Карбоксильные.

3.2. Назовите химические реакции, в результате которых в молекулы органических соединений могут быть введены указанные выше функциональные группы:

- А. Гидроксилирование.
- Б. Карбоксилирование.
- В. Дезаминирование.
- Г. Нитрование.

Задание 4. Назовите метаболит гликолиза, используемый для синтеза глицерола:

- А. Фосфодиоксиацетон.
- Б. Ацетил-КоА.
- В. Пировиноградная кислота.
- Г. Щавелевоуксусная кислота.
- Д. β-Гидроксимасляная кислота.

Задание 5. Для образования глюкозы во время голодания клетки печени используют:

- А. Жирные кислоты.
- Б. Аминокислоты.
- В. Ацетоацетат.
- Г. β-Гидроксипутират.
- Д. Ацетил-КоА.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Вопросы для обсуждения

1. Основные функции и химический состав печени.
2. Роль печени в обмене углеводов, липидов, белков.
3. Обезвреживающая функция печени, механизмы: (защитные синтезы, ацилирование, микросомное окисление, конъюгация).
4. Роль печени в пигментном обмене. Синтез и распад гемоглобина (схемы). Обмен билирубина в норме и патологии. Диагностика паренхиматозной желтухи.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. Москва : Бином, Минск : Асар, 2008. С. 301–306, 607–612, 661–676.
2. *Конспект лекций*.
3. *Биологическая химия* / А. Д. Таганович [и др.]. Минск : Беларусь, 2013. С. 160–166.

Дополнительная

4. *Маршалл, В. Дж.* Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл. Москва : Бином, Санкт-Петербург : Невский Диалект, 1999. 368 с.
5. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. Москва : Мир, 1993. 384 с.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Систематизируйте знания об интеграции путей метаболизма в печени. Познакомьтесь с рисунком «Пути превращения углеводов и липидов в печени».

1.1. Обратите внимание на то, что большая часть потребленной свободной глюкозы в печени фосфорилируется с образованием глюкозо-6-фосфата. Метаболизм этого соединения мо-

жет осуществляться по пяти основным направлениям, выбор которых зависит от соотношения между потребностями организма и количеством поступивших с пищей углеводов.

1.2. Печень поддерживает постоянный уровень глюкозы в крови при голодании за счет активации гликогенолиза и глюконеогенеза, а при избыточном ее поступлении из кишечника глюкоза депонируется в виде гликогена и липидов.

1.3. Знайте, что обратимость превращения лактата в пируват (направление реакции) зависит от соотношения $\text{НАДН}\cdot\text{Н}^+/\text{НАД}^+$.

1.4. Знайте, что жирные кислоты — основной субстрат энергетического метаболизма в печени и предшественники в биосинтезе холестерина, кетоновых тел, липидной части липопротеинов плазмы крови.

1.5. Этанол окисляется, главным образом, в печени, где при участии НАД-зависимых дегидрогеназ, последовательно превращаясь в уксусный альдегид и уксусную кислоту, приводит к увеличению отношения $\text{НАДН}\cdot\text{Н}^+/\text{НАД}^+$. Объясните, почему при алкогольном токсикозе наблюдается гиперлактатемия и гипогликемия. Напишите реакции, подтверждающие указанные явления.

1.6. Объясните:

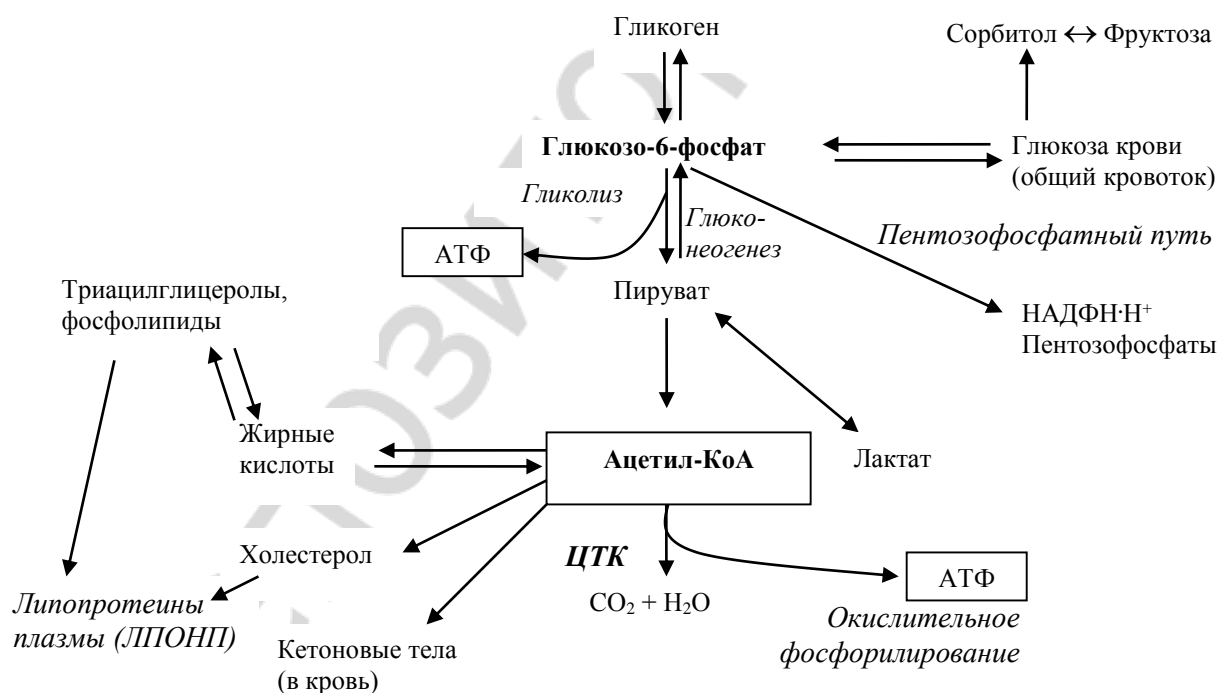
а) почему уже через три часа после удаления печени у животных развивается гипогликемия и наступает смерть, если ежечасно не вводить глюкозу;

б) почему введение галактозы, лактата или пирувата в этих условиях не эффективно.

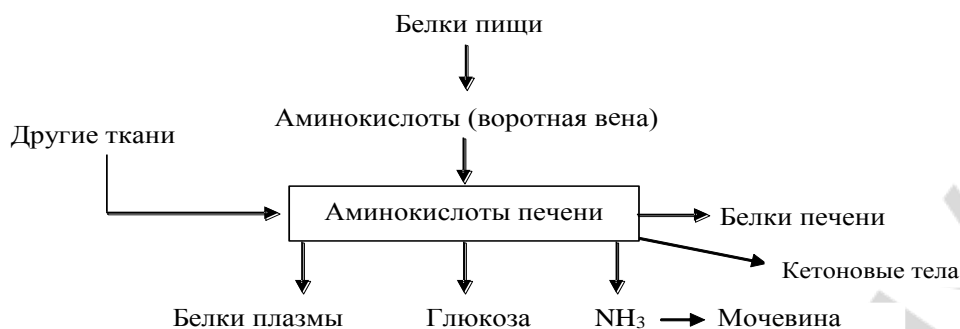
1.7. Выберите продукты липидного обмена, синтезирующиеся преимущественно в печени:

- | | | |
|-----------------|--------------------|-------------------------|
| А. Холестерол. | Г. Кетоновые тела. | Ж. Свободный билирубин. |
| Б. ТАГ. | Д. Хиломикроны. | З. ЛПОНП. |
| В. Фосфолипиды. | Е. ЛПВП. | |

Пути превращения углеводов и липидов в печени



Задание 2. Знайте, что аминокислоты, всосавшиеся в кишечнике и поступившие затем в печень, имеют несколько основных путей метаболизма:



2.1. У больного с алкогольным циррозом печени наблюдается сильная отечность. С нарушением синтеза каких веществ в печени связано это состояние?

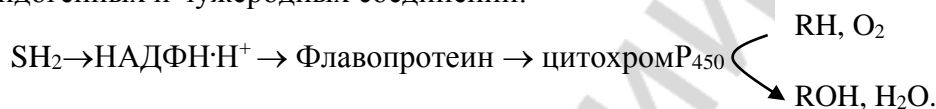
А. Мочевины. Б. Альбуминов. В. Холестерола. Г. Гаптоглобина. Д. Фибриногена.

2.2. В организме здорового человека железо депонируется в печени, селезенке, костном мозге. В составе какого белка происходит его депонирование?

А. Ферритина. В. Апоферритина.
Б. Трансферрина. Г. Плазмина. Д. Церулоплазмина.

Задание 3. Усвойте механизмы обезвреживания веществ в печени.

Найдите основы функционирования микросомной системы окисления как пути метаболизма эндогенных и чужеродных соединений:



Таким способом гидроксилируются стероиды в процессе образования гормонов коры надпочечников, ряд лекарственных препаратов и чужеродных соединений.

В результате гидроксилирования уменьшается токсичность и повышается растворимость ксенобиотиков, что способствует выведению их из организма. Многие лекарственные вещества, например, фенobarбитал, способны индуцировать синтез микросомных ферментов и цитохрома P₄₅₀.

Найдите, что конъюгационная фаза необходима для образования малотоксичных и легко выводимых продуктов метаболизма лекарств и может протекать как самостоятельный этап обезвреживания.

У больного инфекционным гепатитом произошло обесцвечивание кала. С отсутствием в кишечнике какого продукта распада билирубина это связано?

А. Копропорфирина. Б. Стеркобилина. В. Биливердина. Г. Вердоглобина.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с ответами.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Выберите субстраты, необходимые для синтеза гема:

А. Глицин. В. Биливердин.
Б. Сукцинил-КоА. Г. Железо. Д. Билирубин.

Задание 2. Непрямой билирубин в комплексе с альбуминами транспортируется по крови в печень, где превращается в прямой. Данный процесс осуществляется в результате реакции конъюгации непрямого билирубина с:

А. Гулоновой кислотой. В. Галактуроновой кислотой.
Б. Аскорбиновой кислотой. Г. Глюкуроновой кислотой. Д. Глюкозой.

Задание 3. Выберите правильный ответ. В печени идет синтез всех нижеперечисленных веществ, кроме:

А. Холестерола. В. Кетоновых тел.
Б. Жирных кислот. Г. Хиломикронов. Д. Триацилглицеролов.

Задание 4. Методом дифференциального центрифугирования клеток печени была получена микросомная фракция. Микросомное окисление — это способ обезвреживания токсических веществ в печени. Выберите компонент этой цепи окисления:

- А. Цитохром аз. В. Цитохром b.
Б. Цитохром с. Г. Цитохром р₄₅₀. Д. Цитохром с₁.

Задание 5. При паренхиматозной желтухе в моче больного можно обнаружить:

- А. Непрямой билирубин. В. Стеркобилин. Д. Мезобилирубин.
Б. Прямой билирубин. Г. Уробилин.

Задание 6. Больному с жировой инфильтрацией печени назначена растительно-молочная диета. Дефицит каких липотропных веществ восполняют рекомендованные продукты?

- А. Ненасыщенных жирных кислот. В. Креатина. Д. Серотонина.
Б. Насыщенных жирных кислот. Г. Метионина. Е. Кальцитонина.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1.1– В. 1.2– А. 2– Б. 3.1– В, Г. 3.2– А, Б. 4– А. 5– Б.

Для самостоятельной работы:

1.5 – пируват + НАДН·Н⁺ ↔ лактат + НАД⁺.

При приеме алкоголя отмечается гипоглюкоземия, потому что в этих условиях в клетках печени снижается концентрация пирувата, что приводит к снижению скорости глюконеогенеза, являющегося важным источником глюкозы крови.

1.7– А, Б, В, Г, Е, З. 2.1– Б. 2.2– А. 3– Б.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА (60 минут)

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Исследование коллоидоустойчивости белков сыворотки крови*

Проба Вельтмана в модификации Тейля

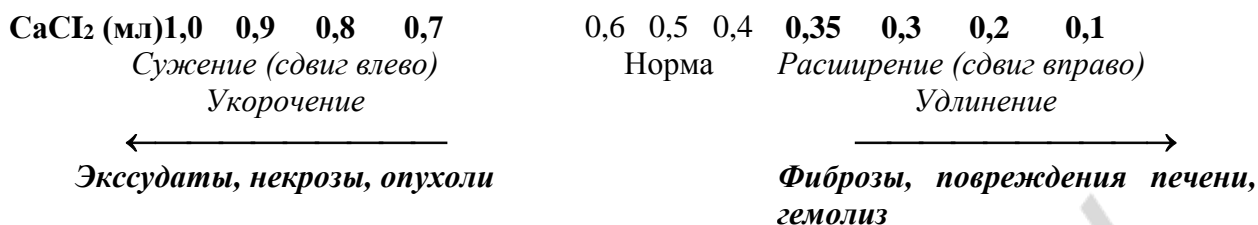
Принцип метода. Реакция основана на том, что белки сыворотки крови при добавлении раствора хлористого кальция определенной концентрации и последующем нагревании выпадают в виде хлопьев в осадок (происходит нарушение коллоидной устойчивости).

Ход определения. К 4,9 мл воды прибавляют 0,1 мл сыворотки, содержимое пробирки перемешивают путем ее опрокидывания (при этом пробирку можно закрывать большим пальцем) и затем приливают 0,1 мл 0,5 % раствора хлористого кальция (из пипетки на 1,0 мл или капельницы, если объем каждой капли соответствует 0,05 мл). Содержимое пробирки встряхивают и нагревают над пламенем спиртовки до однократного вскипания смеси. Затем пробирку охлаждают и смотрят через нее на свет. Если хлопья в пробирке не обнаруживаются, то в нее добавляют еще 0,1 мл СаСl₂ и раствор вновь нагревают до кипения. Процедуру повторяют до выпадения хлопьевидного осадка. Записывают общий объем СаСl₂ (в мл), добавленный в пробирку.

Примечание. Сыворотка для исследования должна быть свежей (хранящейся не более 24 часов от момента взятия), без следов гемолиза.

Результат:

Клинико-диагностическое значение реакции Вельтмана. Реакция коагуляции с хлористым кальцием (по Вельтману) может изменяться в двух направлениях: в сторону укорочения коагуляционной ленты или ее удлинения (см. схему).



Главные причины, которые ведут к удлинению полосы (коагуляция, наступающая при добавлении менее 0,4 мл CaCl₂), — это фиброзные и пролиферативные процессы, повреждения паренхимы печени и гемолитические состояния. Сдвиг вправо отмечается при болезни Боткина, циррозах, острой желтой атрофии печени, малярии, после переливания крови, аутогемотерапии и при многих воспалительных заболеваниях. Считают, что удлинение коагуляционной полосы обусловлено повышением содержания γ-глобулинов, снижающих стабильность сыворотки.

Укорочение коагуляционной полосы (коагуляция, наступающая при добавлении более 0,6 мл CaCl₂) обнаруживается при острых воспалительных и экссудативных процессах. В этих случаях увеличивается количество α- и β-глобулинов и за счет этого повышается стабильность сыворотки (экссудативная фаза ревматизма, активный процесс туберкулеза легких, нефрозы, макроглобулинемия Вальденштрема, α₂-, β-плазмоцитомы, злокачественные опухоли, экссудативный перитонит, некрозы, большие потери жидкости, острые инфекционные заболевания). Крайнее укорочение коагуляционной ленты (отрицательная проба) наблюдается при остром ревматизме.

Вывод:

Работа 2. *Определение содержания общего билирубина в сыворотке крови*

Принцип метода. Диазореактив образует с растворимым билирубином азобилирубин, окрашенный в розовый цвет. Интенсивность окраски раствора азобилирубина пропорциональна концентрации билирубина и может быть определена колориметрически. Конъюгированный (прямой) билирубин дает прямую реакцию с диазореактивом. Неконъюгированный (непрямой) билирубин можно перевести в растворимое состояние добавлением к сыворотке крови этилового спирта.

Ход определения. В центрифужную пробирку отмеривают 1 мл сыворотки крови, 2 мл этилового спирта, тщательно перемешивают содержимое стеклянной палочкой и центрифугируют 15 мин при скорости 3000 об/мин. Затем сливают надосадочную жидкость в другую пробирку и добавляют к ней 0,25 мл диазореактива. При этом появляется красно-розовое окрашивание, интенсивность которого определяют через 10 минут, измеряя оптическую плотность пробы против воды в кювете шириной 5 мм при зеленом светофилтре (500–560 нм). Параллельно колориметрируют стандартный раствор азобилирубина, соответствующий концентрации билирубина 6,84 мкмоль/л (C_{ст}).

Расчет производят по формуле:

$$C_{\text{оп}} = E_{\text{оп}} \cdot C_{\text{ст}} / E_{\text{ст}}$$

В норме концентрация общего билирубина в плазме (сыворотке) крови составляет 8,55–20,52 мкмоль/л. Основное количество (75%) приходится на долю непрямое билирубина.

Результаты: $E_{\text{оп}} =$ $E_{\text{ст}} =$ Расчет:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЭКЗАМЕНУ (2021)

ПЕРВЫЕ ВОПРОСЫ

1. Современные представления о химическом строении нуклеиновых кислот: ДНК и РНК, их распределение в клетке. Функции.
2. Особенности первичной и вторичной структуры ДНК и РНК. Взаимодействие нуклеиновых кислот с белками. Строение нуклеопротеинов. Особенности строения хромосом и рибосом.
3. Мононуклеотиды, их строение и роль в клетке. Нуклеозидтрифосфаты и их значение. Роль циклических пуриновых мононуклеотидов.
4. Роль ферментов в процессах жизнедеятельности. Принципы номенклатуры и классификации ферментов.
5. Химическая природа ферментов. Общие свойства ферментов.
6. Коферменты. Классификация и роль.
7. Механизм действия ферментов и ферментативная кинетика.
8. Множественные формы ферментов, их классификация. Изоферменты, их молекулярные разновидности, значение в клетке.
9. Понятие об активном и аллостерическом центрах ферментов. Роль пространственной структурной организации в их формировании.
10. Способы регуляции активности ферментов. Аллостерическая регуляция активности. Другие виды регуляции активности.
11. Ингибиторы ферментов, классификация, характеристика.
12. Применение ферментов и их ингибиторов в медицинской практике.
13. Общая характеристика и классификация витаминов: гипер-, гипо- и авитаминозы. Аневитамины.
14. Витамины группы А. Провитамины (каротины). Биологическая роль. Явления гипо- и гипервитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
15. Витамины группы Д. Биологическая роль. Явления гипо- и гипервитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
16. Витамины группы Е. Биологическая роль. Явления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
17. Витамины группы К. Биологическая роль. Гиповитаминоз. Пищевые источники. Суточная потребность. Викасол.
18. Биотин. Участие в образовании коферментов, биологическая роль. Комплекс биотин-авидин. Явления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
19. Витамин В₁. Участие в построении коферментов. Роль в обмене веществ. Явление недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
20. Витамин В₂. Участие в образовании флавиновых коферментов. Биологическая роль. Пищевые источники. Суточная потребность.
21. Витамин В₆. Участие в образовании коферментов. Роль в обмене веществ. Явления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
22. Витамин В₁₂. Кобамидные коферменты. Участие в обмене веществ. Внутренний фактор. Явления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
23. Витамин С. Биологическое значение. Признаки гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
24. Пантотеновая кислота. Коферменты, содержащие пантотеновую кислоту. Биологическая роль. Пищевые источники. Суточная потребность.
25. Витамин РР. Участие в образовании никотинамидных коферментов. Биологическое значение. Проявления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.

26. Фолиевая кислота. Участие в образовании коферментов. Роль в обмене веществ. Основные проявления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
27. Витаминоподобные вещества: биофлавоноиды (витамин P), парааминобензойная кислота, инозитол, пангамовая кислота, липоевая кислота, холин, витамин U. Биологическая роль.

ВТОРЫЕ ВОПРОСЫ

1. Обмен веществ и энергии как важнейший признак жизнедеятельности. Общее представление о метаболизме. Общие пути метаболизма.
2. Две стороны метаболизма (катаболизм и анаболизм). Различия и взаимосвязи между ними.
3. Адениловая система и ее биологическое значение. Другие макроэргические соединения. Субстратное фосфорилирование.
4. Окислительно-восстановительные процессы в тканях. Пути использования кислорода в клетках.
5. Современное представление о тканевом дыхании. Дыхательная цепь митохондрий и ее характеристика: никотинамидзависимые и флавинзависимые дегидрогеназы, убихинон (коэнзим Q), цитохромная система, их химическое строение и роль в окислительных процессах.
6. Окислительное фосфорилирование. Хемосмотическая теория окислительного фосфорилирования. Причины гипознергетических состояний. Ингибиторы ферментов дыхательной цепи, механизм их действия.
7. Пищевая ценность углеводов. Переваривание и всасывание углеводов. Биологическая роль пищевых волокон.
8. Синтез и распад гликогена. Последовательность реакций, ключевые ферменты, механизмы регуляции. Различия гликогенолиза в печени и мышцах. Особенности синтеза гликогена у бактерий полости рта.
9. Дихотомический распад углеводов как источник энергии для организма. Анаэробное и аэробное окисление глюкозы, этапы, конечные продукты. Энергетический выход.
10. Гликолиз. Этапы, реакции, ферменты, биологическая роль. Энергетический выход анаэробного гликолиза. Механизм образования АТФ в анаэробных условиях.
11. Судьба конечных продуктов гликолиза — пировиноградной и молочной кислот. Глюконеогенез. Ферменты, участвующие в глюконеогенезе. Регуляция глюконеогенеза.
12. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и других α -кетокислот, ферменты, коферменты, биологическое значение.
13. Центральным метаболическим путем — лимоннокислый цикл Кребса. Схема, ферменты, локализация в клетке. Биологическое значение цикла Кребса. Связь с процессом окислительного фосфорилирования.
14. Пентозофосфатный путь распада глюкозы и его биологическая роль.
15. Глюкуроновый путь распада глюкозы. Биологическая роль. Пути метаболизма глюкуроновой кислоты.
16. Гуморальная регуляция содержания глюкозы в крови. Механизм регуляторного действия гормонов (инсулин, глюкагон, адреналин, глюкокортикоиды).
17. Механизмы образования углекислого газа и воды — конечных продуктов обмена веществ.
18. Липиды. Биологическая роль. Классификация липидов. Их основные свойства.
19. Характеристика жирнокислотного состава природных липидов. Классификация жирных кислот. Высоконепредельные жирные кислоты
20. Производные арахидоновой кислоты (простагландины, простаглицлины, тромбоксаны и лейкотриены) и их биологическая роль.
21. Триацилглицеролы. Химическое строение, свойства и биологическая роль.
22. Глицерофосфолипиды. Химическое строение, свойства и биологическая роль.

23. Холестерол, биосинтез и биологическая роль.
24. Нарушения обмена холестерина. Роль в развитии атеросклероза.
25. Переваривание жиров и фосфолипидов в пищеварительном тракте: эмульгирование, ферменты, продукты гидролиза, мицеллярное растворение. Роль желчных кислот.
26. Механизмы ресинтеза липидов в энтероцитах (моноацилглицерольный и глицерофосфатный). Формирование хиломикрон, их состав и структура.
27. Липопротеины сыворотки крови. Классификация, состав, место образования, взаимопревращения. Роль липопротеинлипазы крови. Лецитин: холестеролацилтрансфераза (ЛХАТ) и ее роль.
28. Депонирование и мобилизация жира в жировой ткани. Жиромобилизующая липаза.
29. Синтез липидов в печени. Липотропные факторы и их роль в организме.
30. Центральная роль ацетил-КоА в обмене веществ.
31. Окисление жирных кислот в организме, биологическая роль. β -Окисление в митохондриях и пероксисомах, окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов, судьба пропионовой кислоты.
32. Химизм β -окисления жирных кислот. Роль КоА-SH и АТФ. Локализация окисления в клетке. Связь с ферментами переноса электронов. Энергетический выход β -окисления.
33. Кетоновые тела. Механизмы образования, роль в организме. Кетоз при диабете и голодании. Значение определения кетоновых тел в моче.
34. Синтез жирных кислот. Связь с гликолизом, пентозофосфатным путем превращения глюкозы, циклом Кребса. Значение CO_2 , АТФ, НАДФН \cdot H $^+$, биотина. Полиферментный комплекс, синтезирующий жирные кислоты. Активаторы и ингибиторы синтеза жирных кислот.
35. Регуляция обмена липидов (инсулин, глюкагон, СТГ, тироксин, адреналин, гормоны коры надпочечников и половые гормоны).

ТРЕТЬИ ВОПРОСЫ

1. Гормоны. Химическая природа. Классификация.
2. Механизмы действия гормонов. Роль G-белков, вторичных посредников, протеинкиназ.
3. Механизмы действия гормонов. Общие представления о рецепторах к гормонам, классификация рецепторов.
4. Аденогипофиз. Роль в регуляции функции периферических желез внутренней секреции. Тропные гормоны. Связь с гипоталамусом.
5. Вазопрессин. Механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, биологическое действие.
6. Гормоны щитовидной железы. Химическая природа, механизм действия, влияние на метаболизм. Гипо- и гипертиреоз.
7. Гормоны, регулирующие обмен кальция и фосфора. Химическая природа, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, биологическое действие.
8. Инсулин. Химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, влияние на обмен веществ. Сахарный диабет.
9. Глюкагон. Химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, влияние на обмен веществ.
10. Глюкокортикоиды. Химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках мишенях, влияние на обмен веществ.
11. Минералокортикоиды. Химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, влияние на обмен веществ.
12. Гормоны мозговой части надпочечников. Катехоламины: дофамин, адреналин, нор-адреналин. Строение, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, роль в организме.

13. Мужские и женские половые гормоны, химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях. Влияние на обмен веществ.
14. Азотистый баланс. Нормы белков в питании. Биологическая ценность белков.
15. Характеристика протеаз. Роль ограниченного протеолиза в жизнедеятельности клетки.
16. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Качественный и количественный анализ желудочного сока. Роль соляной кислоты.
17. Аминокислотный фонд клетки. Источники пополнения. Пути использования аминокислотного фонда.
18. Переаминирование. Ферменты. Коферменты. Роль этого процесса для жизнедеятельности клетки. Диагностическое значение определения активности трансаминаз в сыворотке крови.
19. Пути дезаминирования аминокислот. Ферменты и коферменты окислительного дезаминирования. Биологическое значение глутаматдегидрогеназной реакции.
20. Пути превращения безазотистого остатка аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.
21. Пути обезвреживания аммиака. Транспортные формы аммиака (глутамин, аспаргин), их образование.
22. Образование мочевины. Роль печени в мочевинообразовании. Значение исследования уровня мочевины и остаточного азота в клинической практике.
23. Декарбоксилирование аминокислот. Образование биогенных аминов и их роль в организме.
24. Конечные продукты распада пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов. Значение определения содержания мочевой кислоты в крови и моче в клинической практике.
25. Биосинтез пуриновых нуклеотидов. Исходные субстраты синтеза. Регуляция синтеза. Роль витаминов в механизмах синтеза.
26. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов. Исходные субстраты синтеза. Регуляция синтеза. Роль витаминов в синтезе пиримидиновых нуклеотидов.
27. Матричный механизм синтеза ДНК. Ферменты и субстраты синтеза. Особенности синтеза у эукариот.
28. Синтез РНК. Ферменты и субстраты синтеза. Особенности синтеза у эукариот.
29. Генетический код и его свойства.
30. Роль т-РНК в синтезе белка. Адапторная функция т-РНК. Рекогниция как этап реализации генетической информации. Специфичность АРСаз.
31. Современные представления о биосинтезе белка.
32. Постсинтетическая модификация белков. Виды, биологическое значение.
33. Регуляция биосинтеза белка в клетке.
34. Современные методы молекулярной биологии и их применение в медицинской практике (ПЦР, генная инженерия).
35. Химический состав мышечной ткани. Строение и роль сократительных белков.
36. Источники энергии и механизмы энергообеспечения мышечного сокращения.
37. Роль печени в обменных процессах в организме. Антитоксическая функция печени.
38. Синтез и распад кровяных пигментов. Роль печени в образовании желчных пигментов. Метаболизм желчных пигментов.

ЧЕТВЕРТЫЕ ВОПРОСЫ

1. Коллаген, аминокислотный состав, особенности пространственной структуры.
2. Особенности синтеза коллагена. Внутри- и внеклеточные этапы процесса образования «зрелого» коллагена.
3. Эластин. Роль в организме. Особенности первичной структуры. Значение внеклеточных этапов в механизмах формирования зрелой эластической ткани.

4. Белково-углеводные комплексы, классификация, роль в организме. Особенности синтеза и распада.
5. Неколлагеновые белки внеклеточного матрикса. Роль в организме. Минеральный компонент костной ткани и твердых тканей зуба. Химический состав. Кристаллы гидроксипатита.
6. Химический состав твердых тканей зуба (эмали, дентина, цемента). Неколлагеновые белки тканей зуба и их роль в минерализации зубных тканей.
7. Химический состав костной ткани. Белки костной ткани и их роль в процессах минерализации. Теории минерализации костной ткани и твердых тканей зуба. Факторы, влияющие на процессы минерализации. Этапы изоморфного замещения элементов кристаллической решетки и его роль в образовании кристаллов апатита.
8. Ca^{2+} -связывающие белки и их роль в организме. Кальций и фосфор: роль в процессах жизнедеятельности. Обмен кальция и фосфора в организме.
9. Ротовая жидкость. Химический состав. Функции. Значение слюны в процессах реминерализации эмали.
10. Белки и ферменты ротовой жидкости, их роль в ротовой полости. Понятия «десневая жидкость» и «зубной ликвор». Особенности химического состава. Значение для тканей ротовой полости.
11. Влияние питания на состояние зубов. Роль углеводов, белков, витаминов и микроэлементов. Фтор и его роль в процессах жизнедеятельности. Источники фтора и потребность в нем.
12. Поверхностные образования на эмали. Происхождение, химический состав. Кариес. Причины, механизм развития, профилактика.
13. Особенности утилизации углеводов бактериями полости рта. Синтез гликогена и внеклеточных полисахаридов (декстран, леван), их назначение. Обмен сахарозы у бактерий, связь с изменением pH ротовой жидкости и развитием кариеса.
14. Белки плазмы крови, классификация и их роль в организме.
15. Общие представления о регуляции кислотно-основного состояния (КОС). Буферные системы крови и их значение. Доказательство буферных свойств сыворотки крови.
16. Механизмы переноса углекислоты и кислорода кровью. Механизмы развития гипоксических состояний.
17. Свертывание крови. Факторы и механизмы свертывания. Значение ионов кальция и витамина К в процессах свертывания крови.
18. Фибринолиз. Плазминовая система.
19. Антикоагулянтная система. Первичные и вторичные антикоагулянты.
20. Вода. Значение воды. Биологическая роль ионов натрия и калия. Механизмы регуляции водно-минерального обмена.
21. Микроэлементы. Их значение. Роль железа, меди, йода, селена.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Занятие 1. Введение в биохимию. Пространственная структура белков. Физико-химические свойства белков. Высаливание и осаждение белков	5
Занятие 2. Ферменты. Классификация, строение, свойства. Влияние различных факторов на скорость ферментативных реакций	11
Занятие 3. Регуляция действия ферментов. Количественное определение активности ферментов.....	16
Занятие 4. Введение в метаболизм. Центральный метаболический путь — цикл Кребса	21
Занятие 5. Биологическое окисление. Окислительное фосфорилирование. Пути утилизации кислорода клетками	26
Занятие 6. Коллоквиум по темам: «Ферменты», «Введение в метаболизм. Центральные метаболические пути», «Биологическое окисление. Окислительное фосфорилирование».....	33
Занятие 7. Переваривание углеводов. Метаболизм гликогена. Гликолиз и спиртовое брожение	34
Занятие 8. Пути метаболизма пирувата. Глюконеогенез. Аэробный распад глюкозы. Определение ПВК в моче.	38
Занятие 9. Вторичные пути обмена глюкозы — пентозофосфатный, глюкуроновый. Особенности обмена углеводов у микроорганизмов полости рта. Влияние гормонов на уровень глюкозы в крови	42
Занятие 10. Коллоквиум по теме «Обмен углеводов».....	48
Занятие 11. Обмен липидов. Переваривание, всасывание и ресинтез. Транспорт экзогенных липидов. Эмульгирование триацилглицеролов желчными кислотами. Кинетика действия панкреатической липазы.....	49
Занятие 12. Транспорт липидов кровью. Обмен холестерина. Депонирование и мобилизация липидов. Количественное определение β -липопротеинов в сыворотке крови.....	55
Занятие 13. Внутриклеточный обмен жирных кислот. Кетоновые тела. Количественное определение холестерина в сыворотке крови.	59
Занятие 14. Коллоквиум по теме «Обмен липидов»	65
Занятие 15. Биохимия крови. Физико-химические свойства крови. Количественное определение хлоридов в крови. Определение щелочного запаса титрометрическим методом. Оценка буферных свойств крови	67
Занятие 16. Биохимия крови. Белки плазмы крови. Система свертывания крови. Количественное определение кальция в плазме крови	73
Занятие 17. Переваривание и всасывание белков. Анализ желудочного сока.....	78
Занятие 18. Внутриклеточный обмен аминокислот. Определение активности аминотрансфераз в сыворотке крови.....	82
Занятие 19. Пути обезвреживания аммиака. Количественное определение остаточного азота крови и мочевины в моче	85
Занятие 20. Коллоквиум по темам «Обмен простых белков», «Биохимия крови».....	89
Занятие 21. Химия и обмен нуклеопротеинов. Количественное определение мочевой кислоты в моче	90

Занятие 22. Матричные биосинтезы (синтез ДНК, РНК, белков). Современные методы молекулярной биологии	94
Занятие 23. Общая характеристика и особенности биологического действия гормонов. Механизмы действия гормонов.....	98
Занятие 24. Биохимия гормонов. Гормоны гипоталамуса, гипофиза, коры надпочечников, гормоны щитовидной железы. Половые гормоны. Качественные реакции на гормоны	102
Занятие 25. Биохимия гормонов. Гормоны, регулирующие уровень глюкозы в крови. Сахарный диабет. Тест на толерантность к глюкозе	106
Занятие 26. Коллоквиум по темам «Обмен нуклеопротеинов», «Биосинтез ДНК, РНК и белка», «Гормоны»	112
Занятие 27. Биохимия питания. Роль белков жиров, углеводов, витаминов. Водорастворимые витамины. Количественное определение витамина С в моче	113
Занятие 28. Биохимия питания. Жирорастворимые витамины. Качественные реакции на витамины А, Е, К	117
Занятие 29. Вода и минеральные вещества. Макро- и микроэлементы. Гормональная регуляция водно-электролитного обмена. Определение содержания калия в сыворотке крови.....	120
Занятие 30. Белки соединительных тканей	123
Занятие 31. Биохимия органов полости рта и ротовой жидкости	126
Занятие 32. Коллоквиум по темам: «Биохимия питания», «Белки соединительных тканей» «Биохимия органов полости рта и ротовой жидкости»	132
Занятие 33. Биохимия печени	133
Перечень вопросов для подготовки к экзамену (2021)	140

Учебное издание

Таганович Анатолий Дмитриевич
Колб Александр Владимирович
Олецкий Эдуард Иванович и др.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ. ПРАКТИКУМ

Учебно-методическое пособие

4-е издание

Ответственный за выпуск А. Д. Таганович
Компьютерная верстка А. В. Янушкевич

Подписано в печать 21.10.20. Формат 60×84/8. Бумага офсетная.

Ризография. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 17,02. Уч.-изд. л. 9,28. Тираж 214 экз. Заказ 1.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.