

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**РУКОВОДСТВО
К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ДЛЯ СТУДЕНТОВ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**

Практикум



Минск БГМУ 2010

УДК 577.1 (076.5)
ББК 28.707.2 я73
P85

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве
практикума 27.10.2010 г., протокол № 2

А в т о р ы: д-р мед. наук, проф. А. Д. Таганович; д-р мед. наук, проф. В. К. Кухта; д-р биол. наук, проф. Т. С. Морозкина; 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. мед. наук, ст. преп. Л. П. Лисицына; канд. биол. наук, ассист. Н. И. Гронская; ассист. З. И. Полякова; канд. хим. наук, ассист. Н. Н. Ковганко; лаб. Г. Н. Мороз

Р е ц е н з е н т ы: доц. О. Н. Ринейская; доц. В. Э. Бутвиловский

Руководство к практическим занятиям по биологической химии для студентов стоматологического факультета : практикум / А. Д. Таганович [и др.]. – Минск : БГМУ, 2010. – 139 с.

ISBN 978-985-528-264-9.

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.

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

УДК 577.1 (076.5)
ББК 28.707.2 я73

ISBN 978-985-528-264-9

© Оформление. Белорусский государственный
медицинский университет, 2010

Предисловие

Настоящее руководство разработано в соответствии с Государственным образовательным стандартом Республики Беларусь, новой типовой и рабочей программами по биологической химии, утвержденными в 2008 г., на основании которых ведется обучение врачебных кадров по специальности 1-79 01 07 «Стоматология». Оно предназначено для подготовки и активной работы на лабораторно-практических занятиях студентов стоматологического факультета БГМУ. Необходимость подготовки данного издания обусловлена изменениями в учебном плане стоматологического факультета и, соответственно в рабочей программе, согласно которым количество часов, отводимых на изучение биологической химии, уменьшилось. Вместе с тем преподавание биологической химии студентам-стоматологам должно быть профилировано с учетом их будущей профессии. Поэтому в представленном практикуме сокращен целый ряд лабораторных работ, пересмотрено содержание тем занятий, вопросов для обсуждения, обучающих тестов, тестовых заданий, заданий для самопроверки исходного уровня знаний, контрольных вопросов к итоговым занятиям. Кроме того, вместо одного семинарского занятия предусмотрено четыре, что позволит помочь изучению биологической химии в объеме, необходимом для подготовки будущего врача-стоматолога.

Каждая разработка к практическому занятию написана таким образом, чтобы студент мог пользоваться ею как своеобразным путеводителем в изучении той или иной темы. В каждой теме обозначена ее актуальность для практической медицины и стоматологии, в частности, сформулирована цель ее изучения для Вас как для будущих врачей, рекомендуется основная и дополнительная литература. Далее следует блок заданий (сюда входят вопросы, тесты, задачи), которые призваны сориентировать студента, с чего начать освоение темы, на что обратить особое внимание, как проконтролировать результат своей подготовки. Завершается разработка описанием лабораторных методов и протоколом выполнения практической работы.

Для подготовки к итоговым контрольным занятиям приводятся вопросы, освоив ответы на которые Вы сможете без особых усилий справиться с предлагаемым заданием.

Настоящее руководство будет способствовать изучению молекулярных механизмов жизнедеятельности организма человека и тем самым созданию необходимой базы для формирования у студентов, будущих стоматологов, клинического мышления.

В составлении данного издания принимали участие все преподаватели кафедры.

*А. Д. Таганович,
зав. кафедрой биологической химии БГМУ, профессор*

Тема 1. Введение в практикум. Введение в биохимию. Строение аминокислот и пептидов. Количественное определение содержания белка в биологических жидкостях

Актуальность темы

Аминокислоты после всасывания используются в организме для синтеза специфических тканевых белков, ферментов, гормонов, гема, биогенных аминов, пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований. В печени из аминокислот синтезируются белки плазмы крови. Методы количественного определения белка в биологических жидкостях (растворах) широко используются в медицинской практике. Количественное определение содержания белка в сыворотке (плазме) крови проводят для диагностики целого ряда заболеваний.

Цель занятия

Изучить строение и физико-химические свойства аминокислот как структурных единиц белков и пептидов и усвоить общие принципы определения содержания белка в биологических жидкостях.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить:

- из курса *общей химии*:
 - правила работы в химических лабораториях;
- курса *биоорганической химии*:
 - аминокислотный состав белков;
 - строение аминокислот, номенклатура;
 - классификация и общие свойства аминокислот;
 - пептиды, электронное и пространственное строение пептидной связи;
 - классификация и функции белков;
- курса *медицинской и биологической физики*:
 - устройство и принцип работы фотоэлектродетектора.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Какая из перечисленных аминокислот является нейтральной?

А. Гистидин. Б. Аланин. В. Аспартат. Г. Лизин.

Задание 2. Выберите аминокислоту, которая не обладает оптической активностью:

А. Аланин. Б. Цистеин. В. Глицин. Г. Аргинин.

Задание 3. Назовите аминокислоту, содержащую кольцо индола:

А. Оксализин. Б. Серин. В. Триптофан. Г. Пролин. Д. Гистидин.

Задание 4. Выберите α -аминокислоту:

А. Оксализин. Б. Серин. В. Триптофан. Г. Пролин. Д. Гистидин.

Задание 5. Олигопептид — это соединение, которое содержит:

А. 2 остатка аминокислот. Б. 9 остатков аминокислот.
В. 10 остатков аминокислот. Г. 12 остатков аминокислот.

Задание 6. Белок — это соединение, которое содержит:

А. 15 остатков аминокислот. Б. 28 остатков аминокислот.
В. 49 остатков аминокислот. Г. 120 остатков аминокислот.

Задание 7. Какие функции присущи только белкам?

А. Энергетическая. Б. Каталитическая.
В. Буферная. Г. Структурная.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Вопросы для обсуждения

1. Предмет, цели и задачи биохимии. Объекты и методы исследований в биохимии.
2. Аминокислоты, классификация. Общие свойства. Формулы протеиногенных аминокислот, номенклатура.
3. Пептиды, строение. Классификация и биологическая роль пептидов.
4. Белки как класс органических веществ, биологические функции. Классификация белков.
5. Методы количественного определения белка (рефрактометрический, нефелометрический, фотоэлектроколориметрический, спектрофотометрический). Принципы определения, применение в клинике.
6. Общие принципы спектрофотометрии. Молярный коэффициент экстинкции. Построение калибровочного графика и работа с ним.
7. Количественное определение белка биуретовым методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинум, Асар, 2008. С. 3–4, 7–18, 21, 39–40.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 13–19, 28–37, 60–64.
3. *Конспект лекций.*

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Молекула аминокислоты, находящаяся в изоэлектрической точке:

- А. Имеет положительный заряд.
- Б. Не имеет заряда.
- В. Имеет отрицательный заряд.

Задание 2. В изоэлектрической точке белок:

- А. Имеет наименьшую растворимость.
- Б. Является катионом.
- В. Является амфионом.
- Г. Обладает наибольшей степенью ионизации.

Задание 3. В какой среде пептид Ала-Гис-Лиз-Фен будет двигаться к катоду при электрофорезе?

- А. Кислой.
- Б. Нейтральной.
- В. Щелочной.

Задание 4. Выберите правильные утверждения:

- А. Биуретовую реакцию дают все аминокислоты.
- Б. Биуретовую реакцию дает биурет.
- В. Биуретовую реакцию дают трипептиды.
- Г. Биуретовую реакцию дают белки.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Объясните с точки зрения теории Бренстеда–Лоури и правила Хюккеля, почему гистидин относится к положительно заряженным аминокислотам, а триптофан, аспарагин и глутамин — к нейтральным.

Задание 2. В клинической лаборатории для целей парентерального питания смесь аминокислот (Гли, Ала, Глу, Лиз, Арг, Сер, Асп) разделяют методом электрофореза при $pH = 6,0$. Какие аминокислоты будут двигаться к аноду, какие — к катоду, а какие останутся на месте?

Задание 3. Подберите к каждому белку соответствующую функцию:

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 1. Коллаген. | А. Структурная. |
| 2. Иммуноглобулин. | Б. Сократительная. |
| 3. Инсулин. | В. Транспортная. |
| 4. Гемоглобин. | Г. Каталитическая. |
| 5. Актин. | Д. Защитная. |
| 6. Кератин. | Е. Гормональная. |
| 7. Родопсин. | Ж. Рецепторная. |
| 8. Альбумин. | З. Токсическая. |

Задание 4. При проведении электрофореза в условиях, где рН буферного раствора выше, чем изоэлектрическая точка белка, последний:

- А. Мигрирует к катоду.
- Б. Мигрирует к аноду.
- В. Остается на линии старта.
- Г. Образует биполярный ион.
- Д. Подвергается гидролизу.

Задание 5. Свойство поглощать световой поток с длиной волны 280 нм при спектрофотометрии обусловлено наличием в белке:

- А. Триптофана.
- Б. Пролина.
- В. Гистидина.
- Г. Тирозина.

Задание 6. В клинику поступил ребенок 3-х лет с пищевым отравлением. Жалобы: диарея, рвота. При биохимическом анализе крови концентрация общего белка — 100 г/л. Данный показатель характеризует:

- А. Абсолютную гиперпротеинемию.
- Б. Нормопротеинемию.
- В. Относительную гипопроотеинемию.
- Г. Относительную гиперпротеинемию.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

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

Для самостоятельной работы:

1. Б; 2. А; 3. А, Б; 4. Б, В, Г.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Определение общего белка биуретовым методом

Среди различных методов определения общего белка в сыворотке (плазме) крови наибольшее распространение получили колориметрические методы, а среди них — метод, основанный на биуретовой реакции. Он обладает специфичностью определения, точностью и доступностью. Другой колориметрический метод — метод Лоури — сочетает использование биуретовой реакции и реакции восстановления реактива Фолина циклическими аминокислотами (тирозином, фенилаланином, триптофаном). Хотя этот метод и более чувствителен, но он сложен по приготовлению основного раствора и менее специфичен, т. к. целый ряд других веществ образуют с реактивом Фолина комплексы характерной окраски.

Принцип биуретового метода. Метод основан на образовании окрашенного в фиолетовый цвет комплекса пептидных связей белка с ионами двухвалентной меди (сульфата меди) в щелочной среде. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации белка в сыворотке и определяется фотометрически.

Порядок выполнения работы. В 1-ю пробирку (опыт) наливают 0,1 мл исследуемой сыворотки, во 2-ю (контроль) — 0,1 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. В обе пробирки приливают по 5 мл биуретового реактива. Содержимое пробирок осторожно перемешивают, избегая образования пены, и через 30 мин фотометрируют опытную пробу в кюветах на 10 мм при зеленом светофильтре (длина волны — 540 нм) против контрольного раствора. Определив экстинкцию исследуемого раствора, находят по калибровочному графику, какой концентрации белка (в г/л) она соответствует.

Построение калибровочной кривой. Для построения кривой готовят из основного стандартного раствора белка с концентрацией 100 г/л рабочие растворы альбумина: 20, 40, 60, 80 г/л. Для этого к 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 мл стандартного раствора белка добавляют 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0 мл 0,9%-ного раствора NaCl. Из каждого разведения берут по 0,1 мл раствора и вносят в пробирки, содержащие 5 мл биуретового реактива. Через 30 мин измеряют экстинкцию стандартных проб на ФЭК против контроля. Строят график, откладывая на оси абсцисс значения концентрации стандартных растворов белка (в г/л), на оси ординат — соответствующие им величины оптической плотности.

Клинико-диагностическое значение. Нормальное содержание общего белка в сыворотке крови (нормопротеинемия) у взрослых — 65–85 г/л, у детей до 6 лет — 56–85 г/л. Изменения концентрации общего белка могут быть как абсолютные, так и относительные. Относительные изменения связаны с изменением объема крови (плазмы). Так, относительная гипопро-теинемия (понижение концентрации белка в крови) развивается при гидремии, т. е. нагрузке водой, водном отравлении, а относительная гиперпротеинемия (повышение концентрации белка в крови) возникает при сгущении крови из-за значительных потерь жидкости при поносах, неукротимой рвоте, усиленном потоотделении, холере, ожогах. Абсолютная гипопро-теинемия наблюдается при нефритах, злокачественных опухолях, алиментарной дистрофии. Абсолютная гиперпротеинемия встречается сравнительно редко, например, при миеломной болезни, хронических полиартритах.



Ответ:

Вывод:

Подпись преподавателя:

Тема 2. Структура и функции белков. гидролиз простого белка

Актуальность темы

Гидролиз белков — важный этап в механизмах метаболизма белков в клетке. Гидролиз белковой молекулы перед поступлением ее в организм позволяет обойти возможные созданные Природой защитные реакции организма от чужеродных белков. Гидролиз специфического белка, структура которого изменилась под влиянием внешних воздействий, позволяет удалить белок, утративший свою функцию, и использовать повторно его аминокислоты для синтеза других белков. Многие секретируемые белки начинают свою жизнь с гидролитической реакции удаления сигнального пептида на мембранах эндоплазматической сети, а другие при участии гидролиза переходят в свои активные формы. В аналитических целях гидролиз широко используется при определении аминокислотного состава белков.

Цель занятия

Сформировать представление о первичной структуре белковой молекулы. Познакомить со значением реакций гидролиза белков для процессов жизнедеятельности и в медицинской практике.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить

- из *биоорганической химии*:
 - строение аминокислот;
 - свойства пептидной связи;
 - механизм гидролиза.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1.

1.1. Объясните, почему пептидная группа является плоской и жесткой структурой?

1.2. Какие из перечисленных ниже реакций свойственны аминогруппам (1), а какие карбоксильным группам (2) аминокислот?

	-NH ₂ (1)	-COOH (2)
А. Образование солей		
Б. Реакция с 2,4-динитрофторбензолом		
В. Реакция с фенилизотиоцианатом		
Г. Образование эфиров		
Д. Дезаминирование		

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Вопросы для обсуждения

1. Пептидная связь, свойства (рентгеноструктурный анализ, постулаты Полинга–Кори).
2. Правила написания пептидов (белков), их названия и определения заряда.
3. Этапы и методы исследования аминокислотного состава и аминокислотной последовательности белков и пептидов (методы Сэнджера, Эдмана, Акабори, ферментативные).
4. Сравнительный анализ гомологичных белков (метод Ингрема).
5. Значение реакций гидролиза белка для организма и практическое использование белковых гидролизатов в медицинской практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинوم, Асар, 2008. С. 18–21, 25, 28–33.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 30–31, 42–50, 325.
3. *Николаев, А. Я.* Биологическая химия / А. Я. Николаев. М. : Высшая школа, 1989. С. 9–20, 29–30, 41–43.
4. *Конспект лекций.*

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Вспомните, что в основе полипептидной цепи, построенной из α -аминокислот, лежит постоянно повторяющаяся структура $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}-$. Свойства связей, формирующих эту структуру, позволили построить две основные модели расположения ее атомов, названные α -спиралью и β -складчатой структурой. Главное условие стабильности такой структуры — максимум водородных связей, возникающих в ее пределах. Включение аминокислоты пролина в цепь нарушает указанные условия.

1.1. Изобразите, как образуются пептидные связи в трипептиде Лиз-Про-Асп.

Перечислите свойства пептидной связи. Определите заряд этого пептида.

1.2. Объясните, почему в этом пептиде невозможно образование Н-связи, необходимой для стабилизации α -спирали.

1.3. В следующем полипептиде выберите:

А. Возможные места образования изгибов.

Б. Возможные места образования внутрицепочечных ковалентных связей.

В. Ряд из трех остатков с боковыми цепями гидрофобной природы.

Г. Ряд из шести остатков с боковыми цепями гидрофильной природы.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Иле -	Ала -	Три -	Лей -	Тир -	Фен -	Про -	Фен -	Глу -	Ала -	
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
Ала -	Мет -	Цис -	Лиз -	Гис -	Глу -	Глн -	Глу -	Про -	Асп -	
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Гли -	Мет -	Глу -	Цис -	Ала -	Фен -	Гис -	Про -	Тир -	Лей -	Мет

Задание 2. Гомологичные белки выполняют одну и ту же функцию, но различаются по первичной структуре (например, локализованы в разных органах или появляются при патологических состояниях). Например: HbA (содержит Глу) → HbS (содержит Вал) при серповидноклеточной анемии. Объясните, на чем основан метод, который позволяет обнаружить отличия в первичной структуре таких белков.

Задание 3. Выберите правильный ответ. Гидролиз — это:

А. Образование гидратных оболочек.

Б. Распад полимеров до мономеров с участием воды.

В. Присоединение воды к молекуле без ее распада.

Г. Образование воды во время реакции.

Задание 4. Подберите для каждого из пронумерованных методов его назначение:

1. Реакция с динитрофторбензолом (ДНФБ). А. Для определения аминокислотного состава.

2. Ферментная обработка карбоксипептидазой. Б. Для определения аминокислотной последовательности.

3. Реакция с дансилхлоридом.

4. Реакция с гидразином.

5. Реакция с фенилизотиоцианатом (ФИТЦ). В. Для определения N-концевой аминокислоты.

Г. Для определения C-концевой аминокислоты.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1.

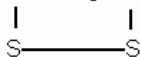
А. Дитиотреитол — восстанавливающий агент. Что произойдет с дисульфидными мостиками после их обработки дитиотреитолом?

Б. Сколько индивидуальных пептидов образуется после такой обработки изображенного фрагмента белка?

Гис-цис - ала - гли - фен



Цис- три-мет-цис-глу-цис- гли



го фрагмента белка?

Задание 2. У человека рост волос — относительно медленный процесс, обычно 15–20 см в год. Весь этот рост сконцентрирован у корня волос, где α -нити кератина синтезируются эпидермальными клетками и собираются в фибриллярные структуры. Фундаментальный структурный элемент α -кератина — α -спираль. Так как биосинтез α -спиралей кератина — ограничивающий скорость фактор роста

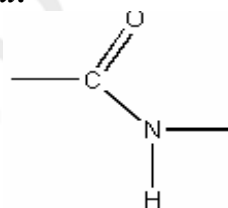
волос, вычислите скорость, с которой должны синтезироваться пептидные связи α -цепей кератина (пептидная связь в секунду), чтобы обеспечить наблюдаемый ежегодный прирост волос.

Задание 3. Пептид ферментативного гидролизата, не передвигающийся в электрическом поле при электрофорезе, дансильировали и выделили дансилпроизводное Лей. Кислотный гидролиз пептида дал три пептида следующего состава: 1) Цис, Асп. 2) Тир, Лей. 3) Тир, Асп, Арг. Напишите формулу пептида, назовите пептид. В какой среде проводили электрофорез исходного гидролизата белка? Почему Вы так решили?

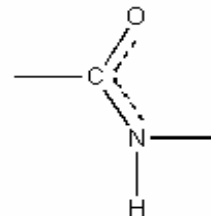
Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1.1. Пептидная группа с позиций электронного строения представляет собой трехцентровую p, π -сопряженную структуру, в которой электронная плотность смещена в сторону более электроотрицательного кислорода. Атомы С, О, N, образующие сопряженную структуру, находятся в одной плоскости. Сопряжение выравнивает длины связей. Плоская сопряженная структура затрудняет вращение вокруг связи С – N.



Пептидная связь



Резонанс придает обеим связям частично двойной характер

1.2. А – 1, 2; Б – 1; В – 1; Г – 2; Д – 1.

Для самостоятельной работы:

1.3. А. Повороты в области каждого остатка Про — остатки 7, 19, 28;

Б. Поперечные связи по остаткам цистеина — остатки 13, 24 могут формировать дисульфидный мостик;

В. Остатки 1–3 гидрофобны;

Г. Остатки 13–18 гидрофильны.

3. Б.

4. Б – 5; В – 1, 3, 5; Г – 2, 4.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Кислотный гидролиз белка и формоловое титрование по Серенсену.

Гидролиз, проводимый в лабораторных условиях, является важным этапом на пути исследования первичной структуры белков. При кислотном гидролизе белки распадаются на

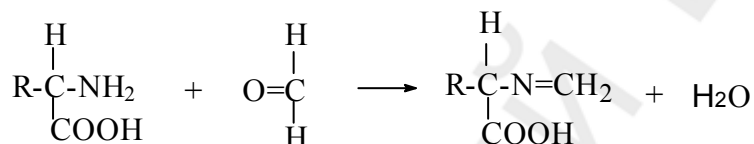
высокомолекулярные пептиды, низкомолекулярные пептиды, дипептиды и аминокислоты. Некоторые аминокислоты (триптофан) подвергаются полному разрушению при таком гидролизе, а серин, треонин, цистеин, тирозин, фенилаланин — частичному. Однако процент разрушения этих аминокислот невелик. При щелочном гидролизе белка отмечается значительно более сильное разрушение аминокислот. Поэтому при анализе аминокислотного состава белка используют чистую 6 н HCl, которую добавляют к образцу белка, и затем в запаянных ампулах гидролизуют белок при 120 °С на протяжении 24, 48 и 72 ч, что необходимо для расчета возможных потерь аминокислот при гидролизе.

Гидролизаты белков (ферментативные или кислотные с добавлением триптофана) применяются в качестве лечебных препаратов для парентерального питания.

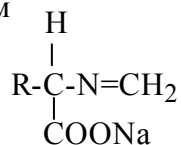
Формоловое титрование.

Служит для определения количества карбоксильных групп, которое увеличивается вследствие разрыва пептидных связей в процессе гидролиза. Поскольку в водных растворах аминокислоты образуют внутримолекулярные соли без предварительного блокирования аминогрупп формальдегидом, непосредственно титровать карбоксильные группы аминокислот щелочью невозможно.

Принцип метода. В процессе реакции формальдегид блокирует α-аминогруппу:



Образующееся метиленовое соединение (метилен-аминокислота) оттитровывается щелочью с образованием



Определяя количество карбоксильных групп титрованием, одновременно можно судить и о содержании аминных групп, так как количество титруемых карбоксильных групп эквивалентно количеству связанных формальдегидом аминных групп.

Метод формолового титрования позволяет следить за ходом гидролиза белка и изучить действие протеолитических ферментов. При полном гидролизе белка количество аминных и карбоксильных групп в гидролизате перестает увеличиваться, а биуретовая реакция становится отрицательной (голубое окрашивание).

Порядок выполнения работы.

1. Титрование карбоксильных групп в растворе белка до гидролиза. Отмеривают в колбочку 1 мл раствора яичного белка, приливают 5 капель 20%-ного нейтрального раствора формалина и 3 капли 0,5%-ного раствора фенолфталеина. Титруют из микробюретки 0,005 н раствором едкого натра до устойчивой бледно-розовой окраски.

2. Титрование карбоксильных групп после гидролиза белка (*в гидролизате*). Отмеривают в колбочку 1,25 мл гидролизата, добавляют 3 капли раствора фенолфталеина и нейтрализуют, добавляя пипеткой 10%-ный раствор едкого натра до слабо-розовой окраски (щелочь используется для нейтрализации хлористоводородной кислоты, поэтому количество щелочи не учитывается).

Если при нейтрализации окраска делается ярко-красной (много NaOH), то добавляют до обесцвечивания по каплям 1%-ный раствор уксусной кислоты, избыток которой нейтрализуют 1%-ным раствором едкого натра до слабо-розовой окраски. Затем приливают 5 капель 20%-ного нейтрального раствора формалина. Вследствие блокирования аминогрупп формальдегидом и освобождения карбоксильных групп раствор приобретает кислую реакцию и фенолфталеин обесцвечивается. Обесцвеченный раствор титруют 0,005 н раствором

NaOH до бледно-розового цвета и точно отмечают количество щелочи, затраченной на титрование. Результаты титрования заносят в таблицу. Производят расчет азота аминокрупп по количеству щелочи, затраченной на титрование, исходя из ее нормальности. 1 н раствору щелочи соответствует 14 г азота в 1 л или 14 мг в 1 мл, 1 мл 0,005 н раствора NaOH соответствует 0,07 мг азота.

3. Открытие промежуточных продуктов распада белка в гидролизате при помощи биуретовой реакции. В пробирку наливают 5 капель гидролизата белка и нейтрализуют 10%-ным раствором щелочи по красному лакмусу (опускают кусочек лакмуса в пробирку и помешивают стеклянной палочкой). После нейтрализации гидролизата (при посинении лакмуса) проводят биуретовую реакцию, прибавляя 2 капли CuSO_4 . Появляется фиолетово-розовое окрашивание. При полном гидролизе белка до аминокислот (приблизительно 2,5 ч) биуретовая реакция с гидролизатом отрицательная (голубое окрашивание).

Результаты титрования:

	NaOH 0,005 н (мл)	Азот α -аминогрупп (мг)
Белок до гидролиза		
Гидролизат		

Выводы:

Подпись преподавателя:

Тема 3. Пространственная структура белков. Физико-химические свойства белков. механизмы осаждения 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). На знании физико-химических свойств белков основано их получение и использование в качестве лекарственных препаратов. Реакции осаждения используются в медицине для качественного и количественного определения белка в биологических жидкостях, для удаления белков из растворов. Пробы коллоидоустойчивости используются для функциональной диагностики болезней внутренних органов.

Цель занятия

Закрепить знания о первичной структуре белка и ее роли в формировании пространственных структур молекулы. Сформировать представление о конформационных состояниях белковой молекулы и значении пространственной структуры в функционировании белков. Познакомиться с возможностями применения денатурации белков в медицинской практике.

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 самопроверки 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, отличающие суспензии 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 эталонами ответов.

Вопросы для обсуждения

1. Вторичная, надвторичная, третичная, четвертичная структуры белковой молекулы (понятие, разновидности и связи, стабилизирующие структуру).
2. Конформационные изменения при функционировании белков. Взаимодействие белков с лигандами.
3. Денатурация. Обратимость денатурации. Механизмы действия денатурирующих факторов.
4. Общие физико-химические свойства белков (вязкость растворов, незначительная диффузия, оптическая активность, подвижность в электрическом поле, поглощение УФ-лучей, растворимость в воде).
5. Факторы устойчивости белковых растворов (заряд белка, гидратная оболочка, молекулярная масса, форма молекулы) и их происхождение. Изоэлектрическое состояние.
6. Зависимость растворимости белка от реакции среды (изоэлектрическая точка), ионной силы, температуры раствора. Осаждение белков: обратимое (высаливание) и необратимое.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 21, 24–25, 33–39.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 37–42, 51–60.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985.
2. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Знать 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 пептидной 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. |

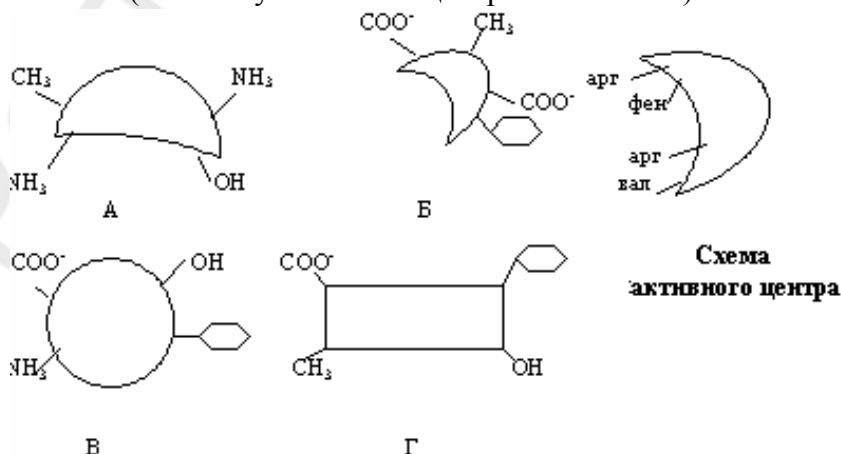
1.2. Какому уровню структурной организации белка соответствует каждый пронумерованный тип связи? Подберите пары.

- | | |
|--|----------------------------|
| 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 (см. схему активного центра этого белка).



Ответьте на вопросы:

А. Какой из перечисленных лигандов с наибольшей вероятностью будет взаимодействовать с активным центром данного белка и почему?

Б. Какие типы связей возникают в процессе образования комплекса «белок–лиганд»?

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

Ответьте на вопросы:

3.1. Денатурация белка сопровождается:

А. Изменением конформации белка.

Б. Уменьшением растворимости белка.

В. Изменением заряда белка.

Г. Нарушением первичной структуры белка.

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

А. Повышения температуры.

Б. Изменения pH.

В. Действия протеолитических ферментов.

Г. Разрыва слабых связей, поддерживающих конформацию белка.

Д. Синтеза белков теплового шока.

Задание 4. Знать строение и функции гемоглобина и миоглобина. Уметь дать сравнительную характеристику структуры и свойств этих белков. Ответьте на вопрос: 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, зависят от значения pH среды.

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

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

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

Задание 6. Знать 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 эталонами ответов.

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. Лигандом α -протомера гемоглобина может быть:

- А. Гем.
- Б. Кислород.
- В. β -Протомер.
- Г. 2,3-Бисфосфоглицерат.
- Д. α -Протомер.

Задание 4. Подберите верные пары утверждений:

- А. Нативная рибонуклеаза.
 - Б. Денатурированная рибонуклеаза.
 - В. Обе.
 - Г. Ни одна.
- 1. Молекулы белка имеют одинаковую конформацию.
 - 2. Молекулы белка имеют одинаковую первичную структуру.
 - 3. У молекул нарушено связывание с природным лигандом.
 - 4. Молекулы имеют различную молекулярную массу.

Задание 5. 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 кислот?
- 2. С каким из белков может взаимодействовать Ca^{2+} ?

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

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

Для самостоятельной работы:

- 1.1. Б, Е – 1; Г – 2; А – 3; Д – 4; В – 5; 1.2. А – 2, 3; Б – 4; В – 1, 3, 5, 6; Г – 1, 3, 5;
- 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 $\text{pH} = \text{ИЭТ}$; 6 – А, Б, В.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

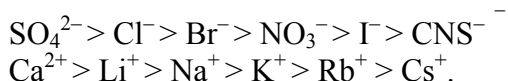
Инструкция к практическому занятию

Работа 1. **Высаливание белков**

Высаливание — обратимая реакция осаждения белков из раствора с помощью больших концентраций нейтральных солей: NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 .

При высаливании происходят дегидратация молекул белка и устранение заряда. 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 растворе $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, а глобулины — в полунасыщенном растворе $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 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. Хлорид натрия осаждает белки слабее, чем сульфат аммония, вследствие меньшей дегидратирующей способности, которая характеризуется положением ионов в ряду Гофмейстера:



Разделение альбуминов и глобулинов яичного белка

Ход работы. К 20 каплям яичного белка добавляют 20 капель насыщенного р-ра $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 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%-ного р-ра CuSO_4 + 5 капель 10%-ного р-ра NaOH . Отрицательная биуретовая реакция (голубое окрашивание) указывает на отсутствие белка в исследуемом растворе.

Вывод:

Работа 2. *Необратимое 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, концентрированными минеральными и органическими кислотами, алкалоидными реактивами 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>		

Вывод:

Способность белка прочно связывать ионы тяжелого металла в виде нерастворимых осадков в воде 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.

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:

Тема 4. Методы разделения, выделения и очистки белков. Сложные белки

Актуальность темы

Особенности строения и функционирования организма зависят от набора белков, которые в нем синтезируются. Белки выполняют в организме самые многообразные функции, которые всегда определяются их структурой. Для изучения строения и свойств белков их необходимо выделить из клетки и очистить от других белков и неорганических примесей.

Цель занятия

Закрепить знания о физико-химических свойствах белков для того, чтобы понять методы разделения и очистки белков, а также принципы функционирования белков в организме. Освоить метод гель-фильтрации.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить:

- из *общей химии*:
 - физико-химические свойства дисперсных систем;
 - основы хроматографии и электрофореза.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Укажите электрокинетические явления в коллоидных растворах:

- А. Электрофорез.
- Б. Электроосмос.
- В. Потенциал протекания.
- Г. Потенциал седиментации.

Задание 2. Электрофорез коллоидных растворов и растворов белков применим:

- А. Для очистки воды.
- Б. Определения заряда эритроцитов.
- В. Очистки лекарственных препаратов.
- Г. Разделения белков.

Задание 3. Скорость электрофореза растворов белков зависит:

- А. От величины заряда макроиона белка.
- Б. Формы макроиона белка.
- В. Вязкости раствора.
- Г. рН раствора.

Задание 4. Все хроматографические методы основаны:

- А. На различии в размерах молекул разделяемых веществ.
- Б. Различии в скоростях передвижения отдельных компонентов смеси в подвижной фазе.
- В. Различии в степени распределения веществ между подвижной и стационарной фазами.
- Г. Многократном повторении актов сорбции и десорбции разделяемых веществ.

Задание 5. Количественно степень распределения разделяемых веществ между стационарной и подвижной фазами (коэффициент распределения) выражается:

- А. Концентрацией вещества в подвижной фазе.
- Б. Соотношением концентраций вещества в стационарной и подвижной фазах.
- В. Соотношением скоростей перемещения различных компонентов смеси.
- Г. Концентрацией вещества в неподвижной фазе.

Задание 6. В какой последовательности выйдут при вымывании их растворителем из колонки, заполненной активированным углем, следующие пигменты, если степень их полярности возрастает в ряду: каротин < ксантофиллы < α -хлорофилл < β -хлорофилл?

- А. Ксантофиллы, каротин, α -хлорофилл, β -хлорофилл.
- Б. Каротин, ксантофиллы, α -хлорофилл, β -хлорофилл.
- В. β -хлорофилл, α -хлорофилл, ксантофиллы, каротин.
- Г. Каротин, ксантофиллы, β -хлорофилл, α -хлорофилл.

Правильность решений задач проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Вопросы для обсуждения

1. Методы разделения белков:
 - а) высаливание;
 - б) хроматография (адсорбционная, распределительная, гель-хроматография, аффинная);
 - в) электрофорез (на бумаге, в полиакриламидном геле с использованием DDS-Na, изоэлектрофокусирование);
 - г) ультрацентрифугирование.
2. Методы очистки белков от низкомолекулярных примесей (диализ, гель-хроматография, кристаллизация, ультрафильтрация).
3. Строение и функции сложных белков.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 21–28, 40–44.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 20–28, 65–76.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985.
2. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Вспомните, что заряд белка или пептида зависит от суммы зарядов аминокислот, которые входят в его состав, и от рН раствора, в котором находится данный белок или пептид. Повторите понятия «изоэлектрическая точка» и «изоэлектрическое состояние» белка.

1.1. Определите суммарный заряд пептида при $pH = 7,0$: Глу-Арг-Гис-Вал-Асп-Тре. Как изменится суммарный заряд этого пептида: а) в кислой среде; б) в щелочной среде?

1.2. Сравните направление движения в электрическом поле двух пептидов при $pH = 7,0$ (к катоду или к аноду): а) Сер-Цис-Глу-Тир-Асп; б) Вал-Арг-Мет-Фен-Тир.

Задание 2. Знать физико-химические свойства, лежащие в основе методов разделения и очистки белков. Уметь объяснить принцип каждого метода.

Ответьте на вопросы:

2.1. Хроматографию применяют:

А. Для разделения веществ.

Б. Очистки веществ.

В. Идентификации веществ.

Г. Концентрирования веществ.

2.2. Какие из приведенных методов позволяют разделить смесь белков по молекулярной массе?

А. Адсорбционная хроматография.

Б. Электрофорез в полиакриламидном геле.

В. Ультрацентрифугирование.

Г. Гель-фильтрация.

2.3. Подберите к пронумерованному методу разделения и очистки белков их соответствующие свойства, на которых основан данный метод.

А. Различия по величине заряда.

1. Гель-фильтрация.

Б. Различия по молекулярной массе.

2. Электрофорез в полиакриламидном геле.

В. Различия по величине заряда

3. Аффинная хроматография.

и молекулярной массе.

Г. Различия по другим свойствам.

Задание 3. С какой целью используется метод «отпечатков пальцев» (выберите верный ответ)?

А. Выделения индивидуальных белков.

Б. Анализа гомологичных белков.

В. Очистки белков от низкомолекулярных примесей.

Задание 4. Вспомните, что белки, кроме аминокислот, могут содержать в своем составе другие соединения (углеводы, липиды, ионы металлов и т. д.). Небелковая часть является простетической группой. Такие белки называют сложными. Выучите классификацию сложных белков.

4.1. Выберите сложные белки, у которых связь между белком и простетической группой ковалентная:

А. Гемоглобин.

Б. Цитохром P_{450} .

В. Ихтулин.

Г. Интерферон.

Д. Тиреотропный гормон.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Подберите к пронумерованному методу разделения и очистки белков соответствующие принципы, на которых основан данный метод.

А. Ультрацентрифугирование.

1. Метод основан на различной сорбционной способности веществ.

Б. Гель-фильтрация.

В. Электрофорез

2. Метод основан на различиях в молекулярной массе белков.

в полиакриламидном геле.

Г. Аффинная хроматография.

3. Метод основан на комплементарном присоединении белка к иммобилизованному лиганду.

4. В основе метода лежит использование различий в моле-

кулярной массе и заряде белков.

Задание 2. Назовите известные Вам методы, с помощью которых можно разделить смесь белков, приведенных в таблице. Укажите различия в физико-химических свойствах белков, лежащих в основе каждого метода разделения.

Название белка	Молекулярная масса, Да	ИЭТ
Церулоплазмин	151 000	4,4
γ-Глобулин	150 000	6,3
β-Лактальбумин	37 000	5,2

Задание 3. В какой последовательности выйдут из колонки, заполненной сефадексом G-200, следующие белки при вымывании их растворителем: пепсин ($M = 36000$ Да), миоглобин ($M = 17000$ Да), каталаза ($M = 250000$ Да)?

- А. Каталаза, пепсин, миоглобин. Б. Пепсин, миоглобин, каталаза.
В. Миоглобин, каталаза, пепсин. Г. Миоглобин, пепсин, каталаза.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – А, Б; 2, 3 — все правильные; 4 – Б, В, Г; 5 – А, Б; 6 – В.

Для самостоятельной работы:

1.1 – «0»; а) «+ +»; б) «– –»; 1.2 – а) к аноду; б) к катоду; 2.1 – А, Б, В, Г; 2.2 – Б, В, Г; 2.3 – (1 – Б; 2 – В; 3 – Г); 3 – Б; 4.1 – В, Г, Д.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Колоночная гель-фильтрация

Для гель-фильтрации используют так называемые молекулярные сита — инертные гидратированные полисахаридные молекулы. Их получают из бактериальных полисахаридов (сефадексы), агара или полимеризованных акриламидных гелей (акрилекс). При набухании в растворе гранул геля в них образуются поры, через которые могут проходить молекулы разных размеров (в зависимости от величины пор). Молекулы, которые хорошо проникают внутрь гранул, проходят через хроматографическую колонку медленнее, чем более крупные молекулы. Эффективность разделения смеси веществ определяют по составу вытекающего из колонки раствора (элюата).

Ход работы.

1. Колонку для гель-фильтрации закрыть резинкой-заглушкой, поставить в пробирку. Содержимое стаканчика с сефадексом перемешать и влить в колонку. Дать отстояться, снять заглушку. Жидкость при этом свободно вытекает из колонки.

2. Из бюретки в пробирку отмерить 1 мл белка (высокомолекулярное соединение) и добавить 3–5 капель рибофлавина (низкомолекулярное соединение).

3. В 12 чистых пробирок отмерить из бюретки по 1 мл биуретового реактива. Колонку поместить в первую пробирку с биуретовым реактивом, удалить слой жидкости над сефадексом и внести в колонку разделяемый образец (смесь белка и рибофлавина).

После погружения нанесенного раствора в сефадекс колонку переставить в другую пробирку с биуретовым реактивом, аккуратно заполнить расширенную часть колонки водой и, отсчитав 5–7 капель вытекающей из колонки жидкости, переставить колонку в следую-

щую пробирку. Повторять до выхода белков из колонки (положительная биуретовая реакция), постоянно добавляя в колонку воду.

4. По окончании работы (появление желто-зеленого окрашивания в пробирке с биуретовым реактивом, которое обусловлено вытеканием рибофлавина) содержимое колонки выдувают в стаканчик и ополаскивают колонку водой.

5. Результаты опыта оформите в виде таблицы.

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Цвет раствора												
Вывод (что присутствует в растворе)												

Выводы:

Подпись преподавателя:

Тема 5. Белки соединительных тканей

Актуальность темы

Основной тип тканей, на которые простираются законы стоматологии, — это соединительные ткани. Они самые распространенные в организме человека и отличаются от других тканей преобладанием межклеточного (внутриклеточного) вещества (матрикса) над клеточными элементами. Соединительные ткани выполняют целый ряд функций. Они претерпевают возрастные изменения, с ними связаны проблемы старения и такие важнейшие патологические процессы, как воспаление, метастазирование, деструкция. Главный компонент внеклеточного матрикса соединительных тканей — белки, причем сложные белки — гликопротеины. Знание морфологии и химического состава и понимание метаболических процессов, характерных для соединительных тканей, лежат в основе эффективной профилактики и лечения заболеваний, которыми занимается стоматология. Исследование содержания гликопротеинов и их углеводных компонентов используется для диагностики в клинике внутренних болезней.

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*:

- типы соединительных тканей;
- особенности морфологического строения соединительных тканей;

- из *биоорганической химии*:

- классификация 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.
- Б. Плотная волокнистая.
- В. Соединительная ткань со специальными свойствами.
- Г. Хрящевая ткань.
- Д. Костная ткань.

Задание 2. Какие из нижеперечисленных соединений не относятся к гетерополисахаридам?

- А. Гиалуроновая кислота.
- Б. Гепарин.
- В. Гликоген.
- Г. Пектин.
- Д. Клетчатка.
- Е. Глюкуроновая кислота.
- Ж. Хондроитинсульфат.
- З. N-ацетилгалактозамин.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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.
5. Особенности белкового состава хрящевой и костной тканей. Неколлагеновые белки, биологическая роль.

Литература

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинوم, Асар, 2008. С. 625–636,
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 75–76, 518–526.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.
2. *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.
- Б. Репаративная.
- В. Энергетическая.
- Г. Барьерная.
- Д. Дыхательная.
- Е. Депонирующая.
- Ж. Транспортная.
- З. Метаболическая.

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.

- Гидроксилирование лизина и пролина.
- Образование внутри- и межцепочечных дисульфидных связей.
- Гликозилирование.
- Удаление сигнального пептида.
- Образование тройной спирали.

3.3. Выберите из следующего списка неколлагеновые белки соединительных тканей.

- | | | | |
|--------------|---------------|--------------|------------------|
| А. Эластин. | Б. Агрекан. | В. Коллаген. | Г. Фибронектин. |
| Д. Альбумин. | Е. Фибриллин. | Ж. Ламинин. | З. Фибромодулин. |

Правильность решения проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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. | 5. Углеводов. |
| 2. Тройной спирали. | 6. Гидроксипролина. |
| 3. Пролина. | 7. Гидроксизицина. |
| 4. Дополнительных пептидов на N- и C-концах. | 8. Повторов Гли-Х-У. |

Задание 3. Выберите правильный ответ.

К неколлагеновым белкам хрящевой ткани относятся:

- | | |
|-------------------|------------------|
| 1. Фибромодулин. | 5. Остеонектин. |
| 2. Тромбоспондин. | 6. Эластин. |
| 3. Ламинин. | 7. Бигликан. |
| 4. Декорин. | 8. Остеокальцин. |

Задание 4. Выберите правильный ответ.

Последовательность R-G-D в фибриллярных адгезивных белках представлена следующим аминокислотным триплетом:

- | | | |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1. Гли-Асп-Арг. | 2. Арг-Глу-Асп. | 3. Асп-Глу-Гли. |
| 4. Арг-Гли-Асп. | 5. Гли-Арг-Асп. | 6. Арг-Асп-Гли. |

Эталоны ответов к решению заданий

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.

Тема 6. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по теме «Химия белков»

1. Классификация и физико-химические свойства аминокислот (общие и специфические). Роль в структурной организации белка.

2. Первичная структура белка и методы ее определения. Свойства пептидной связи. Значение биуретовой реакции для качественного и количественного определения белка в биологических жидкостях.

3. Вторичная, надвторичная, третичная, четвертичная структуры белковой молекулы. Особенности структурной организации, разновидности, типы стабилизирующих связей, методы изучения.

4. Основы функционирования белков.

5. Растворимость белков.

5.1. Почему белки растворяются в воде? Факторы устойчивости белков в растворе.

5.2. Осаждение белков: обратимое (высаливание) и необратимое. Механизм и практическое использование.

5.3. Денатурация белка, денатурирующие факторы, использование в медицине.

6. Гидролиз белка. Типы гидролиза, роль в организме. Методы определения полноты гидролиза. Практическое использование.

7. Методы выделения и очистки белков.

7.1. Этапы исследования структуры белка.

7.2. Методы очистки белка от низкомолекулярных примесей.

7.3. Принципы разделения и очистки белков методами хроматографии:

а) ионообменной;

б) аффинной;

в) гель-хроматографией.

7.4. Электрофорез. Принцип метода, практическое применение. Электрофорез в полиакриламидном геле. Изоэлектрофокусирование. Двухфазный электрофорез.

8. Сложные белки. Строение, классификация, биологическая роль каждого класса.

9. Какие функции выполняют в организме белки и пептиды?

10. Коллаген. Аминокислотный состав, особенности пространственной структуры. Исколлагены.

11. Особенности синтеза коллагена. Внутри- и внеклеточные этапы процесса образования «зрелого» коллагена.

12. Эластин. Роль в организме. Особенности первичной структуры. Значение внеклеточных этапов в механизмах формирования зрелой эластической ткани.

13. Белково-углеводные комплексы. Принципы классификации; биологическая роль; механизмы синтеза и распада.
14. Фибриллярные адгезивные белки внеклеточного матрикса и их функции.
15. Особенности белкового состава хрящевой и костной тканей. Неколлагеновые белки, биологическая роль.

Тема 7. Ферменты. Классификация, строение, свойства

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) определяются генетически обусловленными 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.

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;
 - строение коферментов, биологическая роль;
 - 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. Подобрать соответствующие пары вопрос – ответ:

- А. Водородные связи. 1. Участвуют в образовании вторичной структуры.

- | | |
|------------------------|---|
| Б. Ионные связи. | 2. Участвуют в формировании первичной структуры. |
| В. Гидрофобные связи. | 3. Участвуют в формировании третичной структуры. |
| Г. Пептидные связи. | 4. Участвуют в формировании четвертичной структуры. |
| Д. Дисульфидные связи. | |

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

- 3.1. Изоаллоксазин – рибитол – 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. Б. Во второй пробирке.
 В. В третьей пробирке. Г. В четвертой пробирке.

4.2. Какое вещество образовалось при кратковременном гидролизе крахмала?

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

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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 в катализе. Блок-схемы структуры НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД и ФМН.
4. 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.
5. Специфичность действия ферментов. Виды специфичности.
6. Единицы активности ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 46–49, 53–54, 56–66.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 92–98, 108–116, 124–129.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985. С. 226–41.
2. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. М. : 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.

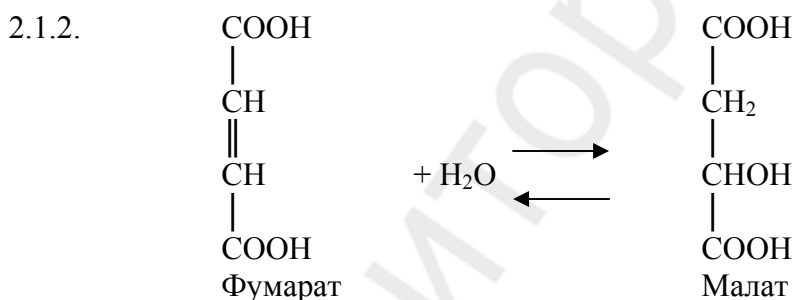
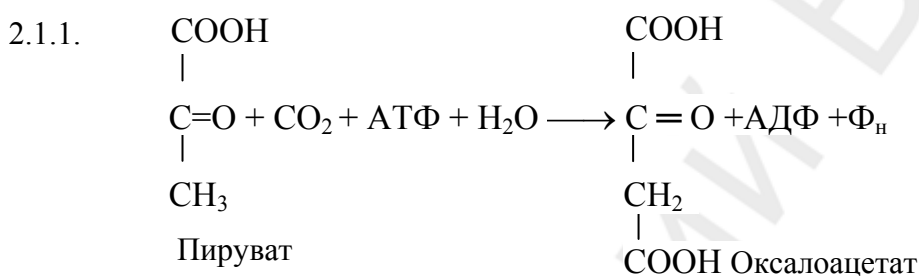
1.4. Назовите основные факторы, влияющие на активность ферментов.

Решите задачу. Оптимальные условия для действия глутаматдегидрогеназы: $t = 37\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 4,5$. При повышении температуры инкубационной пробы до $75\text{ }^\circ\text{C}$ и pH инкубационной среды до $8,0$ 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. Рассчитайте удельную активность ацетилхолинэстеразы, если 5 мг фермента за 30 с расщепляют 200 мкмоль ацетилхолина.

Задание 5. 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 эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

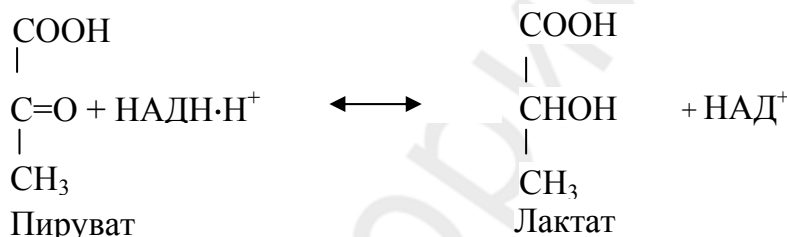
Задание 1. В лаборатории выделили фермент лизоцим и определили его активность при различных значениях pH среды. Установили, что ферментативная активность лизоцима максимальна при pH 5,2 и уменьшается как при снижении, так и при повышении этого значения pH. Укажите возможную причину:

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

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



3.1. Объясните причины уменьшения активности фермента:

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

3.2. Рассчитайте удельную активность фермента, если за 5 с 10 мг ЛДГ вызывает превращение 80 мкмоль пирувата; запишите размерность этой величины.

3.3. По изменению концентрации каких веществ можно определить активность ЛДГ?

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

- 1 – Г. 2 – (1 – А; 2 – Г; 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 pH 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. Международные единицы: 1,33 мккатал/мг фермента; стандартные единицы: 80 мкмоль/мин/мг фермента.

- 5 – Б.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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 едкого натра 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)		

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			

3. Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы слюны

Ход работы. В три пробирки наливают по 1 мл слюны, разведенной в 40 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			

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 5 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			

Выводы:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 8. 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

щее действие на ферменты и используются в качестве лекарственных веществ. В больших дозах подобные вещества могут оказаться ядами.

Большинство лекарственных препаратов оказывает свое действие, влияя на соответствующие ферментативные реакции. Многие такие препараты сходны с природными субстратами и потому 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

Уметь 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

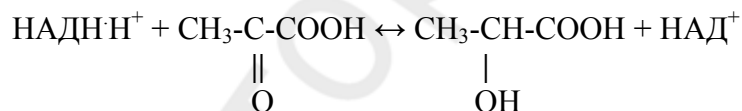
Для полного усвоения темы необходимо повторить:

- 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 три 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.
- Б. Реакция гидролиза.
- В. Реакция синтеза.
- Г. Реакция электролиза.

Задание 3. Вещества А и В взаимодействуют по схеме $A + B \leftrightarrow AB$. 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.
- Б. Константу равновесия.
- В. Скорость обратной реакции.
- Г. Время наступления равновесия.
- Д. Концентрацию продуктов реакции.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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. Множественные формы ферментов (изоферменты и собственно множественные формы), примеры, биологическая роль.
8. Медицинские аспекты энзимологии.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 58–60, 68–86.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 99–108, 115–126, 129–132.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985. С. 226–241.
2. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Иметь представление о механизмах ферментативного катализа. Обратит внимание на то, что:

- 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. Б. Водородные. В. Пептидные. 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. Усвоить, что действие ферментов можно полностью или частично подавить (ингибировать) определенными химическими веществами (ингибиторами). Дать характеристику основным типам ингибиторов.

2.1. При исследовании влияния салицилатов на активность фермента глутамат-дегидрогеназы 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.

Б. Обратимое конкурентное.

В. Обратимое неконкурентное.

Г. Ингибирование по принципу «обратной связи».

2.2. Для лечения некоторых инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями, применяются сульфаниламидные препараты, блокирующие синтез фактора роста бактерий. Выбрать 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. Усвоить основные способы регуляции каталитической активности ферментов и понятие «множественные формы ферментов».

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.
- В. Разрыв пептидных связей.
- Г. Изменение концентрации ферментов.
- Д. Репрессия синтеза ферментов.

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

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

3.3. К какому классу относится этот фермент (см. 3.2)?

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

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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 мочеполовой системы 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-бисфосфоглицератом, 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, аспартатаминотрансферазу 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.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – нет. 2 – А. 3 – Г.

Для самостоятельной работы:

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

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Количественное определение активности α -амилазы слюны

Метод основан на определении наименьшего количества амилазы (при максимальном разведении слюны), полностью расщепляющего весь добавленный крахмал. Амилазная активность слюны выражается количеством 0,1%-ного 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 10 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 10-й пробирки. Из 10-й пробирки отбирают 1 мл смеси и выливают. Во все пробирки

добавляют по 1 мл воды и по 2 мл 0,1%-ного 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%-ного 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. Полученные данные заносят в таблицу:

Гидролиз крахмала в присутствии ферментов слюны при различном ее разведении

	Разведение слюны									
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240
	Пробирки									
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я	7-я	8-я	9-я	10-я
Окраска раствора с йодом										
Выводы										

Расчет. 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 пропорции: A мл слюны расщепили 2 мл 0,1%-ного раствора крахмала; 1 мл слюны расщепил x мл 0,1%-ного 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 расщепила 2 мл 0,1%-ного раствора крахмала; 1 мл неразведенной слюны расщепил x мл 0,1%-ного раствора крахмала:

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

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

Ответ:

Вывод:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 9. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ.

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПУТЬ — ЛИМОННОКИСЛЫЙ 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 (кокарбоксылаза, компоненты адениловой системы, сукцинат и др.).

Цель занятия

Получить представление о метаболизме, анаболических и катаболических метаболических путях, их взаимосвязи на уровнях субстратов и энергии. Сформировать представление о лимоннокислом цикле Кребса как центральном метаболическом пути, о значении водород-донорной 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, пиродифосфата, 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.

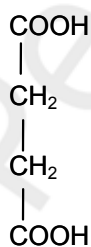
Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

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

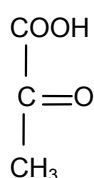
- А. Гидрохинон присоединил 2 электрона.
- Б. Гидрохинон окислился.
- В. Гидрохинон присоединил 2 атома водорода.
- Г. Гидрохинон восстановился.
- Д. Гидрохинон отдал 2 атома водорода.

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

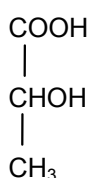
- А. Дикарбоновые кислоты.
- Б. Трикарбоновые кислоты.
- В. Монокарбоновые кислоты.
- Г. α -Кетокислоты.
- Д. Гидроксикислоты.



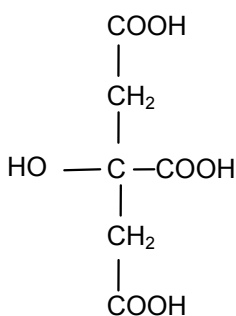
2.1



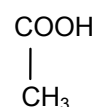
2.2



2.3

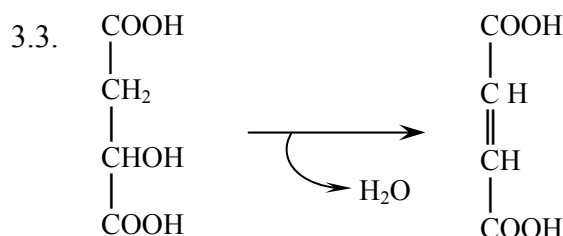
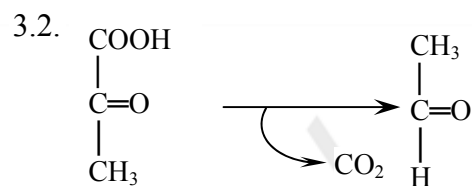
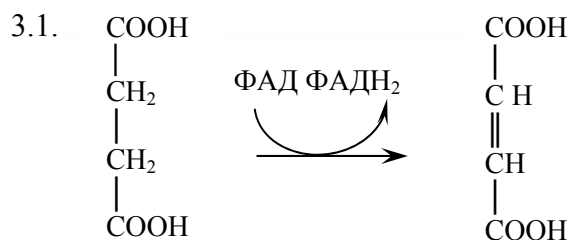


2.4



2.5

Задание 3. К написанным ниже реакциям подобрать ферменты. Указать класс.



Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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. Пиридинзависимые и флаavinзависимые 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 и фотосинтетическое 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 СО₂ — конечного продукта катаболизма соединений углерода.
7. Функции ЦТК: интегративная, катаболическая, анаболическая, энергетическая, водороднодонорная. Анаплеротические реакции. Регуляция работы ЦТК.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинум, Асар, 2008. С. 133–139, 178–182.
2. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 204–210, 215–218, 261–267.
3. Конспект лекций.

Дополнительная

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

Задания для самостоятельной работы

Для усвоения материала темы следует обратить внимание на то, что:

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

- 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, декарбоксилирование, окислительно-восстановительная реакция, фосфорилирование на уровне субстрата, 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. НАДФНН⁺.
- Б. НАД⁺.
- В. НАДНН⁺.
- 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.
- Б. Снижение уровня АТФ.
- В. Снижение уровня глюкозы в крови.
- Г. Образование большого количества эндогенной воды.

Эталоны ответов к решению заданий

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).

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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 определять, 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	Опыт
1	Фосфатный буфер pH=7,4	2,0 мл	2,0 мл
2	Р-р ацетил-КоА	0,5	0,5
3	Р-р оксалоацетата	0,5	0,5

4	Р-р малоновой кислоты	1,0	–
5	Физиологический р-р	–	1,0
6	Гомогенат печени	0,5	0,5
Инкубация 10 мин при комнатной температуре			
7	Реактив Фолина А	0,5	0,5
8	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	Опыт
1	Фосфатный буфер рН=7,4	2,0 мл	2,0 мл
2	Р-р ацетил-КоА	0,5	0,5
3	Р-р оксалоацетата	0,5	0,5
4	Р-р малоновой кислоты	1,0	–
5	Инкубационный р-р	–	1,0
6	Р-р Са(ОН) ₂	1,0	1,0
7	Гомогенат печени	0,5	0,5
Инкубация 10 мин при комнатной температуре			
8	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 при участии соответствующих дегидрогеназ, в качестве акцептора 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	Опыт
1	Фосфатный буфер рН=7,4	2,0 мл	2,0 мл
2	Р-р ацетил-КоА	–	0,5
3	Р-р ЩУК	–	0,5
4	Дистиллированная вода	1,0	–
5	Гомогенат печени	1,0	1,0
6	0,001 н р-р ДХФИ	1,0	1,0
Инкубация 15–20 мин при комнатной температуре			

Результат (окраска растворов):

Вывод:

Подпись преподавателя:

Тема 10. Биологическое окисление.

Пути утилизации кислорода клетками. Окислительное фосфорилирование

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 митросомного окисления, об окислительном фосфорилировании. Усвоить, что сопряжение дыхания и фосфорилирования служит основой нормального энергообеспечения клетки. Понимать значение митросомного окисления для жизнедеятельности клетки. Научиться применять эти знания при последующем изучении клеточного метаболизма. Закрепить знания о механизмах образования в клетках активных форм кислорода и способах антиоксидантной защиты.

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 флавинзависимые 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 запасаания, хранения и передачи энергии в клетках.

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

- А. Сукцинат.
- Б. Цитрат.
- В. Изоцитрат.

Г. Фумарат. Д. Оксалоацетат. Е. Сукцинил-КоА.

Задание 3. Напишите формулу АТФ, обозначив макроэргические связи.

Задание 4. В цикле Кребса протекают четыре дегидрогеназные реакции:

А. Изоцитрат → α -кетоглутарат. Б. α -Кетоглутарат → сукцинил-КоА.

В. Сукцинат → фумарат. Г. Малат → оксалоацетат.

4.1. Укажите соответствующий каждой реакции фермент.

4.2. Укажите соответствующий каждой дегидрогеназе кофермент.

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

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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 гипознергетических состояний. Разобщение окислительного фосфорилирования (механизм, разобщители). Ингибиторы переноса электронов и окислительного фосфорилирования.

7. Микросомное окисление, его роль в клетке.

8. Активные формы кислорода. Антиоксидантная защита.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 134–154.

2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 213–225.

3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

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

Задания для самостоятельной работы

Для усвоения темы необходимо уяснить, что:

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 субстратов в дыхательной цепи в организме 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).

8. Свободные радикалы кислорода, которые постоянно образуются в клетках, могут служить причиной окислительного стресса.

9. В организме существует мощная ферментативная антиоксидантная защита от свободных радикалов.

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 ($\Delta\mu\text{H}^+$).
- Г. Является произвольной.

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

- | | |
|---|--------------------------|
| 1. НАДНН ⁺ : убихинон оксидоредуктаза. | А. ФАД. |
| 2. Убихинол : 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.
- Б. СО.
- В. H₂S.
- Г. Азид натрия.
- Д. Амитал (барбитуровая кислота).
- Е. Ротенон.
- Ж. Антимисин А.
- З. Малонат.

Задание 6. Выберите правильный ответ.

Свободные радикалы кислорода:

- А. Стимулируют разрывы связей в молекулах нуклеиновых кислот.
- Б. Повреждают ненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран.
- В. Тормозят синтез простагландинов.
- Г. Осуществляют иммунную защиту организма.
- Д. Способствуют образованию сшивок и нарушению функционирования белков.
- Е. Тормозят процессы обезвреживания ксенобиотиков в печени.

Задание 7. Укажите компоненты ферментативной антиоксидантной защиты клетки:

- | | |
|----------------------------|---------------------------|
| А. Супероксиддисмутаза. | Б. Каталаза. |
| В. Оксидаза L-аминокислот. | Г. Глутаматдегидрогеназа. |
| Д. Глутатионпероксидаза. | |

Задание 8. Выберите компоненты монооксигеназных цепей, участвующих в микросомном окислении:

- А. НАДФНН⁺. Б. Аскорбиновая кислота. В. Изоцитрат.
Г. Цитохром b. Д. Цитохром P₄₅₀. Е. Цитохром с.

Задание 9. 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 ретикулула. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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. Д. 2,4-Динитрофенола.

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.

Е. Разобщение с участием 2,4-динитрофенола.

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

А. Изоцитрат. Б. Ацил-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. 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.

Эталоны ответов к решению заданий

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 – (1 – В; 2 – Б; 3 – А; 4 – Д).

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

6 – А, Б, Г, Д.

7 – А, Б, Д.

8 – А, Б, Д.

9 – (1 – В, Г, Д; 2 – А, Б, Е).

ТЕМА 11. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по темам: «Ферменты», «Введение в метаболизм.

Центральный метаболический путь», «Биологическое окисление. Окислительное фосфорилирование»

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

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

3. Активность фермента, единицы измерения активности.

4. Активный центр и его строение.

5. Коферменты, классификация.

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

7. Механизмы регуляции количества фермента в клетке (Жакоб–Моно; Георгиев).

8. Множественные формы ферментов (изоферменты и собственно множественные формы), примеры, биологическая роль.

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

10. 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. Центральные пути метаболизма.

11. 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.

12. 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 $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

13. Виды биологического окисления. Витамины РР и В₂ как участники окислительно-восстановительных реакций. Нарисовать блок-схемы НАД⁺, НАДФ⁺, ФМН и ФАД. Оксигеназный путь утилизации кислорода в клетках. Ферменты. Окисление в микросомах. Схема микросомной цепи. Сравнить оксидазный и оксигеназный пути утилизации кислорода. Роль этих процессов в клетке. Роль свободнорадикального окисления, защита от свободных радикалов кислорода.

14. 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⁺? Роль НАДФ⁺ в клетке.

15. 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)? Что такое разобщение окислительного фосфорилирования? Какими свойствами должен обладать разобщитель? Как изменяется поглощение кислорода при действии разобщителей (пояснить механизм)? Сравнить механизмы окислительного и субстратного фосфорилирования. Какой из них преобладает в митохондриях?

16. Гипоэнергетические состояния. Ингибиторы переноса электронов по дыхательной цепи. В каком состоянии (окисленном или восстановленном) будут находиться переносчики

электронов при блокаде цепи: а) производными барбитуровой кислоты; б) малоновой кислотой; в) цианидами, угарным газом; г) ротеноном; д) антимицином А?

Тема 12. Переваривание углеводов. Гликогенез и гликогенолиз. Гликолиз

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 по 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 значения.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить:

- *из биорганической 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;
 - пути образования АТФ в клетках.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Указать, 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 эталонами ответов.

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 (фосфоролитический, гидролитический) 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.

ЛИТЕРАТУРА

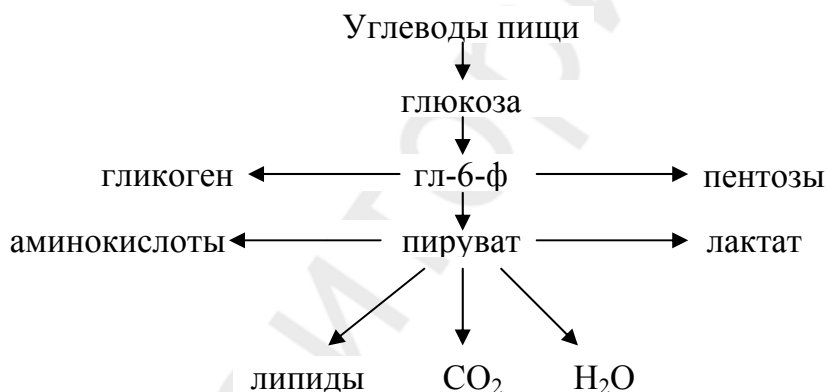
1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинум, Асар, 2008. С. 155–171.
2. *Березов, Г. Т.* Биологическая химия / Г. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 226–251.
3. *Конспект лекций.*

Задания для самостоятельной работы

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

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

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



Задание 3. Запомнить:

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

3.1. Выучить реакции синтеза и распада гликогена. Уметь писать их в виде схемы, запомнить ферменты. Запомнить необратимые стадии процессов и реакции, связанные с потреблением энергии.

3.2. Запомнить ключевые реакции синтеза и распада гликогена.

3.3. Объяснить молекулярный механизм перехода фосфофосфатазы и гликогенсинтазы из неактивного состояния в активное.

Задание 4. Усвоить, что гликолиз — серия реакций, в результате которых глюкоза распадается на две молекулы пирувата. Уметь писать эти реакции.

4.1. Обратить внимание следующее:

– в гликолизе можно выделить несколько этапов:

а) подготовительный (активирование глюкозы и распад гл-6-фосфата на две молекулы глицеральдегид-3-фосфата);

б) гликолитическая оксидоредукция (окисление глицеральдегид-3-фосфата до пировиноградной кислоты);

- 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. Б. Лактоза. В. Лактулоза.
Г. Галактоза. Д. Фруктоза. Е. Глюкоза.

Задание 2. Глюкозо-6-фосфат — основная активная форма глюкозы. Какой фермент участвует в ее образовании?

- А. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.
Б. Гексокиназа.
В. Глюкозо-6-фосфатаза.
Г. Глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза.
Д. Фосфоглюкомутаза.

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

- А. Глюкозо-6-фосфатаза.
Б. Фосфорилаза.
В. Гликогенсинтаза.
Г. α -1,4-Гликозидаза.
Д. α -1,6-Гликозидаза.

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

- А. Гексокиназа.
Б. Глюкокиназа.
В. Фосфоглюкомутаза.
Г. Глюкозо-6-фосфатаза.
Д. УДФГл-пирофосфорилаза.

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-Бисфосфоглицерат → 3-Фосфоглицерат.
Г. Глицеральдегид-3-фосфат → 1,3-бисфосфоглицерат.
Д. Фосфоенолпируват → пируват.

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

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

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

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

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Количественное определение пировиноградной кислоты в моче

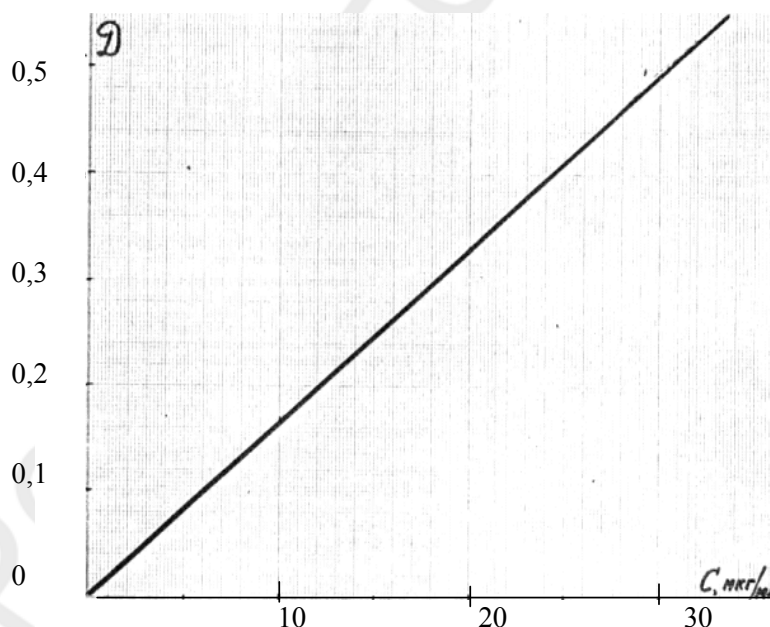
Пировиноградная кислота — один из промежуточных продуктов углеводного обмена. В анаэробных условиях (гипоксия) пировиноградная кислота восстанавливается в молочную кислоту. В аэробных условиях пировиноградная кислота под влиянием пируватдегидрогеназного комплекса (коферменты ТПФ, липоевая кислота в виде амида, КоА~SH, НАД⁺, ФАД) в результате окислительного декарбоксилирования превращается в ацетил-КоА, который в цикле Кребса окисляется до CO₂ и H₂O.

За сутки с мочой выделяется 113,7–283,9 мкмоль/сут (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 H₂O, 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 0,4 н 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

Результаты:

Клинико-диагностическое значение. При авитаминозе и гиповитаминозе В₁ 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:

Тема 13. Пути метаболизма пирувата. Глюконеогенез. Аэробный распад глюкозы до конечных продуктов (СО₂ И Н₂О)

Актуальность темы

Изучаются центральные пути, обеспечивающие связь анаболизма и катаболизма, пути, в которые вовлечены основные пищевые вещества (углеводы, белки, жиры). Понимание значения центральных метаболических путей, аэробных процессов обмена глюкозы для энергообеспечения клеток различных органов позволяет понять механизмы нарушения функций отдельных органов и систем при торможении этих процессов (гипогликемическая кома, ишемия и инфаркт миокарда и др.). В медицинской практике некоторые промежуточные продукты этих путей используются для коррекции метаболических нарушений (лимонная кислота, никотинамид, кокарбоксилаза, компоненты адениловой системы и др.). Содержание глюкозы в крови — основной биохимический показатель состояния углеводного обмена. Отклонение его от нормы происходит при ряде заболеваний. На занятии изучаются механизмы поддержания нормального уровня глюкозы в крови.

Цель занятия

Закрепить знания 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. Сформировать представление о взаимосвязи центральных путей метаболизма с аэробным гликолизом.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить:

- *из биорганической химии:*
 - реакции окислительного декарбоксилирования α -кетокислот;
 - реакции альдольной конденсации;
 - природные макроэргические ацилирующие реагенты;
- *биологической химии:*
 - тканевое дыхание, субстраты, механизм;
 - гликолиз.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подобрать к каждому ферменту соответствующий кофермент:

- | | |
|---------------------------------------|---------|
| 1. НАДНН ⁺ -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. Указать в каких реакциях гликолиза используется, а в каких синтезируется АТФ:

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

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

- | | |
|---------------------------|---------------------|
| 1. Гексокиназа. | А. Оксидоредуктазы. |
| 2. Альдолаза. | Б. Лиазы. |
| 3. Фосфофруктокиназа. | В. Лигазы. |
| 4. Фосфоглицераткиназа. | Г. Трансферазы. |
| 5. Дегидрогеназа 3-ФГА. | Д. Гидролазы. |
| 6. Енолаза. | Е. Изомеразы. |
| 7. Пируваткиназа. | |
| 8. Триозофосфатизомераза. | |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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, энергетика, ферменты, регуляция, биологическая роль).
6. Аэробное окисление глюкозы до CO_2 и H_2O (этапы, сопряжение с процессом окислительного фосфорилирования, энергетика). Челночные механизмы транспорта цитоплазматического НАДН⁺.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 172–182.
2. *Березов, Г. Т.* Биологическая химия / Г. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М.: Медицина, 1990. С. 255–267.
3. *Конспект лекций.*

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Запомнить, 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. Написать реакции, катализируемые отдельными ферментами пируватдегидрогеназного комплекса.

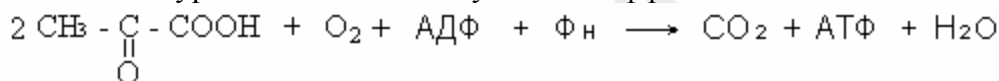
1.2. Определить количество молей АТФ, синтезируемое за счет дегидрирования 1 моля ПВК. Для этого:

- напишите суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования;
- покажите путь от восстановленного кофермента до кислорода;
- 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:

- найдите на схеме связи общего пути катаболизма с цепью тканевого дыхания реакции, в которых происходит декарбоксилирование, выпишите названия метаболитов, которые декарбоксилируются;
- найдите на схеме реакции дегидрирования и выпишите названия первичных доноров водорода;
- найдите на схеме компоненты дыхательной цепи, на которые поступает водород от первичных доноров;
- расставьте коэффициенты в уравнении.

Задание 3. Выучите:

- реакции синтеза глюкозы из ПВК (уметь писать);
- ферменты глюконеогенеза (обратить внимание на ключевые ферменты);
- основные субстраты и пути их включения в глюконеогенез.

Задание 4. Образовавшийся в скелетных мышцах лактат наряду с диффузией в кровь окисляется в самих миоцитах в аэробных условиях. Укажите этапы окисления лактата и энергетический баланс этого процесса.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

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

- ФМН, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺.
- ФМН, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺, ЛК.
- ФМН, HS-КоА, ТПФ, НАДФ⁺.
- ФАД, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺, ЛК.
- ФАД, HS-КоА, ТПФ, НАД⁺.

Задание 2. Назовите ферменты, катализирующие следующие реакции:

- Оксалоацетат + ацетил-КоА + H_2O → цитрат + HS-КоА.

2. Изоцитрат + НАД⁺ → α-кетоглутарат + CO₂ + НАДН·Н⁺.
 3. Сукцинил-КоА + ГДФ + Н₃РO₄ ↔ сукцинат + ГТФ + HS-КоА.
 4. Фумарат + Н₂O ↔ малат.
- А. Фумаратгидратаза.
 Б. Цитратсинтаза.
 В. Сукцинил-КоА-синтетаза.
 Г. Изоцитратдегидрогеназа.

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

- | | |
|---|---------------|
| 1. Пируват → CO ₂ + Н ₂ O. | А. 2,5 моль. |
| 2. Ацетил-КоА → CO ₂ + Н ₂ O. | Б. 4 моль. |
| 3. Пируват → ацетил-КоА. | В. 10 моль. |
| 4. Сукцинат → ЩУК. | Г. 12,5 моль. |

Задание 4. Укажите субстраты глюконеогенеза:

- А. Глицерол. Б. Оксалоацетат. В. Гликоген.
 Г. Лактат. Д. Аланин.

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

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

Эталоны ответов к решению заданий

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.

Тема 14. Вторичные пути обмена глюкозы. Влияние гормонов на уровень глюкозы в крови. Особенности утилизации углеводов микрофлорой полости рта

Актуальность темы

Пентозофосфатный путь (ПФП) и глюкуроновый путь обмена глюкозы не приводят к синтезу АТФ. В ходе ПФП происходит образование НАДФНН⁺ для восстановительных синтезов, антиоксидантной защиты, обезвреживания веществ, фагоцитоза. ПФП обеспечивает рибозой синтез нуклеотидов и 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 кисло-

ту для синтеза гетерополисахаридов соединительной ткани. 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.

Доминирующей теорией развития кариеса является химико-паразитическая теория.

Цель занятия

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

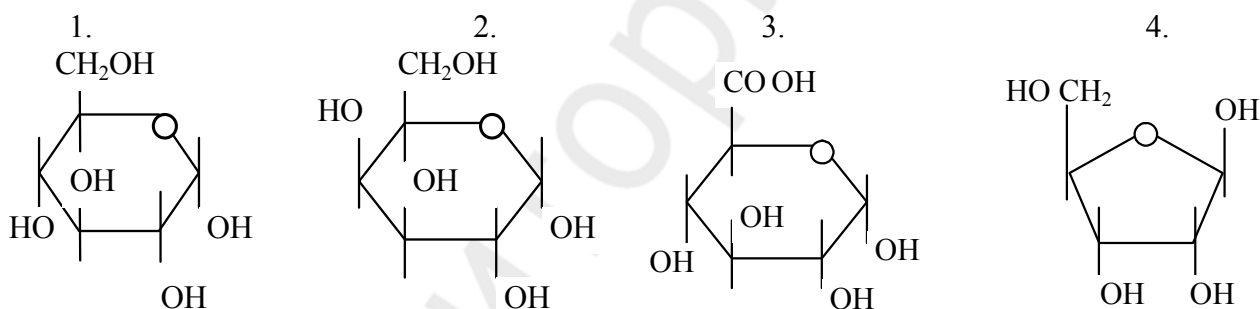
Требования к исходному уровню знаний

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 решений проверьте, сопоставив его с эталоном ответа.

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 утилизации углеводов микрофлорой полости рта.

Литература

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 182–186, 189–192.
2. *Березов Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 268–273.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985.
2. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. М. : 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⁺ и НАДФН⁺.

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. Выучите суммарное уравнение пентозофосфатного цикла.

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, ответьте на вопрос: 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 соединительной ткани.

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 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 →
2. Адреналин. активация протеинкиназы А → фосфорилирование ферментов, участвующих
3. Инсулин. в обмене глюкозы, и изменение их активности.
Б. Ускорение транспорта глюкозы через мембраны клеток-мишеней, активация фосфодиэстеразы и снижение уровня цАМФ в клетке.
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. Знать зависимость выхода Ca^{2+} из эмали зубов от рН ротовой жидкости.

4.3. Уметь объяснить патогенетическую взаимосвязь углеводов пищи и кариеса (химико-паразитическая теория кариеса).

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

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

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

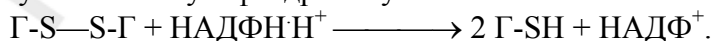
Задание 1. Наиболее важные продукты ПФП:

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

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

- | | | |
|-------------------|--------------------|---------------|
| А. Эпимераза. | Б. Трансальдолаза. | В. Изомераза. |
| 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. | Б. Рибулозо-5-фосфат. | В. Фруктозо-1,6-бисфосфат. |
| Г. Фруктозо-6-фосфат. | Д. Глицеральдегид-3-фосфат. | |

Задание 5. Метаболиты ПФП могут быть использованы для синтеза:

А. НАД⁺.
Г. Кофермента А.

Б. ФАД.
Д. Жирных кислот.

В. УТФ.
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. Исползования 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 фосфолиза гликогена в печени.
- Б. Производством 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.

Эталонные ответы к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

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

Для самостоятельной работы:

- 2.1 – А, Б, В, Г, Е.
- 3.2 – (1 – В; 2 – А; 3 – Б, В).

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Изучение влияния гормонов на содержание глюкозы в крови

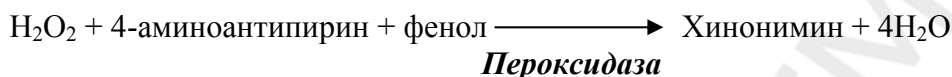
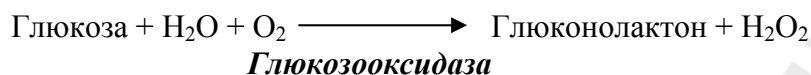
Для изучения влияния гормонов на уровень глюкозы в крови предлагаются три пробы крови (опытные). Одна из них взята до введения гормонов, другая — после введения инсулина, третья — после введения адреналина.

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.

Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови ферментативным 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. Глюкозу определяют в надосадочной жидкости после центрифугирования. Реактивы добавляют по следующей схеме:

	Опытная проба, мл	Стандартная проба, мл
В центрифужные пробирки вносят:		
Сыворотка крови	0,1	—
Стандартный раствор глюкозы	—	0,1
Депротеинизирующий раствор (3 % ТХУ)	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
Рабочий раствор ферментов	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 кюветах 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:

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

где $C_{\text{оп.}}$ — концентрация глюкозы в крови (мг%); $C_{\text{ст.}}$ — концентрация глюкозы в стандартном растворе (100 мг%); $E_{\text{оп.}}$ — экстинкция опытной пробы; $E_{\text{ст.}}$ — экстинкция стандартной пробы. Коэффициент пересчета в систему СИ (ммоль/л) — 0,0555.

Нормальные величины концентрации глюкозы в плазме и сыворотке крови — 70–110 мг% (3,9–6,1 ммоль/л), в спинномозговой жидкости — около 50 мг% (2,78–3,89 ммоль/л).

Результаты:

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

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, нарушении ферментативной активности при распаде гликогена; недостаточной функции щитовидной железы, надпочечников, гипофиза; передозировке инсулина при лечении сахарного диабета, нарушении всасывания углеводов, отравлениях фосфором, бензолом, хлороформом, при недостатке приема с пищей углеводов, после больших потерь крови.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 15. ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К КОЛЛОКВИУМУ ПО ТЕМЕ «ОБМЕН УГЛЕВОДОВ»

1. Переваривание углеводов. 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 дальнейшего превращения.

3. Химизм реакций неокислительного и окислительного этапов анаэробного гликолиза. Биологическая роль гликолиза, назначение лактатдегидрогеназной реакции. Регуляция гликолиза. Какой из ключевых ферментов гликолиза является ключевым и для других путей обмена глюкозы? Значение в эритроцитах 2,3-дифосфоглицерата. Энергетический выход гликолиза. Механизм синтеза АТФ в анаэробных условиях.

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 анаэробного и аэробного (поэтапно) распада глюкозы и механизмы синтеза АТФ.

5. Судьба конечных продуктов гликолиза — пировиноградной и молочной кислот. Какова судьба лактата, образовавшегося в эритроцитах? Этапы и энергетический выход аэробного окисления лактата (расчет проводить поэтапно). Пути метаболизма пирувата. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты (биологическая роль, субклеточная локализация, реакции). Пируватдегидрогеназный комплекс (ферменты, коферменты), регуляция активности пируватдегидрогеназы. Какой путь утилизации пирувата стимулируется при энергодефиците в клетках?

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

7. Схема гликогенеза в гепатоцитах и миоцитах. Каковы запасы углеводов в мышцах, в печени и в целом организме? Рассчитать энерготраты включения молекулы (моля) глюкозы в молекулы гликогена. Гормональная регуляция гликогенеза.

8. 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? Изобразить схему гликогенолиза под влиянием глюкагона, тканевая локализация. Механизмы активирования гликогенфосфорилазы адреналином (схема). Пока-

зять на схеме, что выгоднее в энергетическом отношении: сразу окислять глюкозу или вначале присоединить ее к гликогену или это не имеет значения (расчет провести для анаэробных условий).

9. Пентозофосфатный путь распада глюкозы, этапы, биологическая роль.

10. Изобразить схематически образование УДФ-глюкозы. Какова биологическая роль процессов, использующих УДФ-глюкозу? Значение глюкуронового пути расщепления глюкозы в печени и фибробластах.

11. Физиологические концентрации глюкозы в крови. Гормональная регуляция уровня глюкозы в крови.

12. 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. Химико-паразитическая теория кариеса. Роль сахароспиртов (сорбита, ксилита) в профилактике кариеса.

13. Что такое субстратное фосфорилирование? Напишите известные Вам реакции субстратного фосфорилирования. Окислительное фосфорилирование, физиологическая регуляция. Цепь ферментов тканевого дыхания (схема). Указать на схеме участки сопряжения транспорта электронов и фосфорилирования. Чему равен коэффициент P/O при окислении гликолитического НАДН·Н⁺ (необходимо учитывать челночные механизмы транспорта НАДН·Н⁺) в дыхательной цепи? 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. 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?

ТЕМА 16. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 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.

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, pH крови, буферные системы, титриметрические методы анализа;
- *нормальной физиологии:*
 - гемоглобин: функции, производные, 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 самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Недостаточность каких ферментов эритроцитов сопровождается их гемолизом?

А. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Б. Пируваткиназы.

В. Пируватдегидрогеназы.

Г. Изоцитратдегидрогеназы.

Д. Аргиназы.

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.

Б. Карбоксигемоглобин.

В. Оксигемоглобин.

Г. Карбгемоглобин.

Д. Гемоглобин S.

Задание 3. В схеме метаболизма эритроцитов (см. ниже) укажите:

А. Ферменты, обозначенные цифрами 1, 2 и т. д. (*варианты ответов:* 6-фосфо-фруктокиназа, гексокиназа, пируваткиназа, альдолаза А, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, триозофосфатизомераза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, дифосфоглицератмутаза, 6-фосфо-глюконатдегидрогеназа, 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 эталонами ответов.

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 равновесия (ацидоз, алкалоз).

3. Белки эритроцитов. Строение гемоглобина, гема, глобина; разновидности 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.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

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

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

Д. Эмбриональный гемоглобин (гемоглобин P) включает в себя три фракции: гемоглобин Говер I ($\zeta_2\varepsilon_2$), гемоглобин Говер II ($\alpha_2\varepsilon_2$) и гемоглобин Портленд ($\zeta_2\gamma_2$).

3.2. Какие из следующих утверждений о структуре гемоглобина верны?

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

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

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

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

Д. В молекуле гемоглобина имеются центры для связывания O_2 , CO_2 , 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.

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.

Задание 4. Причинами лактатного ацидоза являются:

А. Тканевая гипоксия.

Б. Наследственный дефект пируватдегидрогеназы.

В. Гиповитаминоз B_1 .

Г. Наследственная недостаточность глюкозо-6-фосфатазы.

Д. Повышение активности лактатдегидрогеназы.

Е. Интоксикации этанолом.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Оцените правильность первой части, второй части и всей фразы:

Кратковременные нарушения кислотно-основного равновесия нормализуются буферными системами, поэтому в физиологических условиях концентрация ионов водорода во внеклеточной жидкости поддерживается в пределах 36–43 ммоль/л (pH = 7,36–7,44).

Задание 2. Определение компонентов какой буферной системы крови используется для диагностики расстройств кислотно-основного состояния?

А. Бикарбонатной (гидрокарбонатной).

Б. Фосфатной.

В. Гемоглобиновой.

Г. Оксигемоглобиновой.

Д. Белковой.

Задание 3. Причины метаболического ацидоза:

- А. Кетонемия.
- Б. Лактацидемия.
- В. Потеря бикарбоната при диарее.
- Г. Потеря соляной кислоты при рвоте.
- Д. Снижение экскреции H^+ почками.

Задание 4. Причины метаболического алкалоза:

- А. Избыток минералокортикоидов.
- Б. Рвота.
- В. Диарея.
- Г. Повышенная экскреция H^+ почками.
- Д. Гиперкалиемия.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

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

Для самостоятельной работы:

3.1 – А, Б, В, Г, Д; 3.2 – А, Б, В, Г, Д; 3.3 – А, Б, В, Д; 3.4 – Г. 4 – А, Б, В, Г, Е.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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 1мл 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.

Ответ:

Вывод:

Работа 2. *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 0,1 н NaOH. Затем в 1-ю пробирку вносят 0,1 мл крови, во 2-ю (контрольную) — 0,1 мл $H_2O_{дист.}$ 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 K_2CrO_4 . К фильтрату приливают 2 капли 2%-ного раствора K_2CrO_4 и титруют раствором $AgNO_3$ до изменения желтого цвета раствора в кирпично-красный.

Расчет. Из объема (мл) $AgNO_3$, пошедшего на титрование опытного раствора, вычитают объем (мл) $AgNO_3$, пошедший на титрование контроля, 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 единицу СИ (ммоль/л) — 0,282.

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

Вывод:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 17. БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ. СИСТЕМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Актуальность темы

Наряду с определением общего белка плазмы крови важное диагностическое значение имеет выяснение количественных взаимоотношений между отдельными фракциями белков. На занятии студенты знакомятся с электрофоретическим разделением белков сыворотки крови, проводят количественную оценку протеинограмм. Тема «Гемостаз. Система свертывания крови» — традиционно сложная для студентов. Понимание процессов свертывания крови и фибринолиза — основа для дальнейшего изучения вопросов диагностики, лечения, профилактики тромбозов (тромбоэмболий) и геморрагий.

Цель занятия

Ознакомиться с принципами исследования белкового состава крови, понимать 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:*
 - физико-химические свойства белков, методы разделения белков (высаливание, электрофорез), количественное определение белка плазмы крови.

Для самопроверки 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: альбумины, глобулины, фибриноген (содержание, функции); альбумино-глобулиновый коэффициент и его диагностическое значение. Биологическая роль и диагностическое значение некоторых белков плазмы крови (гаптоглобин, трансферрин, церулоплазмин, ингибиторы трипсина, С-реактивный белок, интерферон, криоглобулины).

2. Ферменты плазмы крови (секреторные, индикаторные, экскреторные). Диагностическое значение определения активности ферментов плазмы крови.

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

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, роль в гемокоагуляции).

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

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

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 551–585.
2. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 143–145, 438–447, 464–472.
3. Конспект лекций.

Дополнительная

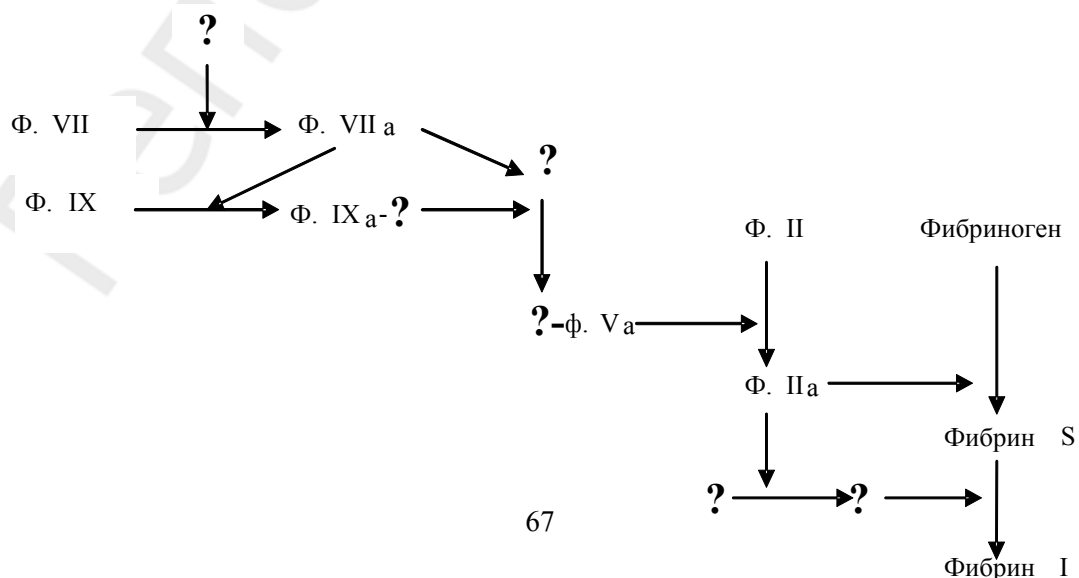
1. Иванов, Е. П. Руководство по гемостазиологии / Е. П. Иванов. Минск : Беларусь, 1991. 304 с.
2. Василькова, Т. В. Молекулярные механизмы гемостаза : учеб. пособие / Т. В. Василькова. Минск : МГМИ, 1999. 57 с.

Задания для самостоятельной работы

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

Задание 2.

- 2.1. Напишите схему внутреннего пути свертывания крови.
- 2.2. Запомните активаторы фактора Хагемана.
- 2.3. На схеме внешнего механизма свертывания крови замените знак вопроса соответствующими факторами.



Задание 3. Назовите витамин К-зависимые факторы свертывания крови.

Задание 4. Умейте объяснить механизм действия основных физиологических антикоагулянтов.

4.1. Выберите из приведенных физиологических антикоагулянтов:

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

4.2. Решите задачу. Почему у гомозиготных новорожденных с мутацией гена протеина С наблюдается распространенный тромбоз внутренних органов (врожденная молниеносная пурпура)?

4.3. Решите задачу. Почему при бактериальных инфекциях, вызванных некоторыми стрептококками, наблюдаются диффузные кровотечения?

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Альбумины плазмы крови характеризуются:

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

Задание 2. Укажите ошибочное утверждение. Альбумины плазмы крови:

- А. Синтезируются в эритроцитах.
- Б. Сравнительно быстро обновляются.
- В. Играют важную роль в создании онкотического давления.
- Г. Выполняют 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 альбуминами.
- В. Многие глобулины — сравнительно гидрофобные белки.
- Г. Выпадают в осадок только в насыщенном растворе $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.
- 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 в клетки ретикулоэндотелия.
Д. Ингибирует протеолитические ферменты крови (трипсин, хитотрипсин, тромбин, плазмин, калликреин).

Задание 6. В процессе тромбообразования различают внешний и внутренний пути свертывания крови. На каком этапе свертывания крови они не совпадают?

- А. Превращение протромбина в тромбин.
- Б. Превращение фибриногена в фибрин.
- В. Образование протромбиназы (активного тромбoplastина крови).
- Г. Ретракция кровяного тромба.
- Д. Превращение пламиногена в плазмин.

Задание 7. Какое из приведенных утверждений не характерно для фактора Хагемана?

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

Задание 8. Расположите в правильном порядке события, происходящие при образовании фибринового сгустка:

- А. Образование геля фибрина.
- Б. Стабилизация полимера фибрина.
- В. Освобождение фибриногена от фибринопептидов А и В.
- Г. Сжатие геля.
- Д. Образование фибрина S.

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 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 — наиболее частая причина тромбозов. Какова антикоагулянтная роль антитромбина III?

- А. Образование необратимого комплекса с гепарином.
- Б. Ингибирует витамин К-зависимое карбоксилирование остатков глутамата белков.
- 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 белков.

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

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

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.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самостоятельной работы:

4.1 – (А – 2, 3, 4, 5, 6; Б – 1, 7).

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Количественное 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 кости и хряща, воздействует на обмен веществ в клетках, является важным фактором свертывания крови 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 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 сине-розовый 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 плазмы крови и 2 капли индикатора хромогена черного. Раствор приобретает розово-фиолетовый цвет. Затем раствор титруют 0,002 М раствором трилона Б до сине-розовой окраски.

По объему трилона Б, пошедшего на титрование, рассчитывают содержание кальция в плазме крови.

Расчет:
$$X \text{ (мг\%)} = \frac{0,002 \cdot 40,8 \cdot 100 \cdot V_T}{1},$$

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

Ответ: V_T (мл) = _____, X (мг %) = _____

Коэффициент пересчета в единицу СИ (ммоль/л) — 0,245.

C (ммоль/л) = $X \cdot 0,245 =$ _____

Вывод:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 18. КОНТРОЛЬ ПРАКТИЧЕСКИХ НАВЫКОВ БИОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Актуальность темы

Качественный и количественный биохимический анализ находит широкое применение в клинических, медико-биологических и санитарно-гигиенических исследованиях. Так, некоторые цветные реакции нашли широкое применение в лабораторной практике для количественного определения белка и аминокислот (биуретовая реакция лежит в основе биуретового метода количественного определения белка, нингидриновая реакция используется на практике для количественного определения аминокислот).

Цель занятия

Закрепить приобретенные практические навыки качественного и количественного биохимического анализа. Проведением цветных реакций на белки и аминокислоты проверить умение студентов применять методы качественного анализа для решения прикладных медицинских аспектов.

Требования к исходному уровню знаний

Для качественного выполнения заданий необходимо вспомнить:

- *из общей химии:*
 - принципы проведения качественных реакций;
- *биоорганической химии:*
 - методы проведения цветных реакций на белки и аминокислоты.

Получив индивидуальные контрольные задания, студенты приступают к выполнению лабораторных работ, используя при этом инструкцию и оформляя протокол работы.

Инструкция к контрольному занятию и протокол работы

Работа 1. Цветные реакции на белки и аминокислоты

Цветные реакции дают возможность обнаружить присутствие белка в растворах и биологических жидкостях. Эти реакции применяют как для качественного, так и для количественного определения белка и содержащихся в нем аминокислот. Некоторые реакции присущи не только белкам, но и другим веществам, например, фенол, подобно тирозину, дает розово-красное окрашивание с реактивом Миллона, поэтому недостаточно проведения одной какой-либо реакции для установления наличия белка в исследуемом растворе.

Существует два типа цветных реакций:

1) универсальные — биуретовая (на все белки) и нингидриновая (на все α -аминокислоты и белки);

2) специфические — только на определенные аминокислоты как в молекуле белка, так и в растворах аминокислот, например, реакция Фоля (на аминокислоты, содержащие слабосвязанную серу), реакция Сакагучи (на аргинин) и др.

После оформления протокола исследования своей контрольной задачи с использованием цветных реакций на основании полученных результатов студент делает выбор из следующих вариантов ответов:

1) раствор яичного белка (содержит ароматические, алифатические и серосодержащие аминокислоты);

2) раствор желатина (желатин — денатурированный коллаген, не содержит ароматических аминокислот);

3) раствор ароматических α -аминокислот;

4) раствор алифатических α -аминокислот.

Название реакции	Принцип реакции	Краткий ход работы	Примечания	Наблюдаемые изменения	Вывод
Биуретовая реакция (Пиотровско-го)	Данная реакция открывает пептидную связь в белке. Обусловлена образованием в щелочной среде биуретового комплекса в результате соединения меди с пептидной группировкой белка. При этом раствор приобретает сине-фиолетовый цвет	К 5 каплям исследуемого раствора добавляют 5 капель 10%-ного р-ра едкого натра, 2 капли 1%-ного р-ра сульфата меди. Содержимое пробирки перемешивают	Биуретовую реакцию дают вещества, содержащие <i>не менее двух пептидных связей</i>		
Нингидриновая реакция	Аминокислоты, полипептиды и белки при кипячении с водным р-ром нингидрина дают синее или сине-фиолетовое окрашивание. В результате взаимодействия α -аминокислоты с нингидрином образуется шиффово основание, которое перегруппировывается, декарбоксилируется и расщепляется на альдегид и аминодикетогидринден	К 5 каплям исследуемого раствора добавляют 5 капель 0,5 % водного раствора нингидрина и кипятят 1–2 мин. Отмечают появление окраски	Характерна для аминогрупп в α -положении, входящих в состав белков, полипептидов и свободных аминокислот		
Ксантопротеиновая реакция (Мульдера)	При обработке р-ра белка концентрированной азотной кислотой появляется желтое окрашивание. Ароматические АК при взаимодействии с HNO_3 конц. образуют нитросоединения, окрашенные в желтый цвет	К 5 каплям исследуемого раствора добавляют 3 капли HNO_3 конц. и осторожно (!) кипятят	Положительная реакция Мульдера доказывает присутствие в растворе ароматических аминокислот (три, фен, тир)		
Реакция на тирозин (Миллона)	Тирозин при взаимодействии с реактивом Миллона и при кипячении образует кроваво-красный осадок ртутной соли динитротирозина благодаря наличию у тирозина фенольного ядра	К 5 каплям исследуемого раствора добавляют 3 капли реактива Миллона и осторожно (!) нагревают	Соединения, имеющие в своем составе фенольное ядро, также дают положительную реакцию Миллона		

Название реакции	Принцип реакции	Краткий ход работы	Примечания	Наблюдаемые изменения	Вывод
Реакция Фоля	Сульфгидрильные группы (-SH) в белке или в пептиде подвергаются щелочному гидролизу, в результате чего происходит отщепление серы в виде сульфида свинца, который с плюмбитом дает черный или бурый нерастворимый осадок сульфида свинца — PbS	К 5 каплям исследуемого раствора добавляют 5 капель реактива Фоля. Прокипятить и дать постоять 1–2 мин	Положительна только с аминокислотами, которые содержат слабосвязанную серу (цистеин)		

Вывод:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 19. ОБМЕН ЛИПИДОВ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ, ВСАСЫВАНИЕ, РЕСИНТЕЗ. ТРАНСПОРТ ЭКЗОГЕННЫХ ЛИПИДОВ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЛИПАЗ

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 в обмене 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, желчные кислоты, мицеллообразование;
 - титрометрический метод анализа кислот;
- *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.

Для самопроверки 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-линолеоил-3-стеароилглицерола. Это соединение:

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

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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). Роль желчных кислот.
3. Гидролиз липидов (схемы превращений). Ферменты (место образования, субстратная специфичность). Механизмы активации панкреатической липазы. Всасывание (механизмы, мицеллярное растворение, судьба мицелл).
4. Ресинтез триацилглицеролов и глицерофосфолипидов в различных тканях (химизм, общие этапы синтеза, различия). Ресинтез липидов в энтероцитах (источники субстратов, транспорт ресинтезированных липидов).

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинум, Асар, 2008. С. 193–216.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 276–291, 305–309.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Ленинджер А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985.
2. *Биохимия человека* / Р. Мари [и др.]. М. : 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?

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

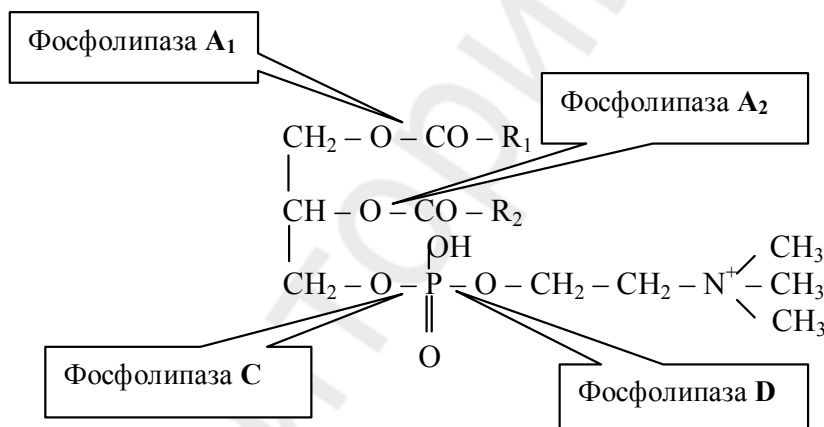
Задание 2.

2.1. 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. 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.

2.2. 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 (см. схему).



Задание 3.

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

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.

3.2. Нужно усвоить, что для транспорта гидрофобных продуктов ресинтеза липидов (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. ...

3.3. 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 обломков хиломикронов на составные компоненты происходит в гепатоцитах.

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

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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. Пищеводе.

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 A_1 .
- Б. Фосфолипаза A_2 .
- В. Панкреатическая липаза.
- Г. Гормон-чувствительная липаза.

Эталоны ответов к решению заданий

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

2.1 – А.

3.1 – верно.

3.2 – (А: 1) ТАГ; 2) эфиры холестерина; Б: 1) фосфолипиды; 2) холестерол; 3) апобелки (апо-В 48).

3.3 – Б, В, Г.

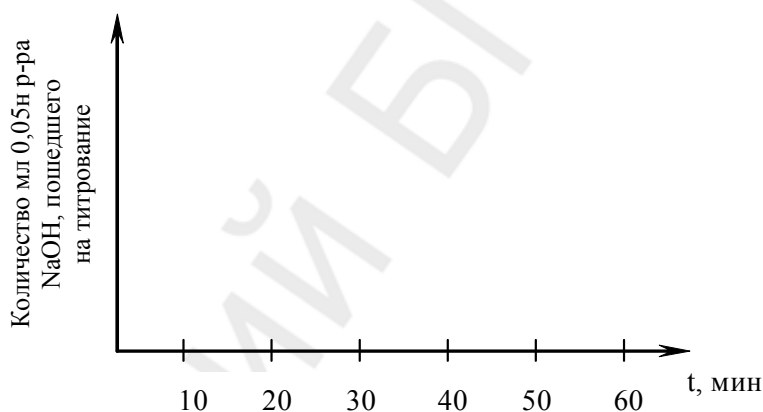
САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *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 две пробирки наливают по 5 мл молока и по 1 мл 5%-ного раствора панкреатина (сока поджелудочной железы). В одну пробирку приливают 1 мл воды, а в другую — 1 мл желчи. Жидкость в пробирках быстро перемешивают. Из каждой пробирки отбирают по 1 мл смеси в колбы, добавляют 1–2 капли 0,5%-ного раствора фенолфталеина и титруют 0,05 н раствором едкого натра до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 30 с. Обе пробирки с оставшейся смесью помещают в термостат при 38 °С. Через каждые 10 мин из пробирок отбирают по 1 мл смеси и титруют 0,05 н раствором едкого натра в присутствии фенолфталеина до слабо-розовой окраски. Проводят 5–6 таких определений и на основании полученных данных строят две кривые, отражающие процесс гидролиза жира под действием фермента липазы во времени и в зависимости от наличия или отсутствия желчи.



Вывод:

Работа 2. *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 °С на 30 мин. После инкубации в обе пробирки наливают по 5 капель молибденового реактива, нагревают их на пламени горелки и охлаждают водой под краном.

Вывод:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 20. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН ЖИРНЫХ КИСЛОТ. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ β -ЛИПОПРОТЕИНОВ

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.

Изменения в содержании липопротеинов плазмы крови могут указывать на нарушения липидного обмена в организме.

Цель занятия

Изучить процессы окисления и синтеза жирных кислот. Сформировать представление об эйкозаноидах и их функциях. Приобрести навыки количественного определения β -липопротеинов в плазме крови.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить:

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

Для самопроверки 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. 2 (30). |

Правильность решений проверьте, сопоставив его с эталоном ответа.

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. Особенности β -окисления в пероксисомах.

2. Пути превращения глицерола в клетках. Энергетический баланс окисления глицерола.

3. Ацетил-КоА как центральный метаболит. Пути его потребления в клетках.

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

5. Высоконеопредельные жирные кислоты как незаменимые факторы питания: представители, биологическая роль.

6. Метаболизм арахидоновой кислоты. Биосинтез эйкозаноидов (простагландины, простациклины, лейкотриены, тромбоксаны) и их биологическая роль.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 234–249.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 199–202, 293–298, 300–305.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Биохимия человека* / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.
2. *Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами* / под ред. Е. С. Северина, А. Я. Николаева. М. : 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⁺) и одна молекула ФАД (ФАДН₂), поэтому каждый виток дает 4 АТФ при сопряжении с процессом окислительного фосфорилирования.

Г. Число витков можно рассчитать по формуле: $n-1$, т. к. в последний виток β -окисления всегда вступает бутирил-КоА и при его окислении 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 CO₂ и H₂O.

В. Напишите реакции катаболизма глицерола (глицерол → фосфоглицерол → диоксиацетонфосфат → глицеральдегидфосфат) до CO₂ и H₂O.

Г. Рассчитайте количество АТФ, образующееся при окислении одной молекулы глицерола до CO₂ и H₂O.

Д. Рассчитайте суммарный выход АТФ при полном окислении трипальмитоилглицерола.

1.2. При каких условиях будет активироваться β -окисление жирных кислот?

А. При уменьшении синтеза малонил-КоА в цитозоле.

Б. При увеличении концентрации НАДН⁺ в митохондриях.

В. При гипоксии.

Г. При наличии большого количества глюкозы.

Задание 2.

2.1. Напишите реакции первого витка синтеза пальмитиновой кислоты.

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

2.3. 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 (9, 12).
 2. Не синтезируются в организме и должны поступать с пищей. Б. 18:1 (9).
 В. 18:3 (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. Объясните, почему аспирин в малых дозах может применяться для предотвращения образования тромбов.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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.

2.1. Изучив метаболизм жирных кислот, заполните таблицу:

Характеристики	β-Окисление	Биосинтез
Локализация процесса		
Исходный субстрат		
Переносчик субстрата через митохондриальную мембрану		
Коферменты окислительно-восстановительных реакций		

Характеристики	β -Окисление	Биосинтез
Источник присоединяемого фрагмента или отщепляемый фрагмент		
Регуляторные ферменты		
Регулирующие факторы		
Активаторы		
Ингибиторы		

2.2. 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.

2.3. Какие положения правильны для ситуации, когда происходит мобилизация липидов?

- 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.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – (1 – Д; 2 – В; 3 – Г; 4 – А).

Для самостоятельной работы:

1.1 – 339,5. 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).

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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 хиломикронов 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. В основу спектрофотометрического 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 0,025 М раствора CaCl_2 и 0,2 мл сыворотки крови, перемешивают. Определяют оптическую плотность раствора (E_1) против раствора CaCl_2 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.

Расчет. Вычисляют разность оптических плотностей и умножают ее на 10 — эмпирический коэффициент, предложенный Ледвиной, т. к. построение калибровочной кривой сопряжено с рядом трудностей.

В норме содержание β -липопротеинов составляет 3–4,5 г/л. Содержание β -липопротеинов колеблется в зависимости от возраста и пола.

Ответ: $E_1 =$ $E_2 =$ x (г/л) = $(E_2 - E_1) \cdot 10$

x (г/л) =

Вывод:

Подпись преподавателя:

Тема 21. Обмен холестерина и кетоновых тел. Количественное определение холестерина в сыворотке крови. Регуляция и патология липидного обмена

Актуальность темы

Холестерол — важный элемент мембранной структуры, предшественник стероидных гормонов, витамина Д, 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 холестерина связаны такие заболевания, как атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, желчнокаменная болезнь. Потому понимание вопросов синтеза, распада, транспорта и регуляции обмена холестерина необходимо при изучении этих заболеваний.

Один из важных показателей обмена липидов — содержание кетоновых тел. Кетоновые тела содержатся в крови здорового человека в небольших количествах. Однако при сахарном диабете, голодании концентрация кетоновых тел может повышаться до 20 ммоль/л, развивается кетонемия.

В связи с вышеизложенным определение кетоновых тел и холестерина в крови имеет большое значение для диагностики заболеваний, связанных с нарушением обмена липидов и углеводов.

Цель занятия

Научиться анализировать содержание холестерина в крови и кетоновых тел в моче при изучении заболеваний, вызванных нарушениями метаболизма липидов.

Требования к исходному уровню знаний

Для полного усвоения темы необходимо повторить:

- из *биоорганической химии*:
 - кетоновые тела и их свойства;
 - холестерол: вторичный спирт — производное циклопентанпергидрофенантрена, строение, свойства.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

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

- А. Холевая кислота. Б. Триацилглицерол.
В. Фосфатидилхолин. Г. Воск.

Задание 2. В исследуемой моче определили выраженную кислую реакцию за счет вещества, обладающего свойствами кетонов. Какое из перечисленных веществ может обусловить это изменение рН 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-гидроксibuтирата. 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 эталонами ответов.

Вопросы для обсуждения

1. Биологическая роль холестерола, пищевые источники. Выведение холестерола из организма, желчные кислоты как основной конечный продукт обмена холестерола.

2. Биосинтез холестерола (тканевая и субклеточная локализация, субстраты, этапы, химизм I этапа, регуляция).

3. Механизмы поддержания баланса холестерола в клетках. Транспорт холестерола во внепеченочные клетки, роль апоВ₁₀₀. Роль ЛПВП и ЛХАТ в разгрузке клеток от избытка холестерола. Метаболизм эфиров холестерола, роль АХАТ, холестеролэстеразы.

4. Транспорт холестерола кровью. Гиперхолестеролемиа и ее причины. Биохимия атеросклероза, гиперхолестеролемиа как фактор риска, другие факторы риска, механизм атерогенного действия аполипопротеина (а). Основы профилактики и диагностики гиперхолестеролемий, атеросклероза (индекс атерогенности).

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

6. Мобилизация липидов из жировой ткани (схема, цАМФ-зависимый механизм активации гормон-чувствительной липазы, гормональная регуляция). Роль депонирования и мобилизации жиров, нарушения этих процессов при ожирении.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 216—29, 254—260.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 292—293, 298—300, 309—317.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Маршалл, В. Дж.* Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл. М., СПб. : БИНОМ, Невский Диалект, 1999. 368 с.
2. *Биохимия человека* / Р. Мари [и др.]. М. : Мир, 1993. 384 с.

Задания для самостоятельной работы

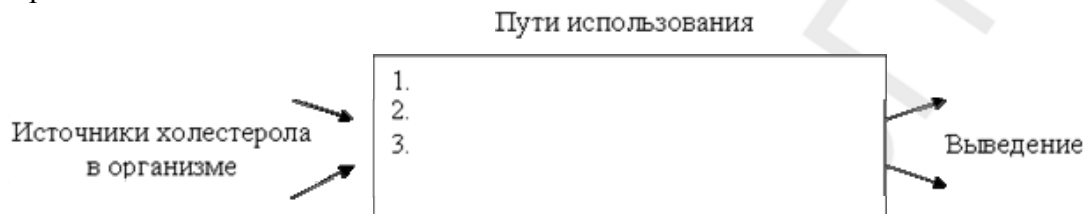
Задание 1.

1.1. Вспомнить, что холестерол — структурный компонент биомембран всех тканей организма. Для синтеза различных биологически активных веществ в организме используется свободный холестерол, тогда как этерифицированная форма — резерв холестерола в клетке.

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

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

1.3. Дополните рисунок, указав пути поступления, использования и выведения холестерола из организма.



Задание 2.

2.1. Выучите и напишите последовательность реакций синтеза холестерола из ацетил-КоА до образования мевалоната, укажите ферменты.

2.2. Ответьте на вопрос: можно ли снижением потребления холестерола с пищей вызвать снижение концентрации холестерола в крови?

Задание 3.

3.1. Знать 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.

3.2. Выбрать, в какой форме пищевой холестерол поступает в кровоток:

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

Задание 4.

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

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

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

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

Задание 5. При интенсивной физической работе активизируется мобилизация нейтральных жиров из депо.

5.1. Какой фермент осуществляет внутриклеточный липолиз?

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

5.2. Каким гормоном активизируется этот фермент?

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

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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 холестерина?

Задание 3. У пациента обнаружено повышение содержания кетоновых тел в крови. При каких физиологических 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.

Задание 4. 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 5. При обследовании подростка, страдающего ксантоматозом, выявлена семейная гиперхолестеролемиа. Концентрация каких липопротеинов резко повышена в крови при данной патологии?

А. Хиломикронов. Б. ЛПНП. В. ЛПОНП. Г. ЛПВП.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

1 – Г; 2 – Г; 3 – Б.

Для самостоятельной работы:

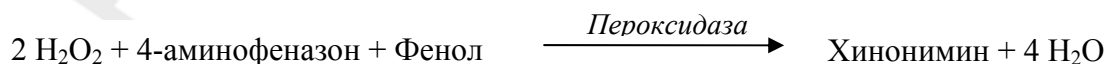
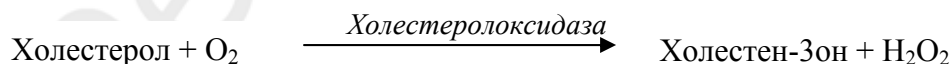
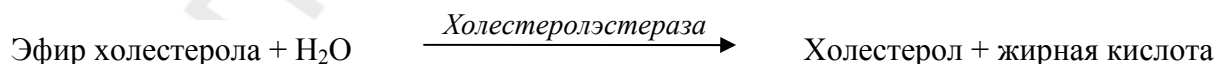
1.2 – Б, В; 2.2 – да; 3.2 – Г; 4.2 – Б, Г; 4.3 – 20 АТФ; 5.1 – Б; 5.2 – Б.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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:

	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 реакцию смесь 5 мин при 37 °С или 10 мин при комнатной температуре		

По окончании инкубации измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб на ФЭК (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.

Расчет. С холест. (ммоль/л) = $5,17 \times (E \text{ пробы} / E \text{ станд.})$

Ответ: С холест. =

Нормальные величины и клинико-диагностическое значение см. учебно-методическое пособие «Биологическая химия».

Работа 2. Качественные реакции на ацетон и ацетоуксусную кислоту

Ход работы.

1. Проба Легалья на ацетон. Ацетон и ацетоуксусная кислота в щелочной среде образуют с нитропруссидом натрия оранжево-красное окрашивание. После подкисления концентрированной уксусной кислотой образуется соединение вишневого цвета.

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

2. Реакция Герхардта на ацетоуксусную кислоту. К 5 каплям мочи прибавляют по каплям 5%-ный раствор хлорного железа; при этом выпадает осадок фосфатов в форме $FePO_4$. 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.

Выводы:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 22. ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К КОЛЛОКВИУМУ ПО ТЕМЕ «ОБМЕН ЛИПИДОВ»

1. Какие вещества относятся к липидам, простым липидам, неомыляемым и омыляемым липидам? Структура, физико-химические свойства и функции природных восков, ацилглицеролов, глицеро- и сфингофосфолипидов, гликолипидов, сульфоллипидов. Уметь писать химические формулы ацилглицеролов, фосфатидной кислоты, фосфатидилинозита, лизолецитина, фосфатидилэтанолamina, фосфатидилсерина, фосфатидилхолина, пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот, блок-схемы строения церамида, цереброзидов и ганглиозидов (GM_1), сфингомиелина.

2. Механизмы ресинтеза липидов в энтероцитах (моноацилглицерольный и глицерофосфатный). Формирование хиломикронов, их состав и структура.

3. Липопротеины сыворотки крови. Классификация, состав, место образования, взаимопревращения. Роль липопротеинлипазы крови. Лецитин: холестеролацилтрансфераза (ЛХАТ) и ее роль.

4. Этапы переваривания липидов в желудочно-кишечном тракте. Эмульгирующие свойства желчных кислот в просвете кишечника. Роль таурина и глицина.

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. Этапы превращения углеводов в депонируемые липиды (схема).

8. Ненасыщенные жирные кислоты, относящиеся к группе незаменимых факторов питания. Пути образования и использования арахидоновой кислоты в клетках.

9. Виды эйкозаноидов, закономерности их действия, функции в организме. Механизм действия противовоспалительных лекарственных препаратов нестероидной природы.

10. Условия, при которых активируется биосинтез жирных кислот в клетках. Внутриклеточная локализация этого процесса и происхождение исходных субстратов. Реакции синтеза жирных кислот. Уметь рассчитывать затрату глюкозы (молекул) на синтез заданного триацилглицерола (молекулы).

11. Схемы путей образования НАДФН⁺ для кетоацилредуктазной и еноилредуктазной реакций биосинтеза жирных кислот.

12. Сколько АТФ нужно затратить на синтез жирных кислот (кислоты по вашему усмотрению), чтобы обеспечить ими образование одной молекулы глюкоцерамида?

13. 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 дыхательной цепи, роль АДФ, АТФ.

14. Схема ферментов тканевого дыхания для НАД⁺-зависимых и ФАД-зависимых субстратов. Уметь включать субстраты β -окисления жирных кислот (β -гидроксиацил-КоА, ацил-КоА) 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⁺? Роль НАДФ⁺ в клетке.

15. Что такое окислительное фосфорилирование (определение, субклеточная локализация)? Основные положения теории П. Митчелла, объясняющие механизм окислительного фосфорилирования. Что такое разобщение окислительного фосфорилирования? Какими свойствами должен обладать разобщитель? Примеры разобщителей. Как изменяется процесс окислительного фосфорилирования при недостатке кислорода в клетках (объяснить механизм)?

16. Ингибиторы переноса электронов по дыхательной цепи. В каком состоянии (окисленном или восстановленном) будут находиться переносчики электронов при блокаде цепи: а) производными барбитуровой кислоты; б) малоновой кислотой; в) цианидами, угарным газом; г) ротеноном; д) антимицином А?

17. Реакция образования β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА и мевалоновой кислоты. Пути использования этих соединений в клетке. Регуляция активности ГМГ-КоА редуктазы.

18. Синтез холестерола в клетках (схема). Регуляция этого процесса, направленная на защиту клетки от перегрузки холестеролом. Составляющие механизма поддержания баланса холестерола в клетках, роль апо А₁, апо D, апо В-100, ЛХАТ, клеточных рецепторов, остатков хиломикронов, ЛППП и ЛПВП.

19. Факторы, способствующие высокому уровню холестерина в составе ЛПВП, в составе ЛПНП. Вероятный механизм участия холестерина в развитии атеросклероза. Происхождение и роль пенистых клеток. Исходя из метаболизма холестерина в организме и его регуляции, уметь обосновать подходы к снижению его уровня в крови.

20. Возможные механизмы атерогенного действия липопротеина (а).

21. Предложить механизм развития последствий в результате снижения активности липопротеинлипазы в крови, печеночной липазы, апо С-2, недостаточности рецепторов для апо В-48/Е.

22. Возможные причины повышения уровня свободных жирных кислот в крови. Роль аполипопротеинов, гормон-чувствительной липазы.

23. Месторасположение действия фосфолипаз А₁, А₂, С и D на структуру фосфолипидов. Реакции синтеза лецитина. Липотропные факторы, их роль в нарушении синтеза глицерофосфолипидов в печени.

24. Понятие «кетонные тела», их химические формулы. Реакции синтеза кетонных тел, локализация в клетке. Роль в организме. Уметь рассчитать количество молекул кетонных тел, образующихся из одной молекулы заданной жирной кислоты.

25. Уметь писать реакции включения кетонных тел в процесс энергопродукции, его органная и внутриклеточная локализация, энергетический выход.

26. Понятие «кетоз», вероятный механизм его происхождения при сахарном диабете, голодании.

ТЕМА 23. 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, система свертывания крови, система комплемента и другие процессы). 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. Переваривание осуществляют 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 *биологической химии*:
 - структурная организация белковой молекулы;
 - строение аминокислот;
 - ферменты.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Основными белковыми резервами организма являются:

- А. Мышцы. Б. Слизистая кишечника.
В. Мозг. Г. Сыворожка 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. Б. Оксидоредукции. В. Синтеза.
Г. Гидролиза. Д. Переноса функциональных групп.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 261–267.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 318–337.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

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

Задания для самостоятельной работы

Задание 1.

1.1. Запомнить основные этапы переваривания белков:

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

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

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

1.4. Выберите правильный ответ. 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 правильный ответ. 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 эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. При острых панкреатитах происходит преждевременная активация проферментов в клетках панкреатической 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.

Эталоны ответов к решению заданий

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.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Работа 1. *Количественное определение кислотности желудочного сока*

Принцип метода. Общую кислотность желудочного сока измеряют в миллилитрах 0,1 н раствора едкого натра, 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 едкого натра, 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, общей соляной кислоты, 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 от 0). Продолжают титрование до появления розового окрашивания (3-я отметка от 0).

Расчет. Содержание свободной HCl (1-я отметка), связанной HCl (2-я отметка) и общую кислотность (3-я отметка) рассчитывают по формуле:

$$X \text{ (ммоль/л)} = A \times 1000 \times 0,1 / 10,$$

где А — 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.

Ответ:

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 ки-

слотности (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).

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.

Выводы:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 24. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ. ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНОГО АЗОТА КРОВИ И МОЧЕВИНЫ В МОЧЕ

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. Наиважнейшую 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, γ -аминомасляная кислота (ГАМК), играющие важную роль в организме.

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 и способов борьбы с ней. Важнейшим показателем азотистого обмена является остаточный азот крови. 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

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 и про-

гнозе заболеваний. 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 и оксидоредуктаз; структура коферментов оксидоредуктаз (НАД⁺, НАДФ⁺, ФМН, ФАД).
 - структурная организация белковой молекулы;
 - строение аминокислот;
 - ферменты;
 - глюконеогенез.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Вспомните классификацию ферментов. Ферменты каких классов участвуют в катализе реакций дезаминирования, переаминирования, декарбоксилирования аминокислот?

Задание 2. При окислительном дезаминировании L-аминокислот могут образоваться:
А. Аммиак. Б. ФМНН₂. В. НАДНН⁺. Г. α-Кетокислоты. Д. Н₂О₂.

Задание 3. Вспомните последовательность реакций глюконеогенеза. Какие вещества являются субстратами глюконеогенеза?

Задание 4. Аммиак в клетке образуется в результате:

- А. Реакций дезаминирования аминокислот.
- Б. Реакций переаминирования.
- В. Реакций восстановительного аминирования.
- Г. Реакций декарбоксилирования аминокислот.
- Д. Непрямого дезаминирования.

Задание 5. Назовите ферменты, катализирующие в организме человека реакции окислительного дезаминирования аминокислот:

- А. Оксидаза D-аминокислот.
- Б. Оксидаза L-аминокислот.
- В. Глутаматдекарбоксилаза.
- Г. Глутаматдегидрогеназа.
- Д. Аланинаминотрансфераза.

Задание 6. Дополните схему реакции окислительного дезаминирования глутамата недостающими компонентами:



- А. Глутаматдекарбоксилаза.
- Б. Глутаматдегидрогеназа.
- В. Аспаратаминотрансфераза.
- Г. НАД⁺.
- Д. ФАД.
- Е. ФМН. Ж. Н₂О. З. NH₃. И. СО₂.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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 синтеза новых аминокислот. Глюкогенные и кетогенные аминокислоты.
5. Декарбоксилирование аминокислот, ферменты, кофермент. Биогенные амины (триптамин, серотонин, гистамин, γ -аминомасляная кислота), катехоламины (дофамин, норадреналин, адреналин). Биологическая роль.
6. Пути связывания аммиака в клетках (восстановительное аминирование α -кетоглутарата, синтез глутамина и аспарагина, образование карбамоилфосфата). Транспортные формы аммиака.
7. Образование солей аммония в почках (источник аммиака, роль глутаминазы и глутаматдегидрогеназы, значение активирования глутаминазы почек при ацидозе).
8. Роль клеток печени в обезвреживании аммиака. Орнитинный цикл мочевинообразования (схема цикла, субстраты, ферменты, энергетическое обеспечение, связь с лимоннокислым циклом, регуляция). Судьба мочевины.
9. Остаточный азот крови (основные компоненты и их относительное содержание). Принцип определения и клинико-диагностическое значение.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 277–281, 286–287, 296–301.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 337–350, 350–354.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Ленинджер, А.* Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985. С. 571–576.
2. *Биохимия человека* / Р. Мари [и др.]. М. : 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. Трансметилирование. | |

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 суток значительно повышалась активность аспартатаминотрансферазы в крови. Укажите кофермент данного фермента.

- | | | |
|-----------------------|----------------------|------------------------|
| А. НАД ⁺ . | Б. ФАД. | В. НАДФ ⁺ . |
| Г. Пиридоксальфосфат. | Д. Тиаминпирофосфат. | |

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 4. Подобрать соответствующие пары вопрос – ответ:

- | | |
|---|---|
| А. Фермент орнитинкарбамоилтрансфераза (ОКТ). | 1. Участвует в синтезе аргинино-янтарной кислоты. |
| Б. Фермент аргиназа. | 2. Участвует в синтезе цитруллина. |
| В. Фермент аргининосукцинатсинтетаза. | 3. Участвует в распаде аргинино-янтарной кислоты. |
| Г. Фермент аргининосукцинатлиаза. | 4. Участвует в реакции гидролиза аргинина. |

Задание 5. Назовите ферменты, катализирующие следующие реакции:

- А. Образование амида глутаминовой кислоты.
- Б. Восстановительное аминирование α -кетоглутарата.
- В. Гидролиз амида глутаминовой кислоты.
- Г. Образование амида аспарагиновой кислоты.
- Д. Образование карбамоилфосфата.

Задание 6. Оцените функциональное состояние печени и почек у больных С. и А. с учетом биохимических показателей крови и мочи.

7.1. У больного С. содержание мочевины в крови 1,8 ммоль/л. С мочой выводится 12 г мочевины в сутки. Потребление белка с пищей — достаточное.

7.2. Больной А. потребляет в сутки 105 г полноценного белка. Содержание мочевины в крови 10 ммоль/л, с мочой выводится 8,5 г мочевины в сутки.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Центральная роль глутаминовой кислоты в промежуточном обмене аминокислот определяется тем, что глутаминовая кислота:

1. Участвует в трансаминировании как универсальный донор NH_2 -группы.
2. Легко образуется из α -кетоглутаровой кислоты — универсального акцептора аминокислотных групп.
3. Дезаминируется НАД⁺-зависимой глутаматдегидрогеназой.
4. Является заменимой аминокислотой.

Задание 2. Оцените правильность первой части, второй части и всей фразы в целом: Непрямое дезаминирование аминокислот осуществляется через диаминомонокарбоновые кислоты, потому что из дегидрогеназ L-аминокислот наибольшей активностью обладает глутаматдегидрогеназа.

Задание 3. При декарбоксилировании каких аминокислот или их производных образуются следующие биогенные амины?

- А. Триптамин. Б. Серотонин. В. Гистамин. Г. ГАМК. Д. Дофамин.

Задание 4. Выберите правильный ответ. Повышенное выведение мочевины с мочой наблюдается:

- А. При белковом голодании. Б. Лихорадочных состояниях.
В. Избытке белка в питании. Г. Уремии. Д. Ацидозе.

Задание 5. Сколько молей АТФ требуется для синтеза 1 моля мочевины? Напишите реакции (схема), идущие с затратой АТФ, укажите ферменты.

Задание 6. Оцените правильность первой части, второй части и всей фразы в целом: Циклы Кребса (орнитинового и трикарбоновых кислот) тесно связаны, потому что у них имеется общий метаболит — фумарат.

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

2 – А, Б, В, Г, Д.

4 – А, Д.

5 – А, Б, Г.



Для самостоятельной работы:

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

5 – (А – глутаминсинтетаза; Б – глутамат ДГ (НАДФН · Н⁺); В – глутаминаза; Г – аспарагинсинтетаза; Д – карбамоилфосфатсинтетаза).

6.1 – нарушение функции печени; 6.2 – нарушение функции почек.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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 парадиметиламинобензальдегидом 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%-ного раствора парадиметиламинобензальдегида и тщательно перемешивают. Через 15 мин опытную и стандартную пробы фотометрируют в сухих кюветах шириной 3 мм с синим светофильтром против контрольной пробы.

Расчет. 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.

Ответ:

Клинико-диагностическое значение. Пониженное содержание мочевины в моче отмечается при нефрите, ацидозе, паренхиматозной желтухе, циррозе печени, уремии, повышенное — при недостатке белка в питании, злокачественной анемии, лихорадке, интенсивном распаде белков в организме, после приема салицилатов, при отравлении фосфором.

Работа 2. *Количественное определение остаточного азота крови*

Азотсодержащие небелковые вещества составляют фракцию остаточного азота 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 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, 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 в кювете толщиной 5 мм.

Расчет. 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.

Ответ:

Клинико-диагностическое значение. Определение остаточного азота крови 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 в крови 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 в крови наблюдается при недостаточном питании и иногда при беременности.

Выводы:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 25. ХИМИЯ И ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ 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 азотсодержащих 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 гипоэнергетических 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. Подобрать 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. Подобрать 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 эталонами ответов.

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, мочевая 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).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 307–338.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 71–73, 77–91, 369–376, 390–394.
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 мочевой кислоты.
- Г. Субстрат фермента — гипоксантин — имеет меньшую растворимость, чем мочевая кислота.
- Д. Фермент обладает абсолютной специфичностью к субстрату.

Задание 2. При обследовании больного ревматизмом после массивной терапии кортикостероидами 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. Дополнить недостающими компонентами реакции синтеза пуриновых рибонуклеотидов.

- | | |
|-------------------------------------|----------|
| 1. ФРПФ + ? → 5 – фосфорибозиламин. | А. Глн. |
| 2. ИМФ + ГТФ + Асп → ? | Б. АМФ. |
| 3. Рибозо-5-фосфат + АТФ → ? + АМФ. | В. Глу. |
| 4. ИМФ + АТФ + ? → ГМФ. | Г. ФРПФ. |
| | Д. АТФ. |

Задание 4. Дополнить недостающими компонентами реакции синтеза пиримидиновых нуклеотидов.

- | | |
|--|----------|
| 1. Карбамоилфосфат + ? → карбамоиласпартат. | А. ФРПФ. |
| 2. Оротат + ? → ОМФ + Н ₄ Р ₂ О ₇ . | Б. Асп. |
| 3. ОМФ → СО ₂ + ? | В. АТФ. |
| 4. УМФ + ? → УДФ + ? | Г. АДФ. |
| 5. УДФ + ? → УТФ + ? | Д. УМФ. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. При терапии некоторых форм рака применяются ингибиторы дигидрофолат-редуктазы. Торможение каких реакций определяет цитостатическое действие препарата?

- А. Синтез пиримидиновых нуклеотидов.
- Б. Синтез пуринового ядра нуклеотидов.
- В. Синтез дезоксицитидиловых нуклеотидов.
- Г. Синтез цитидиловых нуклеотидов.
- Д. Синтез дУМФ.

Задание 2. Выберите утверждения, которые правильно характеризуют гистоны.

- А. Синтезируются в цитоплазме.
- Б. Образуют ядро нуклеосомы.
- В. Входят в состав хроматина.
- Г. Содержат много остатков аргинина и лизина.
- Д. Имеют высокий отрицательный заряд.

Задание 3. Женщине с лимфолейкозом назначен ингибитор тиоредоксинредуктазы. На чем основано цитостатическое действие препарата?

- А. Ингибируется синтез ИМФ.
- Б. Ингибируется синтез оротовой кислоты.
- В. Ингибируется синтез ЦМФ.
- Г. Ингибируется синтез дГДФ.
- Д. Ингибируется синтез УМФ.

Эталонные ответы к решению заданий

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).

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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 $K_2[Fe(CN)_6]$. 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 $K_3[Fe(CN)_6]$ до исчезновения синего окрашивания.

Расчет. 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 $K_3[Fe(CN)_6]$; a — количество $K_3[Fe(CN)_6]$, пошедшее на титрование, мл; v — суточный диурез, мл; 1,5 — объем пробы, мл.

Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/сут) равен 0,0059.

Ответ:

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:

ТЕМА 26. МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ (СИНТЕЗ ДНК, РНК, БЕЛКОВ)

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 наруше-

ний 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 моонуклеотидов;
 - 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 моонуклеотидами. | | 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.

	<p>А. Рибосомы.</p> <p>Б. Гладкая эндоплазматическая сеть.</p> <p>В. Шероховатая эндоплазматическая сеть.</p> <p>Г. Аппарат Гольджи.</p> <p>Д. Лизосомы.</p> <p>Е. Плазматическая мембрана.</p> <p>Ж. Цитоскелет.</p> <p>З. Ядро.</p> <p>И. Ядрышко.</p> <p>К. Митохондрия.</p>
--	---

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Вопросы для обсуждения

1. Репликация, биологическая роль, субстраты, ферменты, молекулярный механизм. Особенности синтеза ДНК у эукариот и прокариот.
2. Транскрипция, биологическая роль, молекулярный механизм, механизмы регуляции активности генов (схема Львова–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).

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Биологическая химия / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 344–373, 379–380, 387–418.
2. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 377–389, 399–422.
3. Конспект лекций.

Дополнительная

1. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. М. : Мир, 1993.
2. Нуклеопротеины : учеб. пособие / А. Д. Таганович [и др.]. Минск, 2000. 67 с.

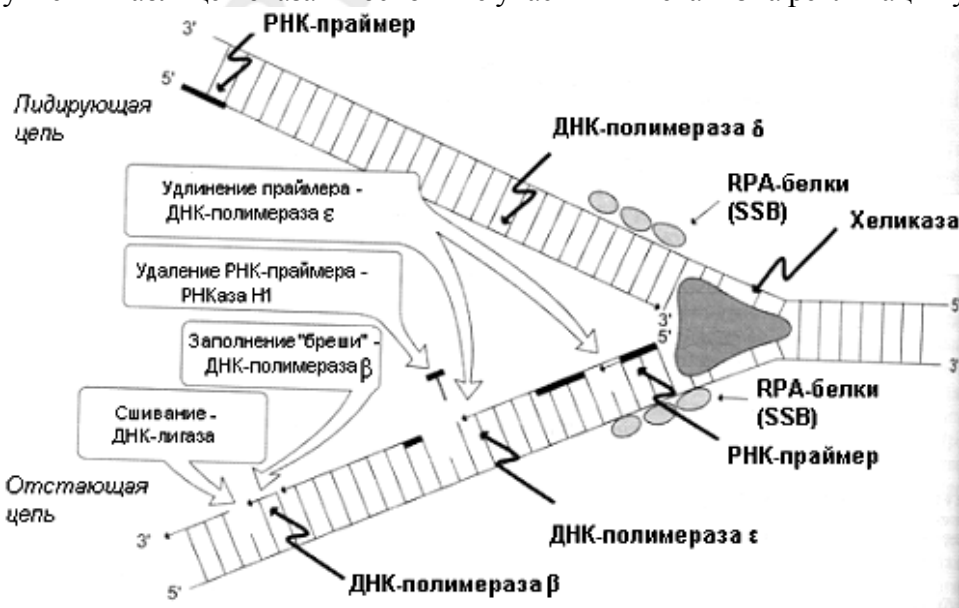
Задания для самостоятельной работы

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 и в таблице показаны основные участники механизма репликации у эукариот.



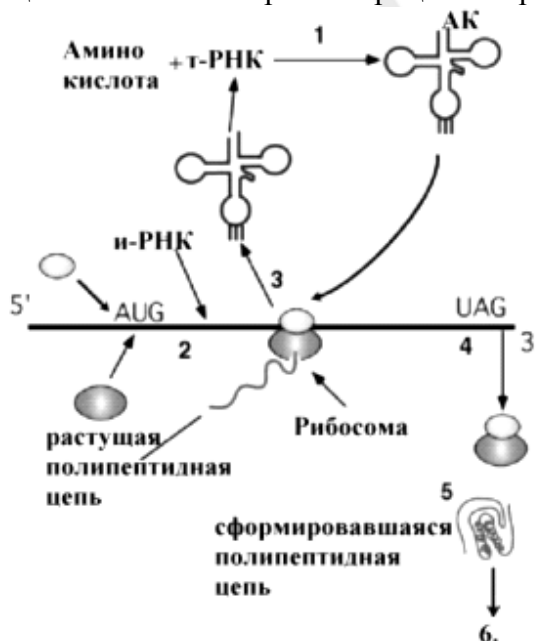
1.2. Напишите в общем виде суммарную реакцию, катализируемую ДНК-полимеразой I.

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	



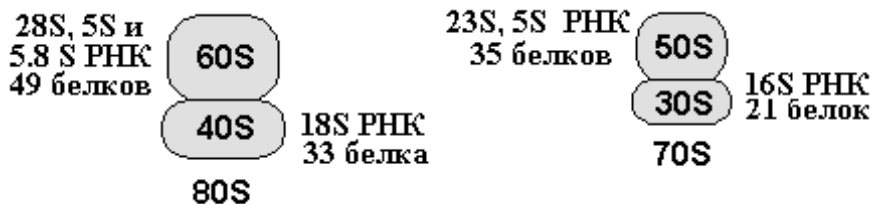
Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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. От того и другого.



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 отсутствии 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 Taq-полимеразы.

Г. «Отжиг» праймера.

Д. Электрофорез в геле и анализ амплифицированных фрагментов.

Эталоны ответов к решению заданий

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, 3). 3 – (А – 7; Б – 3; В – 10; Г – 4; Д – 9; Е – 6; Ж – 11; 3 – 2; И – 1; К – 5).

Для самостоятельной работы:

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

Подпись преподавателя:

ТЕМА 27. ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К КОЛЛОКВИУМУ ПО ТЕМАМ «ОБМЕН ПРОСТЫХ БЕЛКОВ И НУКЛЕОПРОТЕИНОВ», «БИОСИНТЕЗ ДНК, РНК И БЕЛКА»

1. Азотистый баланс, его состояние в норме и при патологии. Что характеризует коэффициент изнашивания?
2. Биологическая ценность белков. Нормы белка в питании.
3. Гидролиз белков (протеолиз). Роль ограниченного протеолиза в организме.
4. Переваривание белков. Кислотность желудочного сока: принцип определения, содержание в норме.

5. Аминокислотный фонд клетки, его пополнение и использование.
6. Переаминирование. Роль витамина В₆. Уметь писать реакции переаминирования с участием аланиновой и аспарагиновой трансминаз. Знать их диагностическое значение.
7. Виды дезаминирования. Глутаматдегидрогеназная реакция: химизм, коферменты, значение. Непрямое дезаминирование.
8. Пути превращения безазотистого остатка аминокислот. Глюкогенные и кетогенные аминокислоты.
9. Пути обезвреживания аммиака. Уметь написать реакции синтеза аспарагина, глутамина, восстановительного аминирования α -кетоглутарата, схему синтеза мочевины. Остаточный азот. Значение определения мочевины и остаточного азота в клинике.
10. Реакции декарбоксилирования аминокислот, биогенные амины. Уметь писать реакции синтеза триптамина, серотонина, гистамина, γ -аминомасляной кислоты, знать их роль в организме.
11. Катехоламины и их биологическая роль.
12. Нуклеотиды: строение и функции. Знать номенклатуру и уметь писать формулы азотистых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов; изображать образование 3'-5'-фосфодиэфирной связи между нуклеотидами.
13. Особенности строения ДНК и РНК на уровне первичной, вторичной и третичной структуры (строение нуклеосом).
14. Переваривание нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте.
15. Пути реутилизации азотистых оснований и нуклеозидов в клетке.
16. Конечные продукты распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Реакции образования мочевой кислоты. Гиперурикемия: причины и последствия.
17. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов de novo: субстраты, ключевые ферменты, основные промежуточные продукты. Регуляция синтеза. Роль витаминов.
18. Применение в медицине синтетических структурных аналогов нуклеозидов и фолиевой кислоты.
19. Образование дезоксирибонуклеотидов для синтеза ДНК (схема).
20. Репликация. Субстраты, ферменты, механизм. Особенности у эукариот.
21. Транскрипция. Ферменты, субстраты, механизм, особенности у эукариот, регуляция.
22. Генетический код и его характеристика.
23. 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).
24. Виды посттрансляционной модификации белков.
25. Современные методы молекулярной биологии и их применение в медицинской практике (ПЦР, генная инженерия в стоматологии).

ТЕМА 28. ГОРМОНЫ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ГОРМОНЫ

Актуальность темы

Гормоны — класс регуляторных химических соединений, синтезируемых железами внутренней секреции и/или специальными клетками. Значение гормональной продукции заключается в том, что секретируемые гормоны осуществляют регуляцию метаболизма отдельных органов и тканей, определяют состояние физиологических процессов и жизнедеятельности организма в целом. Нарушение синтеза, секреции, транспорта и рецепции гормонов клетками лежит в основе многообразных эндокринных расстройств. В связи с этим по-

нимание механизма эндокринных нарушений чрезвычайно важно для диагностики и целенаправленной терапии эндокринных заболеваний.

Цель занятия

Научиться применять знание классификации гормонов, типов гормональных рецепторов, G-белков и последующего каскада внутриклеточных передатчиков для понимания особенностей механизма действия гормонов на клетки. Уметь применять знания о механизме действия индивидуальных гормонов для объяснения расстройств метаболизма при нарушении образования или гиперпродукции гормонов в организме.

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-система;
 - типы гормональной секреции: эндокринная, нейроэндокринная, пара- и аутокринная;
- *биоорганической химии:*
 - строение и свойства белков и пептидов;
 - холестерол и стероиды — строение и свойства.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Подобрать 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. Выбрать правильный ответ.

Эндокринная секреция — вид секреции, при которой:

- 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, синтезируемый нервными клетками.
- Г. Гормон, синтезируемый клеткой, выделяется в кровь и действует на отдаленные от места синтеза клетки.

Задание 3. Какие гормоны секретируются эпифизом?

- | | | |
|---------------|---------------|------------------------------------|
| А. Окситоцин. | Б. Либерины. | В. Статины. |
| Г. Серотонин. | Д. Мелатонин. | Е. Меланоцитостимулирующий гормон. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Вопросы для обсуждения

1. Номенклатура и классификация гормонов по месту синтеза, химической структуре.
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), рецепторы цитоплазматической мембраны (лиганд-зависимые и потенциал-зависимые каналообразующие рецепторы, строение 1-TMS и 7-TMS-рецепторов).

5. Механизм действия гормонов стероидной, аминокислотной и белково-пептидной природы.

6. Классификация G-белков и механизм их функционирования. Патология этих белков.

7. Понятие о вторичных посредниках действия гормонов (циклические нуклеотиды, инозитолтрифосфат, диацилглицерол, Ca^{2+}). Оксид азота.

8. Растворимая и мембраносвязанная гуанилатциклазы.

9. Аденилатциклаза и фосфолипаза C, их роль в клетке.

10. Роль протеинкиназ в клетке.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 427–454.

2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 170–174.

3. *Биохимия.* Ключевые пути метаболизма. Минск : БГМУ, 2002. С. 178–191.

4. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Строев, Е. А.* Биологическая химия / Е. А. Строев. М. : Высшая школа, 1986. С. 370–412.

2. *Маршалл, В.* Клиническая биохимия / В. Маршалл. СПб., 2002. 380 с.

3. *Руководство по клинической эндокринологии* / под ред. Н. Т. Старковой. СПб., 1996. С. 7–10, 201–279, 296–376.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1.

1.1. Вспомните, какие гормоны связываются с внутриклеточными рецепторами, а какие — с рецепторами, встроенными в цитоплазматическую мембрану. Обратите внимание, что при патологии рецепторов ткани-мишени теряется чувствительность к гормону (гормон не вызовет соответствующего метаболического ответа).

1.2. 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 гипоинсулинемия.

Г. Опухоль базофильных клеток гипофиза.

Д. Опухоль мозгового слоя надпочечников.

1.3. У лабораторных животных, подвергшихся действию мутагенного вещества, обнаружили в тканях измененную аденилатциклазу. К какому гормону будут нечувствительны органы-мишени у этих животных?

А. Эстрадиолу.

Б. Тироксину.

В. Глюкагону.

Г. Прогестерону.

Д. Альдостерону.

Задание 2.

2.1. Вспомните химическую природу гормонов.

2.2. Студенту предложили смоделировать биосинтез адреналина, используя в качестве источника ферментов гомогенат мозгового слоя надпочечников, а в качестве субстрата — одно из ниженазванных веществ. Какую(ие) аминокислоту(ы) нужно добавить к гомогенату?

А. Метионин. Б. Фенилаланин. В. Тирозин. Г. Лизин. Д. Аргинин.

2.3. 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.

2.4. Какой из нижеперечисленных гормонов не является гликопротеином?

- А. Соматотропин. Б. Тиреотропин. В. Лютеинизирующий гормон.
Г. Фолликулостимулирующий гормон.

Задание 3.

3.1. Вторичными посредниками действия гормонов на клетку являются циклические нуклеотиды, инозитолтрифосфат (ИТФ), Ca^{2+} , оксид азота, диацилглицерол. Запомните, что цАМФ по своему влиянию на метаболизм клетки является антагонистом цГМФ.

3.2. Больному в течение недели вводили препарат теofilлин — ингибитор фосфодиэстеразы цАМФ. Активность какого гормона может усиливаться на фоне такого лечения?

- А. Адреналин. Б. Дезоксикортикостерон. В. Альдостерон.
Г. Кортизол. Д. Эстрадиол.

3.3. У больного диагностирована опухоль мозгового слоя надпочечников — феохромоцитома. Какой посредник гормонального сигнала активно участвует в действии на ферменты при этом заболевании?

- А. цАМФ. Б. Простагландины. В. цГМФ.
Г. Ca^{2+} -кальмодулин. Д. цГМФ.

3.4. 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.
Б. цАМФ.
В. Простагландины.
Г. цГМФ.
Д. Ингибиторы кальциевых каналов.

3.5. Какое из названных соединений не является вторичным посредником в действии гормонов?

- А. Диацилглицерол. Б. цАМФ. В. цГМФ. Г. Ca^{2+} . Д. ГМФ.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Внутрядерные рецепторы обнаружены у:

- А. Адреналина. Б. Трийодтиронина. В. Мелатонина.
Г. Гормона роста. Д. Серотонина.

Задание 2. При обследовании представителей африканского племени пигмеев обнаружили нарушение синтеза в печени белка соматомедина С. В реализации биологического действия какого гормона участвует этот белок?

- А. Соматотропина. Б. Пролактина. В. Соматолиберина.
Г. Соматостатина. Д. Лютропина.

Задание 3. Фосфолипаза, расщепляющая фосфатидинозитол на диацилглицерол и ИТФ, это:

- А. Фосфолипаза A_1 . Б. Фосфолипаза A_2 .
В. Фосфолипаза С. Г. Фосфолипаза Д.

Задание 4. Какой из нижеперечисленных гормонов не является стероидом?

- А. Кортизол. Б. Альдостерон. В. Прогестерон.

Г. Лактогенный гормон. Д. Дигидроксихолекальциферол.

Задание 5. Какой из нижеперечисленных гормонов не является пептидом?

А. Окситоцин. Б. Трийодтиронин. В. Глюкагон.

Г. Вазопрессин. Д. Тиреолиберин.

Задание 6. G_s -белки стимулируют активность аденилатциклазы. Однако с течением времени этот эффект исчезает. Это 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 7. Фосфорилироваться в рецепторах гормонов могут аминокислоты, содержащие ОН-группы. Назовите киназу, которой не существует:

А. Тирозинкиназа. Б. Рецептор инсулина.

В. Серин-треонинкиназа. Г. Тир/сер/тре-киназа.

Д. Рецептор соматотропина. Е. Тир/вал-киназа.

Задание 8. Назовите вторичный посредник для действия окситоцина.

А. Ca^{2+} . Б. цАМФ. В. цГМФ.

Г. Диацилглицерол. Д. Оксид азота. Е. ИТФ.

Эталоны ответов к решению заданий

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:

1.2 – А; 1.3 – В. 2.2 – Б, В; 2.3 – Д; 2.4 – А. 3.2 – А; 3.3 – А; 3.4 – А, Г; 3.5 – Д.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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%-ного раствора крахмала, 1 каплю фенолфталеина, а затем 4 капли йодата калия и приблизительно 10–15 капель 10%-ного раствора серной кислоты до обесцвечивания и появления синего окрашивания.

Гормоны поджелудочной железы

В поджелудочной железе вырабатывается ряд гормонов: инсулин, глюкагон и липокаин. Инсулин вырабатывается в β -клетках островков Лангерганса (от лат. insula — остров),

откуда и получил свое название. Инсулин — белок, состоящий из двух полипептидных цепей, соединенных друг с другом дисульфидными связями.

Первичная структура инсулина полностью расшифрована и осуществлен химический синтез инсулина. Органы мишени для инсулина: печень, мышечная ткань, жировая ткань. Действие инсулина многообразно. Инсулин играет важную роль в метаболизме углеводов. Он снижает содержание глюкозы в крови, увеличивает биосинтез гликогена в печени и мышцах, усиливает липогенез, т. е. образование жиров из углеводов, стимулирует синтез белков. Инсулин является антагонистом адреналина в регуляции синтеза и мобилизации гликогена.

Работа 2. *Цветные реакции на инсулин*

Инсулин дает характерные реакции на белок: биуретовую, Фоля, Миллона и др.

Биуретовая реакция

Ход работы. К 5 каплям 1%-ного раствора инсулина прибавляют 5 капель 10%-ного раствора едкого натра, 2 капли 1%-ного раствора сульфата меди и все перемешивают; содержимое пробирки приобретает фиолетовое окрашивание.

Нингидриновая реакция

Ход работы. К 5 каплям 1%-ного раствора инсулина добавляют 5 капель 0,5 % водного раствора нингидрина и кипятят 1–2 мин. В пробирке появляется розово-фиолетовое окрашивание, а с течением времени раствор синее.

Ксантопротеиновая реакция (Мульдера)

Ход работы. В пробирку наливают 5 капель 1%-ного раствора инсулина, затем добавляют 3 капли концентрированной азотной кислоты и осторожно кипятят. В пробирке появляется осадок желтого цвета.

Реакция на тирозин (Миллона)

Ход работы. В пробирку наливают 5 капель 1%-ного раствора инсулина, добавляют 3 капли реактива Миллона и осторожно нагревают. В пробирке появляется осадок темно-красного цвета.

Реакция на аминокислоты, содержащие слабосвязанную серу (Фоля)

Ход работы. В пробирку наливают 5 капель 1%-ного раствора инсулина и добавляют 5 капель реактива Фоля, интенсивно кипятят и дают постоять 1–2 мин. При этом появляется черный или бурый осадок сульфида свинца.

Гормоны мозгового слоя надпочечников

В мозговом слое надпочечников из аминокислоты тирозина синтезируются катехоламины, имеющие пирокатехиновое ядро и аминокгруппу.

Работа 3. *Качественные реакции на адреналин*

Реакция с хлорным железом

Принцип метода. Адреналин обладает слабощелочной реакцией, легко окисляется на воздухе с образованием адrenoхрома, вследствие чего раствор окрашивается в красный цвет. При взаимодействии с нитритом наблюдается желто-оранжевое окрашивание, с диазореактивом — красное и с хлорным железом — зеленое. Реакция с хлорным железом характерна для пирокатехинового кольца, входящего в молекулу адреналина и норадреналина.

Ход работы. В пробирку наливают 10 капель раствора адреналина и добавляют 1 каплю хлорного железа. Появляется зеленое окрашивание вследствие присутствия пирокатехина в молекуле адреналина. Добавляют 3 капли 10%-ного раствора едкого натра и наблюдают изменение окрашивания в вишнево-красное.

Диазореакция

Принцип метода. При взаимодействия диазореактива с адреналином жидкость окрашивается в красный цвет вследствие образования сложного соединения типа азокрасителя.

Ход работы. К 6 каплям 0,5%-ного раствора сульфаниловой кислоты прибавляют 6 капель 0,5%-ного раствора нитрита натрия (смесь диазореактива), 10 капель раствора адреналина и 3 капли 10%-ного раствора едкого натра. Жидкость окрашивается в красный цвет.

Работа 4. *Флюоресценция продуктов окисления адреналина*

Принцип метода. Адреналин, окисляясь кислородом воздуха, при добавлении щелочи дает флюоресцирующие продукты.

Ход работы. К 10 каплям воды приливают 6 капель 10%-ного раствора едкого натра и 6 капель раствора адреналина. Поместив пробирку перед включенным флюороскопом, наблюдают зеленую флюоресценцию продуктов окисления адреналина.

Гормоны половых желез

Половые гормоны синтезируются в семенниках, яичниках, плаценте и надпочечниках.

Женские половые гормоны — эстрогены — можно рассматривать как производные эстрана (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 5. *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.

Выводы:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 29. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ.

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ И ВИТАМИНОПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА

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 столь распространенном 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 продуктах питания.

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, метаболиты и биорегуляторы;
- *биологической химии:*
 - коферменты и их роль в процессах метаболизма;
 - коферментные формы водорастворимых витаминов и их участие в метаболизме;
 - пути катаболизма белков, жиров, углеводов в клетках.

Для самопроверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

Задание 1. Какое из нижеследующих выражений относительно панкреатических ферментов правильное?

- А. Все они секретируются в виде неактивных проферментов.
- Б. Все они секретируются ацинарными клетками.
- 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. Какое из нижеследующих выражений правильное?

- А. Действие адреналина и глюкагона направлено на увеличение уровня гликогенфосфоорилазы.
- Б. Интенсивность расщепления гликогена натошак равна интенсивности его синтеза.
- В. Дефосфорилирование гликогенсинтетазы 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 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. HS-КоА. | 3. Производное тиамин. |
| Г. ФАД. | 4. Производное никотиновой кислоты. |
| Д. ПФ. | 5. Производное пантотеновой кислоты. |

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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). Химическая природа, коферментные формы, биологическая роль. Признаки гиповитаминоза, суточная потребность, пищевые источники.

3. Витаминоподобные вещества: биофлавоноиды (витамин Р), парааминобензойная кислота, инозитол, пангамовая кислота, липоевая кислота, холин, витамин U. Строение и свойства, биологическая роль.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бинот, Асар, 2008. С. 87–131, 515–549.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 147–164, 449–452, 473–486.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Биохимия человека* / Р. Мари [и др.]. М. : Мир, 1993.
2. *Морозкина, Т. С.* Витамины : краткое руководство для врачей и студентов медицинских, фармакологических и биологических специальностей / Т. С. Морозкина, А. Г. Мойсеенко. 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 коферментные формы. 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 эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Данные врачебного осмотра пожилой женщины 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. Трансметилование аминокислот.
- Д. Окислительное дезаминирование аминокислот.

Задание 2. У больного после перенесенного инфаркта в течение двух суток значительно увеличилась активность аспаратаминотрансферазы в крови. Указать 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. Указать кофермент данного витамина, назвать тип реакций, в которых он участвует. Изобразить схематически строение коферментной формы пантотеновой кислоты.

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 растворимые волокна в составе принимаемой пищи помогают снизить уровень холестерина в крови? Выберите правильный ответ.

- А. Они денатурируют холестерол в желудке.
- Б. Они гидролизуют холестерол в кишечнике.
- В. Они задерживают холестерол в кишечнике и таким образом замедляют его всасывание.
- Г. Они усиливают экскрецию желчи, ускоряя обмен холестерола.

Эталоны ответов к решению заданий

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 коферментные формы – ТМФ, ТДФ (ТПФ), ТТФ.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Инструкция к практическому занятию

Для обнаружения витаминов и определения их количества в различных веществах и биологических жидкостях существуют реакции, основанные на цветных реакциях, характерных для той или иной группировки, входящей в витамин.

Работа 1. **Качественные реакции на витамин В₁**

Витамин В₁ состоит из пиримидинового и тиазолового колец. Витамин В₁ получил название тиамин поскольку содержит серу и азот.

1. Реакция окисления

Принцип метода. В щелочной среде тиамин окисляется в тиохром феррицианидом калия. Тиохром обладает синей флюоресценцией при ультрафиолетовом облучении раствора на флюороскопе.

Ход работы. К 1 капле 5%-ного раствора тиамин прибавляют 5–10 капель 10%-ного раствора едкого натра, 1–2 капли 5%-ного раствора феррицианида калия и взбалтывают

смесь. После прогрева флюороскопа наблюдают синюю флюоресценцию при облучении раствора ультрафиолетовыми лучами.

2. Диазореакция

Принцип метода. В щелочной среде тиамин с диазореактивом образует сложное комплексное соединение оранжевого цвета.

Ход работы. К диазореактиву, содержащему 5 капель 1%-ного раствора сульфаниловой кислоты и 5 капель 5%-ного раствора нитрита натрия, добавляют 1–2 капли 5%-ного раствора тиамина и затем по стенке, наклонив пробирку, осторожно добавляют 5–7 капель 10%-ного раствора бикарбоната натрия. На границе двух жидкостей появляется кольцо оранжевого цвета.

Работа 2. Качественная реакция на витамин В₂

Принцип метода. Окисленная форма витамина В₂ представляет собой желтое флюоресцирующее в ультрафиолетовых лучах вещество. Реакция на витамин В₂ основана на его способности легко восстанавливаться. При этом раствор витамина В₂, обладающий желтой окраской, приобретает сначала розовый цвет за счет образования промежуточных соединений, а затем обесцвечивается, т. к. восстановленная форма витамина В₂ бесцветна.

Ход работы. В пробирку наливают 10 капель раствора витамина В₂, добавляют 5 капель концентрированной хлористоводородной кислоты и опускают зернышко металлического цинка. Начинается выделение пузырьков водорода, жидкость постепенно розовеет, затем обесцвечивается. Сравнивают обе формы витамина В₂ по флюоресценции.

Работа 3. Качественная реакция на витамин РР

Принцип метода. Витамин РР при нагревании с раствором ацетата меди образует плохо растворимый синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

Ход работы. Наливают в пробирку 20 капель 3%-ного раствора витамина РР (перед определением раствор обязательно следует взболтать) и нагревают до кипения; при этом мутный раствор становится прозрачным. Взболтав 5%-ный раствор ацетата меди, приливают 20 капель его к нагретому раствору витамина РР. Содержимое пробирки доводят до кипения и сразу охлаждают под струей холодной воды. На дне пробирки выпадает синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

Работа 4. Качественная реакция на витамин В₆

Принцип метода. Витамин В₆ при взаимодействии с раствором хлорного железа образует комплексную соль типа фенолята железа красного цвета.

Ход работы. К 5 каплям 1%-ного раствора витамина В₆ приливают равное количество 1%-ного раствора хлорного железа и перемешивают. Развивается красное окрашивание.

Работа 5. Качественная реакция на витамин В₁₂

В₁₂ — единственный витамин, содержащий в своей структуре металл (кобальт).

Принцип метода. При взаимодействии ионов кобальта с тиомочевинной при нагревании образуется роданид кобальта зеленого цвета.

Ход работы. На бумажный фильтр наносят 2–3 капли раствора тиомочевинной и высушивают над пламенем спиртовки. После этого наносят на фильтр 1–2 капли минерализата (В₁₂) и снова нагревают фильтр над спиртовкой. На фильтре, чаще по краю, появляется зеленое окрашивание, свидетельствующее о наличии кобальта.

Результаты опытов записывают в таблицу:

№	Название опыта	Наблюдаемые изменения	Выводы
---	----------------	-----------------------	--------

--	--	--	--

Работа 6. Количественное определение витамина С

Принцип метода. Метод основан на способности витамина С восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол, который в кислой среде имеет красную окраску, а при восстановлении обесцвечивается; в щелочной среде окраска синяя. Для предохранения витамина С от разрушения исследуемый раствор титруют в кислой среде щелочным раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолом до появления розового окрашивания.

Определение содержания витамина С в картофеле

Ход работы. Отвешивают 1 г картофеля и растирают его в ступке с 2 мл 10%-ного раствора соляной кислоты (чтобы картофель не темнел), постепенно приливая 8 мл дистиллированной воды. Полученный гомогенат фильтруют через марлю в стаканчик, и фильтрат титруют 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до розовой окраски, сохраняющейся в течение 30 с.

Для расчета содержания аскорбиновой кислоты в таких продуктах, как капуста, картофель, хвоя, шиповник и др., используют формулу:

$$X = (0,088 \cdot A \cdot 100) / B,$$

где x — содержание аскорбиновой кислоты в миллиграммах на 100 г продукта; 0,088 — количество аскорбиновой кислоты, мг, соответствующее 1 мл 2,6-дихлорфенолиндофенола; A — результат титрования 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола, мл; B — количество продукта, взятое для анализа, г; 100 — пересчет на 100 г продукта.

В 100 г картофеля обычно содержится 1–5 мг витамина С.

Ответ:

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).

Ответ:

Выводы:

Подпись преподавателя:

ТЕМА 30. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА. РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНОГО БАЛАНСА

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.

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 о природе, путях поступления в организм и влияния на обменные процессы жирорастворимых витаминов, 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 человека:*
 - распределение воды в организме. Аквапорины;
 - состав интерстициальной (межклеточной) и клеточной жидкостей организма;
 - механизм действия Na^+/K^+ - АТФазы;
- *общей химии:*
 - понятия «осмотическое давление», «осмоляльность», «гипотоническое и гипертоническое изменение объёма», «рН», «буферные системы»;
- *биоорганической химии:*
 - альбумины, глобулины;

Для проверки исходного уровня знаний выполните следующие задания:

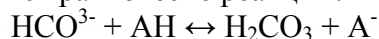
Задание 1. В обычных условиях неизбежная суточная потеря воды взрослым человеком составляет около 2500 мл. Сколько воды теряется:

- а) с выдыхаемым воздухом; б) с мочой; в) через кожу в виде пота?

Задание 2. Что произойдет при помещении эритроцитов в гипотоническую среду?

- А. Они не изменятся.
Б. Наступит их сморщивание.
В. Произойдет гемолиз.

Задание 3. Кетоновые тела (АН) являются более сильными кислотами, чем угольная кислота. В какую сторону сместится равновесие реакции?



Задание 4. У больного появились отёки. Каковы возможные причины?

- А. Нарушение белоксинтезирующей функции печени.
- Б. Сгущение крови.
- В. Протеинурия.
- Г. Недостаток вазопрессина.

Вопросы для обсуждения

1. Токоферол. Химическая природа, участие в метаболизме, признаки гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники витамина Е.
2. Ретинол. Химическая природа, участие в метаболизме, признаки гипо- и гипervитаминоза, суточная потребность, основные источники витамина А.
3. Витамин D. Химическая природа, всасывание, биологическая роль, явления гипо- и гипervитаминоза, суточная потребность, основные источники.
4. Витамин К. Химическая природа, биологическая роль, явления гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники. Синтетические производные. Антивитамины.
5. Роль воды в организме. Механизмы поддержания постоянства водных пространств.
6. Натрий, калий, кальций, фосфор. Роль в метаболизме, гормональная регуляция их обмена.
7. Роль железа в организме (всасывание, транспорт, внутриклеточный обмен). Железодефицитные состояния и железодефицитные анемии.
8. Роль меди, цинка, селена, йода и фтора в метаболизме тканей.
9. Механизм действия гормонов, регулирующих водно-минеральный обмен (вазопрессина, натрий-уретического гормона, альдостерона).
10. Ренин-ангиотензиновая система и её роль в регуляции водно-солевого обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 112–130, 515–548.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 138–147.
3. *Конспект лекций.*

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Запомните физиологические концентрации основных катионов.

Катионы	Плазма	Эритроциты
Калий	3,4–5,6 ммоль/л	80–113 ммоль/л
Натрий: взрослые	135–150 ммоль/л	13,5–22 ммоль/л
дети	130–145 ммоль/л	

Содержание общего кальция в сыворотке крови — 2,0–2,8 ммоль/л, ионизированного кальция в сыворотке — 1,1–1,4 ммоль/л.

Задание 2. Все минеральные вещества в зависимости от их концентрации в организме подразделяются на макро- и микроэлементы. Минеральные вещества, содержание которых превышает 50 мг/кг массы тела, относятся к макроэлементам. Перечислите эти элементы.

Задание 3. В состав каких хромопротеинов входит железо?

- А. Цитохрома P₄₅₀.
- Б. I и II комплексов дыхательной цепи.
- В. III и IV комплексов дыхательной цепи.

Г. Церулоплазмина.

Д. Миоглобина.

Задание 4. Муковисцидоз — наследственное заболевание, характеризующееся поражением желез внешней секреции. Клинически проявляется сгущением слизи в выводных протоках (главным образом, поджелудочной железы и бронхов). Этиология болезни — генетический дефект CFTR (перевод: кистозно-фиброзный транспортёр-регулятор), т. е. хлорного канала. Предложите способ лечения этого заболевания (на основании материала лекции).

Задание 5. 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 6. Усвоить, что в случае снижения объёма крови включаются два механизма: 1) раздражаются барорецепторы а. сагитис и рецепторы предсердия, что приводит к высвобождению натрий-уретического гормона (он стимулирует секрецию эпифизом адреногломерулотропина); 2) раздражаются рецепторы юкстагломерулярного аппарата почек, что сопровождается выбросом в кровоток ренина.

Используя приведенную схему, рассмотрите основные эффекты гормонов и ренина.



Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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. Объяснить, почему и недостаток, и избыточное поступление витамина Д 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 паратирина.
- В. Вследствие снижения содержания Ca^{++} в плазме крови.
- Г. Вследствие увеличения содержания Ca^{++} в плазме крови.

Задание 5. Отёк головного мозга — опасное осложнение травм черепа. Он может также развиваться при неправильной тактике лечения кровопотери (из-за избытка введенной в организм жидкости). Нарушение функции каких классов аквапоринов при этом отмечается?

- А. Аквапоринов АQ P₁ и АQ P₄.
- Б. Акваглицеропоринов.
- В. Аквапоринов АQ P₂.

Эталоны ответов к решению заданий

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. Генная инженерия. 5. А, В.

ТЕМА 31. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ, ОРГАНОВ ПОЛОСТИ РТА, 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. Б. Тромбоспондин. В. Ламинин. Г. Декорин.
 Д. Остеонектин. Е. Эластин. Ж. Бигликан. З. Остеокальцин.

Задание 3. Какой из апатитов самый устойчивый к действию кислот?

- А. Гидроксиапатит. Б. Карбонатный апатит. В. Фторапатит.
 Г. Хлорапатит. Д. Стронциевый апатит.

Задание 4. Секрет каких слюнных желез в основном мукозный?

- А. Околоушных. Б. Подъязычных. В. Язычных.
 Г. Подчелюстных. Д. Щечных.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

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.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]. М., Минск : Бином, Асар, 2008. С. 625–636.
2. *Березов, Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 518–532.
3. *Конспект лекций.*

Дополнительная

1. *Биохимия человека* / Р. Мари [и др.]. М. : Мир, 1993.
2. *Олецкий, Э. И.* 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.
2. Протеогликаны.
3. Амелогенины.
4. Кристаллы апатита (1600×400 ангстрем).
5. Кристаллы апатита (640×40 ангстрем).
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 правильный ответ. Какие функции не присущи лизоциму?

- А. Гидролизует гликозидную связь в гетерополисахаридах микробной оболочки.
- Б. Вызывает агрегацию бактерий.
- В. Ингибирует бактериальные протеазы.
- Г. Активирует бактериальные аутолизины.
- Д. Образует гипохлорид-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> | Б. <i>Str. salivarius.</i> | В. <i>Str. aureus.</i> |
| Г. <i>Str. sanguis.</i> | Д. Лактобактерии. | |

Задание 6. Вспомните, что существует системная (эндогенная) и местная (экзогенная) фтор-профилактика. Приведите примеры из каждого вида.

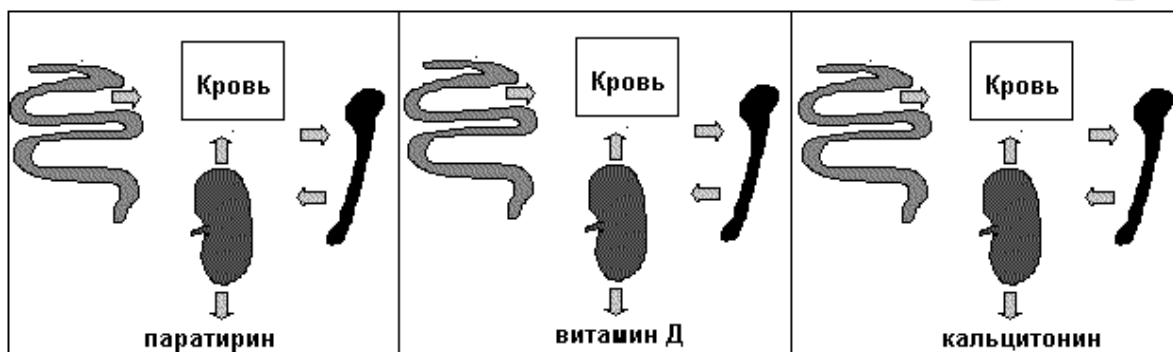
Задание 7. Выберите правильный ответ. Концентрация фтора в зубной пасте для взрослых составляет (ppm):

А. 800. Б. 2000. В. 1000. Г. 1500. Д. 1200.

Правильность решений проверьте, сопоставив их с эталонами ответов.

Проверьте Ваши знания (самоконтроль усвоения темы)

Задание 1. Как действуют паратирин, кальцитонин и витамин Д 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			

Эталоны ответов к решению заданий

Для самопроверки исходного уровня знаний:

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

Для самостоятельной работы:

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

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

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.

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 эфиросерных кислот освобождается серная кислота.

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.

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.

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 $CuSO_4$ (биуретовая реакция). Появление фиолетового окрашивания свидетельствует о наличии белка.

Работа 4. Количественное определение хлоридов в слюне по Левинсону

Биологическая роль хлорид-ионов — см. занятие № 16 (работа № 3).

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 0,1 н $NaOH$. Затем в 1-ю пробирку вносят 0,1 мл слюны, во 2-ю (контрольную) — 0,1 мл $H_2O_{дист.}$. 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 K_2CrO_4 . К фильтрату приливают 2 капли 2%-ного раствора K_2CrO_4 и титруют раствором $AgNO_3$ до изменения желтого цвета раствора в кирпично-красный.

Расчет. Из объема (мл) $AgNO_3$, пошедшего на титрование опытного раствора, вычитают объем (мл) $AgNO_3$, 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.

$$V_{\text{оп}} (\text{мл}) = ,$$

$$V_{\text{контр}} (\text{мл}) =$$

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

Содержание хлора (хлорид-ионов) в слюне в норме составляет 20–40 ммоль/л.

Работа 5. *Количественное определение содержания кальция в слюне*

Биологическая роль кальция — см. занятие № 17 (работа № 2).

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 сине-розовый 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 слюны и 2 капли индикатора хромогена черного. Раствор приобретает розово-фиолетовый цвет. Затем раствор титруют 0,002 М раствором трилона Б до сине-розовой окраски.

По объему трилона Б, пошедшего на титрование, рассчитывают содержание кальция в слюне.

Расчет:

$$X (\text{мг}\%) = \frac{0,002 \cdot 40,8 \cdot 100 \cdot V_T}{1},$$

где 0,002 — молярность раствора трилона Б; 40,8 — молекулярный вес Ca; 100 — коэффициент для пересчета в мг%; 1 — объем слюны, взятый для анализа; V_T — объем трилона Б, израсходованный на титрование.

Ответ: V_T (мл) = , X (мг %) = .

Коэффициент пересчета в единицу СИ (ммоль/л) — 0,245.

$$C (\text{ммоль/л}) = X \cdot 0,245 =$$

Содержание общего кальция в слюне в норме — 1,1–1,3 ммоль/л (4–5 мг %).

Выводы (сравнить с содержанием хлорид-ионов и кальция в плазме крови):

Подпись преподавателя:

**ТЕМА 32. ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К КОЛЛОКВИУМУ
ПО ТЕМАМ «ГОРМОНЫ», «БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ»,
«БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ,
ОРГАНОВ ПОЛОСТИ РТА, РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ»**

1. Гормоны. Химическая природа, классификация. Свойства гормонов. Особенности биологического действия.
2. Рецепторы к гормонам, классификация, строение мембранных рецепторов.
3. G-белки, их роль в механизме действия гормонов, связывающихся с мембранными рецепторами.
4. Эффекторные системы и вторичные посредники проведения гормонального сигнала в клетку. Механизмы образования вторичных посредников, роль протеинкиназ.
5. Гормоны — белки: простые и сложные. Место образования, пример молекулярного действия.
6. Гормоны — производные аминокислот, места образования, механизмы молекулярного действия.
7. Общие принципы синтеза гормонов белково-пептидной природы.
8. Общие принципы синтеза гормонов стероидной природы.
9. Гормоны гипоталамуса. Химическая природа, регуляция секреции. Механизм действия.
10. Гормоны задней доли гипофиза, химическая природа, механизм действия. Влияние на метаболизм.
11. Перечислить гормоны передней доли гипофиза. Гормон роста, механизм действия, влияние на метаболизм.
12. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы. Химическая природа, механизм действия, влияние на метаболизм.
13. Гормоны, регулирующие обмен кальция и фосфора в организме. Места синтеза, химическая природа, механизмы действия.
14. Глюкагон. Химическая природа, механизм действия, влияние на метаболизм углеводов и липидов.
15. Гормоны мозгового вещества надпочечников. Химическая природа, механизм действия. Влияние на метаболизм.
16. Гормоны коры надпочечников: глюко- и минералокортикоиды. Химическая природа, особенности строения рецепторов, механизм действия, влияние на метаболизм.
17. Половые гормоны, химическая природа, особенности строения рецепторов, механизм действия, метаболические эффекты.
18. Инсулин. Химическая природа, строение рецепторов, механизмы передачи гормонального сигнала. Влияние на метаболизм углеводов, липидов, белков. Сахарный диабет.
19. Витамины В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), пантотеновая кислота, РР (никотиновая кислота), В₆ (пиридоксин), В₉ (фолиевая кислота), В₁₂ (кобаламин), Н (биотин), С (аскорбиновая кислота). Химическая природа. 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).
20. Витаминоподобные вещества и их биологическая роль.
21. Метаболические процессы использования углеводов, жиров и белков в качестве источников энергии.
22. Метаболические процессы депонирования углеводов и липидов пищи.
23. 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.

24. Витамин А. Провитамины. Химическая природа, всасывание, биологическая роль, явления гипо- и гипервитаминоза, суточная потребность, основные источники.
25. Витамин Д. Химическая природа, всасывание, биологическая роль, явления гипо- и гипервитаминоза, суточная потребность, основные источники.
26. Витамин Е. Химическая природа, биологическая роль, явления гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники.
27. Витамин К. Химическая природа, биологическая роль, явления гиповитаминоза, суточная потребность, основные источники. Синтетические производные. Антивитамины.
28. Роль воды в организме. Нарушения водного баланса организма, причины. Механизмы поддержания постоянства водных пространств.
29. Макроэлементы (натрий, калий, кальций, фосфор). Роль в процессах жизнедеятельности, регуляция обмена.
30. Роль железа в организме. Всасывание и транспорт железа. Участие в метаболизме клетки.
31. Значение меди и селена в обмене веществ.
32. 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 гидроксипапатита.
33. 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.
34. Са²⁺-связывающие белки и их роль в организме.
35. 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.
36. Белки и ферменты ротовой жидкости и их роль.
37. Десневая жидкость и зубной ликвор, особенности химического состава. Значение для тканей полости рта.
38. Поверхностные образования на эмали. Происхождение, химический состав.
39. Фтор и его роль в процессах жизнедеятельности. Источники фтора и потребность в нем.
40. Влияние питания на состояние зубов. Роль углеводов, белков, витаминов и микроэлементов. Кариез. Причины, механизм развития, профилактика.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ К ЭКЗАМЕНУ (2010 г.)

ПЕРВЫЕ ВОПРОСЫ

1. Аминокислоты. Классификация, свойства, строение. Типы связей остатков аминокислот в молекуле белка. Аминокислоты как лекарственные препараты.
2. Физико-химические свойства белков: растворимость, ионизация, гидратация. Использование свойств белков для их выделения и разделения. Функции белков. Общие реакции на белки: цветные и осаднения. Использование этих реакций в медицинской практике.
3. Молекулярная масса белков и методы ее определения. Методы выделения индивидуальных белков.
4. Понятие о первичной, вторичной и надвторичной структурах белковой молекулы. Типы связей между остатками аминокислот, характерные для этих уровней пространственной структуры. Домены.

5. Третичная структура белковой молекулы. Типы связей, характерные для третичной структуры. Конформационные изменения при функционировании белков. Белок-лигандное взаимодействие. Денатурация белка. Факторы, вызывающие денатурацию. Использование явления денатурации в медицинской практике.
6. Четвертичная структура белков. Зависимость биологической активности белков от четвертичной структуры, кооперативные изменения конформации полипептидных цепей. Примеры функционирования белков с четвертичной структурой.
7. Принципы классификации белков. Простые белки, их распространение и роль. Строение простетических групп сложных белков. Значение сложных белков в организме.
8. Современные представления о химическом строении нуклеиновых кислот: ДНК и РНК, их распределение в клетке. Функции.
9. Особенности первичной и вторичной структуры ДНК и РНК. Взаимодействие нуклеиновых кислот с белками. Строение нуклеопротеинов. Особенности строения хромосом и рибосом.
10. Мононуклеотиды, их строение и роль в клетке. Нуклеозидтрифосфаты и их значение. Роль циклических пуриновых мононуклеотидов.
11. Роль ферментов в процессах жизнедеятельности. Единицы активности. Принципы номенклатуры и классификации ферментов.
12. Химическая природа ферментов. Общие свойства ферментов.
13. Коферменты. Классификация и роль.
14. Механизм действия ферментов и ферментативная кинетика.
15. Множественные формы ферментов, их классификация. Изоферменты, их молекулярные разновидности, значение в клетке.
16. Понятие об активном и аллостерическом центрах ферментов. Роль пространственной структурной организации в их формировании.
17. Способы регуляции активности ферментов. Аллостерическая регуляция активности. Другие виды регуляции активности.
18. Ингибиторы ферментов, классификация, характеристика.
19. Применение ферментов и их ингибиторов в медицинской практике.
20. Общая характеристика и классификация витаминов: гипер-, гипо- и авитаминозы. Анти-витамины. Методы оценки насыщенности организма витаминами.
21. Витамины группы А. Провитамины (каротины). Биологическая роль. Явления гипо- и гипервитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
22. Витамины группы Д. Биологическая роль. Явления гипо- и гипервитаминоза. Пищевые источники Суточная потребность.
23. Витамины группы Е. Биологическая роль. Явления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
24. Витамины группы К. Биологическая роль. Гиповитаминоз. Пищевые источники. Суточная потребность. Викасол.
25. Биотин. Участие в образовании коферментов, биологическая роль. Комплекс биотин-авидин. Явления недостаточности. Пищевые источники Суточная потребность.
26. Витамин В₁. Участие в построении коферментов. Роль в обмене веществ. Явление недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
27. Витамин В₂. Участие в образовании флавиновых коферментов. Биологическая роль. Пищевые источники. Суточная потребность.
28. Витамин В₆. Участие в образовании коферментов. Роль в обмене веществ. Явления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
29. Витамин В₁₂. Кобамидные коферменты. Участие в обмене веществ. Внутренний фактор. Явления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
30. Витамин С. Биологическое значение. Признаки гиповитаминоза Пищевые источники. Суточная потребность.

31. Пантотеновая кислота. Коферменты, содержащие пантотеновую кислоту. Биологическая роль. Пищевые источники. Суточная потребность
32. Витамин РР. Участие в образовании никотинамидных коферментов. Биологическое значение. Проявления гиповитаминоза. Пищевые источники. Суточная потребность.
33. Фолиевая кислота. Участие в образовании коферментов. Роль в обмене веществ. Основные проявления недостаточности. Пищевые источники. Суточная потребность.
34. Витаминоподобные вещества: биофлавоноиды (витамин Р), 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 флавинозависимые дегидрогеназы, убихинон (коэнзим Q), цитохромная система, их химическое строение и роль в окислительных процессах.
6. Окислительное фосфорилирование. Хемиосмотическая теория окислительного фосфорилирования. Причины гипозаэнергетических состояний. Ингибиторы ферментов дыхательной цепи и разобщители окислительного фосфорилирования, 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. Особенности утилизации углеводов бактериями полости рта. Синтез гликогена и внеклеточных полисахаридов (декстран, леван), их назначение. Обмен сахарозы у бактерий, связь с изменением рН ротовой жидкости и развитием кариеса.
10. Дихотомический распад углеводов как источник энергии для организма. Анаэробное и аэробное окисление глюкозы, этапы, конечные продукты. Энергетический выход.
11. Гликолиз. Этапы, реакции, ферменты, биологическая роль. Энергетический выход анаэробного гликолиза. Механизм образования АТФ в анаэробных условиях.
12. Судьба конечных продуктов гликолиза — пировиноградной и молочной кислот. Глюконеогенез. Ферменты, участвующие в глюконеогенезе. Регуляция глюконеогенеза.
13. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и других α -кетокислот, ферменты, коферменты, биологическое значение.
14. Центральная метаболическая цепь — лимоннокислый цикл Кребса. Схема, ферменты, локализация в клетке. Биологическое значение цикла Кребса. Связь с процессом окислительного фосфорилирования.
15. Пентозофосфатный путь распада глюкозы и его биологическая роль.
16. Глюкуроновый путь распада глюкозы. Биологическая роль. Пути метаболизма глюкуроновой кислоты.
17. Гуморальная регуляция содержания глюкозы в крови. Механизм регуляторного действия гормонов (инсулин, глюкагон, адреналин, глюкокортикоиды).
18. Механизмы образования углекислого газа и воды — конечных продуктов обмена веществ.
19. Липиды. Биологическая роль. Классификация липидов. Их основные свойства.

20. Характеристика жирнокислотного состава природных липидов. Классификация жирных кислот. Высоконепредельные жирные кислоты
21. Производные арахидоновой кислоты (простагландины, простациклины, тромбоксаны и лейкотриены) и их биологическая роль.
22. Триацилглицеролы. Химическое строение, свойства и биологическая роль.
23. Глицерофосфолипиды. Химическое строение, свойства и биологическая роль.
24. Холестерол, биосинтез и биологическая роль.
25. Нарушения обмена холестерина. Роль в развитии атеросклероза.
26. Переваривание жиров и фосфолипидов в пищеварительном тракте: эмульгирование, ферменты, продукты гидролиза, мицеллярное растворение. Роль желчных кислот.
27. Механизмы ресинтеза липидов в энтероцитах (моноацилглицерольный и глицерофосфатный). Формирование хиломикрон, их состав и структура.
28. Липопротеины сыворотки крови. Классификация, состав, место образования, взаимопревращения. Роль липопротеинлипазы крови. Лецитин: холестеролацилтрансфераза (ЛХАТ) и ее роль.
29. Депонирование и мобилизация жира в жировой ткани. Жиромобилизующая липаза.
30. Синтез липидов в печени. Липотропные факторы и их роль в организме.
31. Центральная роль ацетил-КоА в обмене веществ.
32. Окисление жирных кислот в организме, биологическая роль. β -Окисление в митохондриях и пероксисомах, окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов, судьба пропионовой кислоты.
33. Химизм β -окисления жирных кислот. Роль КоА-SH и АТФ. Локализация окисления в клетке. Связь с ферментами переноса электронов. Энергетический выход β -окисления.
34. Кетоновые тела. Механизмы образования, роль в организме. Кетоз при диабете и голодании. Значение определения кетоновых тел в моче.
35. Синтез жирных кислот. Связь с гликолизом, пентозофосфатным путем превращения глюкозы, циклом Кребса. Значение CO_2 , АТФ, НАДФН⁺, биотина. Полиферментный комплекс, синтезирующий жирные кислоты. Активаторы и ингибиторы синтеза жирных кислот.
36. 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. Гормоны задней доли гипофиза: окситоцин, вазопрессин. Их химическая природа, 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, норадреналин. Строение, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях, роль в организме.
13. Мужские половые гормоны, химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях. Влияние на обмен веществ.
14. Женские половые гормоны, химическая природа, рецепторы, механизм передачи сигнала в клетках-мишенях. Влияние на обмен веществ.
15. Азотистый баланс. Нормы белков в питании. Биологическая ценность белков.
16. Характеристика протеаз. Роль ограниченного протеолиза в жизнедеятельности клетки.
17. Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте. Качественный и количественный анализ желудочного сока. Роль соляной кислоты.
18. Аминокислотный фонд клетки. Источники пополнения. Пути использования аминокислотного фонда.
19. Переаминирование. Ферменты. Коферменты. Роль этого процесса для жизнедеятельности клетки. Диагностическое значение определения активности трансаминаз в сыворотке крови.
20. Пути дезаминирования аминокислот. Ферменты и коферменты окислительного дезаминирования. Биологическое значение глутаматдегидрогеназной реакции.
21. Пути превращения безазотистого остатка аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты.
22. Пути обезвреживания аммиака. Транспортные формы аммиака (глутамин, аспарагин), их образование.
23. Образование мочевины. Роль печени в мочевинообразовании. Значение исследования уровня мочевины и остаточного азота в клинической практике.
24. Декарбоксилирование аминокислот. Образование биогенных аминов и их роль в организме.
25. Конечные продукты распада пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов. Значение определения содержания мочевой кислоты в крови и моче в клинической практике.
26. Биосинтез пуриновых нуклеотидов. Исходные субстраты синтеза. Регуляция синтеза. Роль витаминов в механизмах синтеза.
27. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов. Исходные субстраты синтеза. Регуляция синтеза. Роль витаминов в синтезе пиримидиновых нуклеотидов.
28. Матричный механизм синтеза ДНК. Ферменты и субстраты синтеза. Особенности синтеза у эукариот.
29. Синтез РНК. Ферменты и субстраты синтеза. Особенности синтеза у эукариот.
30. Генетический код и его свойства.
31. Роль т-РНК в синтезе белка. Адапторная функция т-РНК. Рекогниция как этап реализации генетической информации. Специфичность АРСаз.
32. Современные представления о биосинтезе белка.
33. Постсинтетическая модификация белков. Виды, биологическое значение.
34. Регуляция биосинтеза белка в клетке.
35. Современные методы молекулярной биологии и их применение в медицинской практике (ПЦР, генная инженерия).
36. Химический состав мышечной ткани. Строение и роль сократительных белков.
37. Молекулярный механизм мышечного сокращения. Строение и роль сократительных белков. Источники энергии и механизмы энергообеспечения мышечного сокращения.
38. Роль печени в обменных процессах в организме. Антитоксическая функция печени.
39. Синтез и распад кровяных пигментов. Роль печени в образовании желчных пигментов. Метаболизм желчных пигментов.

40. Белки плазмы крови, классификация и их роль в организме.
41. Общие представления о регуляции кислотно-основного состояния (КОС). Буферные системы крови и их значение. Доказательство буферных свойств сыворотки крови.
42. Механизмы переноса углекислоты и кислорода кровью. Механизмы развития гипоксических состояний.
43. Свертывание крови. Факторы и механизмы свертывания. Значение ионов кальция и витамина К в процессах свертывания крови.
44. Фибринолиз. Роль фибринолиза в гемокоагуляции. Плазминовая система.
45. Антикоагулянтная система. Первичные и вторичные антикоагулянты.
46. Вода. Значение воды. Биологическая роль ионов натрия и калия. Механизмы регуляции водно-минерального обмена.
47. Микроэлементы. Их значение. Роль железа, меди, йода, селена.

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. Протеогликаны. Особенности строения. Роль в организме.
6. Мукопротеины. Особенности строения. Роль в организме.
7. Гликопротеины. Особенности строения. Роль в организме.
8. Неколлагеновые белки внеклеточного матрикса. Роль в организме.
9. Минеральный компонент костной ткани и твердых тканей зуба. Химический состав. Кристаллы гидроксиапатита.
10. Химический состав твердых тканей зуба (эмали, дентина, цемента).
11. Неколлагеновые белки тканей зуба и их роль в минерализации зубных тканей.
12. Химический состав костной ткани. Белки костной ткани и их роль в процессах минерализации.
13. Теории минерализации костной ткани и твердых тканей зуба. Факторы, влияющие на процессы минерализации.
14. Этапы изоморфного замещения элементов кристаллической решетки и его роль в образовании кристаллов апатита.
15. Ca^{2+} -связывающие белки и их роль в организме.
16. Кальций и его обмен в организме. Роль в процессах жизнедеятельности.
17. Фосфор и его обмен в организме. Роль в процессах жизнедеятельности.
18. Фтор и его роль в процессах жизнедеятельности. Источники фтора и потребность в нем.
19. Ротовая жидкость. Химический состав. Функции.
20. Значение слюны в процессах реминерализации эмали.
21. Белки и ферменты ротовой жидкости, их роль в ротовой полости.
22. Понятия «десневая жидкость» и «зубной ликвор». Особенности химического состава. Значение для тканей ротовой полости.
23. Влияние питания на состояние зубов. Роль углеводов, белков, витаминов и микроэлементов.
24. Поверхностные образования на эмали. Происхождение, химический состав.
25. Кариес. Причины, механизм развития, профилактика.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Тема 1. Введение в практикум. Введение в биохимию. Строение аминокислот и пептидов. Количественное определение содержания белка в биологических жидкостях	4
Тема 2. Строение и функции белков. Гидролиз простого белка	8
Тема 3. Пространственная структура белков. Физико-химические свойства белков. Механизмы осаждения белков	12
Тема 4. Методы разделения, выделения и очистки белков. Сложные белки	18
Тема 5. Белки соединительных тканей (<i>Семинар</i>)	22
Тема 6. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по теме «Химия белков»	25
Тема 7. Ферменты. Классификация, строение, свойства	25
Тема 8. Регуляция действия ферментов. Количественное определение активности ферментов	31
Тема 9. Введение в метаболизм. Центральный метаболический путь — лимоннокислый цикл Кребса	36
Тема 10. Биологическое окисление. Пути утилизации кислорода клетками. Окислительное фосфорилирование (<i>Семинар</i>)	41
Тема 11. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по темам «Ферменты», «Введение в метаболизм. Центральный метаболический путь», «Биологическое окисление. Окислительное фосфорилирование»	46
Тема 12. Переваривание углеводов. Гликогенез и гликогенолиз. Гликолиз	47
Тема 13. Пути метаболизма пирувата. Глюконеогенез. Аэробный распад глюкозы до конечных продуктов (CO_2 и H_2O) (<i>Семинар</i>)	52
Тема 14. Вторичные пути обмена глюкозы. Влияние гормонов на уровень глюкозы в крови. Особенности утилизации углеводов микрофлорой полости рта	55
Тема 15. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по теме «Обмен углеводов»	61
Тема 16. Физико-химические свойства крови	62
Тема 17. Белки плазмы крови. Система свертывания крови	67
Тема 18. Контроль практических навыков биохимического анализа	72
Тема 19. Обмен липидов. Переваривание, всасывание, ресинтез. Транспорт экзогенных липидов. Количественное определение активности липаз	76
Тема 20. Внутриклеточный обмен жирных кислот. Количественное определение β -липопротеинов	81
Тема 21. Обмен холестерина и кетонных тел. Количественное определение холестерина в сыворотке крови. Регуляция и патология липидного обмена	85
Тема 22. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по теме «Обмен липидов»	89
Тема 23. Переваривание и всасывание белков. Анализ желудочного сока	91

Тема 24. Внутриклеточный обмен аминокислот. Обезвреживание аммиака. Количественное определение остаточного азота крови и мочевины в моче.....	95
Тема 25. Химия и обмен нуклеопротеинов. Определение содержания мочевой кислоты в моче.....	101
Тема 26. Матричные биосинтезы (синтез ДНК, РНК, белков) (<i>Семинар</i>).....	104
Тема 27. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по темам «Обмен простых белков и нуклеопротеинов», «Биосинтез ДНК, РНК и белка»	108
Тема 28. Общая характеристика и особенности биологического действия гормонов. Качественные реакции на гормоны.....	109
Тема 29. Биохимия питания. Водорастворимые витамины и витаминоподобные вещества.....	115
Тема 30. Биохимия питания. Жирорастворимые витамины. Минеральные вещества. Регуляция водно-электролитного баланса.....	121
Тема 31. Биохимия соединительных тканей, органов полости рта, ротовой жидкости.....	124
Тема 32. Перечень вопросов для подготовки к коллоквиуму по темам «Гормоны», «Биохимия питания», «Биохимия соединительных тканей, органов полости рта, ротовой жидкости»	129
Перечень вопросов для подготовки к экзамену.....	131

Учебное издание

Таганович Анатолий Дмитриевич
Кухта Виктор Климентьевич
Морозкина Татьяна Сергеевна и др.

**РУКОВОДСТВО К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ДЛЯ СТУДЕНТОВ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА**

Практикум

Ответственный за выпуск А. Д. Таганович
В авторской редакции
Компьютерная верстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 28.10.10. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка».

Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 16,27. Уч.-изд. л. 8,8. Тираж 290 экз. Заказ 732.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.

ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.