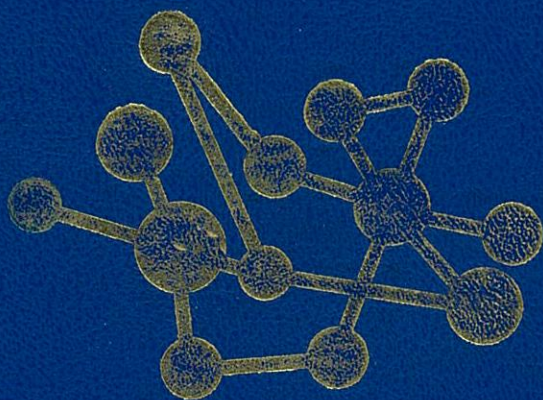


РУКОВОДСТВО

к практическим занятиям

по биохимии



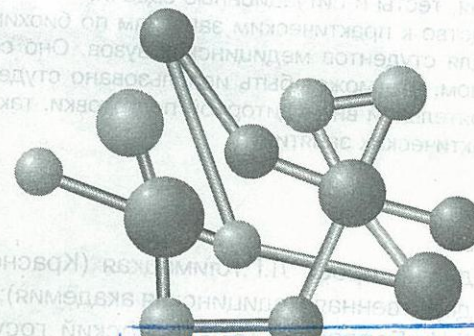
Министерство здравоохранения Российской Федерации
Красноярская государственная медицинская академия
Кафедра биохимии с курсом медицинской химии

РУКОВОДСТВО

к практическим занятиям
по биохимии

Рекомендовано Учебно-методическим объединением
по медицинскому и фармацевтическому образованию
вузов России в качестве учебника для студентов,
обучающихся по специальностям

040100 — Лечебное дело, 040200 — Педиатрия



НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
КрасГМА
ИНЗ. № _____

Красноярск 2003

УДК 577.1 (075.8)

ББК 24 (075.8)

Р 84

Руководство к практическим занятиям по биохимии/под редакцией Л.Л. Петровой, Л.В. Труфановой. — Красноярск: Издательство КрасГМА. — 2003. — 312 с.

Составители:

**С.К. Антонова, Л.М. Воробьева, А.Д. Климова,
Л.Л. Петрова, Л.В. Труфанова, Е.И. Таксанова**

Руководство к практическим занятиям по биохимии содержит краткую теоретическую часть по всем разделам курса, вопросы для самостоятельной подготовки к занятиям, а также описание лабораторных работ. Для каждой лабораторной работы дан перечень оборудования, реактивов и материалов, описана методика выполнения работы. Авторы ввели в лабораторный практикум унифицированные методики, рекомендуемые для клинических лабораторий. В каждом разделе даны вопросы для самоконтроля, тесты и ситуационные задачи.

Руководство к практическим занятиям по биохимии предназначено для студентов медицинских вузов. Оно составлено таким образом, что может быть использовано студентами как для самостоятельной внеаудиторной подготовки, так и для работы на практических занятиях.

Рецензенты:

д.м.н., проф. Л.Г.Климацкая (Красноярская государственная медицинская академия); к.б.н., доцент Г.И. Боровкова (Красноярский государственный университет).

© Красноярская
государственная
медицинская
академия, 2003

Предисловие

Руководство к практическим занятиям по биохимии составлено в соответствии с Государственным образовательным стандартом (2000), учебным планом (2000) специальностей 040 100 «Лечебное дело», 040 200 «Педиатрия» и типовой программой по биохимии для медицинских вузов, квалификационной характеристикой специалиста и отражает методику преподавания этого предмета на кафедре биохимии Красноярской государственной медицинской академии.

Руководство состоит из 10 глав. Каждая глава соответствует определенной теме. В ней дано краткое описание теоретического материала, вопросы для самостоятельной подготовки к занятиям, описание лабораторной работы, а также материал для самоконтроля — вопросы, ситуационные задачи и тесты. В лабораторную часть включены современные унифицированные методы биохимического анализа, рекомендуемые для клинических лабораторий. Основная цель руководства заключается в том, чтобы развить у студентов навыки самостоятельной работы и показать значение биохимических методов анализа для клинической диагностики.

Руководство к практическим занятиям по биологической химии может быть использовано для учебной работы студентов и преподавателей медицинских вузов.

Глава 1. Введение в биохимический практикум

Раздел 1. Значение биохимических анализов в практической медицине

На современном этапе развития медицины резко повысилось значение биохимических анализов. Применение новых лекарственных средств и новых методов лечения, проведение сложнейших хирургических вмешательств и реанимационных мероприятий требует постоянного биохимического контроля. За последние годы число биохимических исследований на одного стационарного больного в среднем увеличилось в несколько раз. Биохимические анализы применяются для диагностики, контроля за состоянием пациентов (мониторинг), скрининга различных заболеваний и прогнозирования. Таким образом, главная задача биохимической лаборатории состоит в том, чтобы обеспечить врача биохимической информацией, необходимой для лечения больного. Такая информация представляет ценность только если она точна, соответствует клинической ситуации и правильно используется врачом в процессе принятия решений.

Раздел 2. Общие сведения

Объект биохимических исследований

Для клинико-биохимических анализов используют:

- 1) биологические жидкости внутренних сред организма — плазму или сыворотку крови, спинно-мозговую жидкость, лимфу, амниотическую, внутрисуставную или внутриглазную жидкости.
- 2) биологические выделения (экстракты) — мочу, желчь, слюну, желудочный и кишечный соки, кал, пот, слезную жидкость, женское молоко и молозиво, семенную жидкость, слизистые выделения.

Пробу биологической жидкости берут утром натощак. Чаще всего исследуется утренняя моча, но для некоторых анализов (например, гормонов) используется суточная моча.

Капиллярную кровь у взрослых получают из пальца, у детей — можно из мочки уха, большого пальца ноги или пятки.

Большое количество крови берут из локтевой вены (у маленьких детей — из подкожных вен головы).

Из цельной крови с добавлением антикоагулянта (гепарина или цитрата натрия) центрифугированием можно получить плазму и форменные элементы крови. Сыворотка крови отличается от плазмы тем, что в ней отсутствует фибриноген и другие белки крови, участвующие в ее свертывании и вошедшие в сгусток.

Для получения сыворотки кровь собирают в сухую пробирку без антикоагулянта и оставляют в холодильнике для образования и отделения сгустка.

В сыворотке, плазме, эритроцитах определяют вещества, неравномерно распределенные между эритроцитами и жидкой средой крови. Например, Na, K, фосфаты, билирубин и т.д.

Если анализ невозможно провести сразу, то объекты биохимических исследований можно хранить в холодильнике. Срок хранения, в зависимости от вида определяемого вещества, может быть от нескольких часов до нескольких суток.

Выражение результатов биохимических исследований

Выбранная для исследования методика должна отличаться точностью, специфичностью и воспроизводимостью результатов.

Удобнее применять методики, использующие готовые наборы реактивов заводского изготовления. Если это невозможно, следует обращать внимание на чистоту используемых реактивов, ибо использование реактивов неизвестной степени очистки может внести ошибку в проводимые исследования.

Воспроизводимость метода зависит от случайных погрешностей при проведении осаждения, центрифугирования, пипетирования, а также от стабильности полученного продукта.

Для поддержания на высоком уровне воспроизводимости исследований удобно использовать контрольные сыворотки промышленного производства.

В биохимии и клинической химии используются основные и производные единицы СИ. Концентрацию веществ, молекулярная масса которых известна (например, концентрацию глюкозы, мочевины, мочевой кислоты в биологических жидкостях), выражают в единицах молярной концентрации моль/литр или в долях единиц — миллимоль/литр, микромоль/литр.

Концентрацию веществ, у которых не установлена или точно не известна молекулярная масса, выражают в единицах массо-

вой концентрации (или в массовых долях) — кг/л, г/л, мг/л, мкг/л и т.д. В этих же единицах выражаются результаты определения содержания белков (альбумин, фибриноген, общий белок, гаптоглобин, общих липидов).

Физико-химические методы в биохимии

Центрифугирование

Центрифугирование — метод разделения неоднородных систем, в том числе суспензий, в поле центробежных сил. В основе метода лежит следующий принцип: более крупные и более плотные частицы осаждаются быстрее и собираются на дне пробирки. Рабочая часть центрифуги — ротор, в который помещают пробирки с исследуемой жидкостью. *Центрифужные пробирки перед центрифугированием уравнивают и в роторе ставят друг против друга.*

В лабораторной практике центрифугирование чаще всего применяют для:

- 1) отделения форменных элементов от плазмы крови;
- 2) разделения субклеточных частиц;
- 3) осаждения денатурированных белков.

В клинической биохимии наиболее часто используют центрифуги общего назначения, которые способны давать максимальную скорость до 6000 об/мин. Для получения субклеточных частиц используют скоростные и ультрацентрифуги. Ультрацентрифуги дают предельную скорость до 80 000 об/мин и центробежное ускорение до 500 000 g. Они снабжены холодильником и вакуумной установкой.

Фотометрия

Фотометрия — метод количественного анализа, основанный на измерении интенсивности поглощения или рассеяния веществом светового потока.

Светопоглощение или **экстинкция** прямо пропорционально концентрации поглощающего вещества, толщине слоя раствора и коэффициенту молярной экстинкции. *Коэффициент молярной экстинкции* — величина поглощения, которую дает 1 моль вещества в 1 мл раствора при толщине слоя измеряемого раствора равной 1 см.

Экстинкция прямо пропорциональна интенсивности окраски раствора, которая может быть изначальной (то есть определяемое вещество обуславливает цвет раствора), либо приобретенной в процессе химической реакции.

Концентрацию определяемого вещества можно рассчитать двумя способами:

1) используя экстинкцию стандартного раствора с известной концентрацией определяемого вещества. Для этого составляют пропорцию:

Е ст. соответствует С ст.

Е оп. — С оп.

$$\text{откуда } C_{\text{оп.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \times E_{\text{оп.}}}{E_{\text{ст.}}};$$

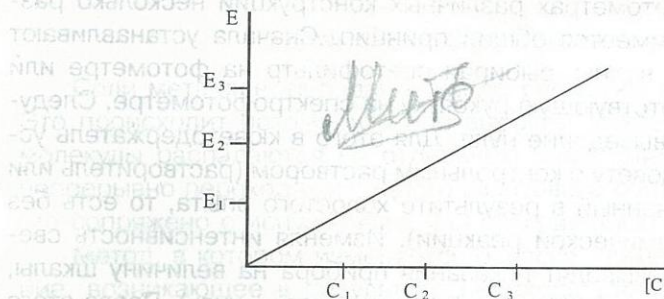
где Е ст. — экстинкция стандартного раствора;

Е оп. — экстинкция исследуемого раствора;

С ст. — концентрация стандартного раствора;

С оп. — концентрация определяемого вещества.

2) Концентрация исследуемого вещества определяется с помощью калибровочного графика. Для построения калибровочного графика измеряют экстинкции нескольких растворов с известной концентрацией определяемого вещества.



Фотометрические приборы делятся на две большие группы: фотоэлектроколориметры и спектрофотометры.

В фотоэлектроколориметрах нужные спектральные диапазоны выделяют при помощи светофильтров (красного, зеленого, синего, фиолетового и т.д.). В спектрофотометрах участки спектра выделяют при помощи призм или дифракционных решеток, поэтому можно установить любую длину волны в заданном диапазоне. Обычно спектрофотометры — это приборы более высокого класса, чем фотометры — в них можно выделить более узкий участок (более монохроматический) спектра, следовательно, точность измерения будет выше. Однако, все зависит от конкретной конструкции прибора.

Чаще всего в клинической биохимии фотометрия проводится в области 400-700 нм — это, так называемая, *видимая область спектра*. Свет с большей длиной волны относится к *ближней инфракрасной области*, измерения в которой приходится делать чрезвычайно редко. Свет с длиной волны короче 400 нм относится к *ультрафиолетовому диапазону*, причем, различают ближнюю область с длиной волны 300-400 нм и коротковолновый диапазон 220-300 нм.

Для фотометрических измерений в видимой и ближней инфракрасной областях применяются кюветы из обычного стекла. Для ближней ультрафиолетовой области нужны кюветы из специальных сортов стекла — увиолевые; в коротковолновой ультрафиолетовой области пригодны только кюветы из кварца или сапфира (высокой стоимости).

Последовательность операций при работе на спектрофотометрах или фотометрах различных конструкций несколько различаются, но имеется общий принцип. Сначала устанавливают нужную длину волны, выбирая светофильтр на фотометре или вращая соответствующую рукоятку на спектрофотометре. Следующий этап — выведение нуля. Для этого в кюветодержатель устанавливают кювету с контрольным раствором (растворитель или раствор, полученный в результате холостого опыта, то есть без проведения химической реакции). Изменяя интенсивность светового потока, выводят показания прибора на величину шкалы, предусмотренную инструкцией (чаще всего — ноль). После этого устанавливают опытную или стандартную пробу и по шкале прибора проводят отсчет оптической плотности.

В биохимических лабораториях наиболее широко применяют

ся фотоэлектроколориметры КФК-2, КМФЦ-2, БИАН-120 и др.; спектрофотометры СФ-16, СФ-26 и их современные модификации.

Флюорометрия

Эффект флюоресценции проявляется в свечении исследуемого объекта под влиянием облучения светом с более короткой длиной волны.

Физический эффект флюоресценции заключается в том, что молекула исследуемого вещества поглощает квант света возбуждения (тот свет, которым облучается объект) и при этом переходит в новое, с большей энергией состояние. Через некоторый микропромежуток времени (он настолько мал, что им можно пренебречь) молекула исследуемого вещества излучает избыточную энергию в виде кванта света флюоресценции, что улавливается соответствующим прибором флюориметром.

Аналитические методы, использующие флюоресценцию, основаны на предположении, что при освещении светом одинаковой интенсивности сила света флюоресценции пропорциональна содержанию исследуемого вещества. Однако такая пропорциональность соблюдается только в относительно узком диапазоне концентраций, поэтому при исследовании нужно всегда с особой тщательностью проверять линейность калибровочного графика.

В биохимических лабораториях часто используются флюориметры типа ЭФ-3М, БИАР-130 и др.

Пламенная фотометрия

Соли металлов, попадая в пламя, способны окрашивать его. Это происходит потому, что при высокой температуре пламени молекулы распадаются на отдельные ионы, электроны которых непрерывно переходят из одного квантового состояния в другое, что сопряжено с испусканием или поглощением кванта света.

Метод, в котором измеряется окраска пламени, т.е. излучение, возникающее в результате перехода атомов из энергетически более высокого состояния в более низкое, называется пламенной фотометрией. Между интенсивностью окраски пламени и концентрацией измеряемого вещества имеется прямая зависимость.

В биохимическом практикуме этим методом определяются вещества (например, K и Na), способные интенсивно излучать свет, попадая в сравнительно низкотемпературное пламя (например, в пламя бытового газа).

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1

- 1. Тема:** Введение в биохимический практикум.
- 2. Форма учебного процесса:** Лабораторно-практическое занятие.
- 3. Актуальность темы:** Знания, полученные на данном занятии, будут применяться в будущей практической деятельности, навыки работы на колориметре — для выполнения практических работ в курсе клинической биохимии.
- 4. Цель общая:**
 - 4.1.1. Познакомиться с основными правилами проведения лабораторных анализов, объектами биохимических исследований, основными методами, применяемыми в клинической биохимии.
 - 4.1.2. Научиться работать на фотоэлектроколориметре (КФК), получить навыки работы с лабораторной посудой.
- 4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Правила техники безопасности при работе в биохимической лаборатории.
2. Принцип колориметрии и правила работы на КФК.
3. Принцип центрифугирования и области его применения.

Уметь:

1. Правильно пользоваться пипетками и другой мерной посудой.
2. Получить данные для построения калибровочного графика и построить его на примере определения содержания белка биуретовым методом.

Вопросы для самостоятельной подготовки студентов

1. Правила техники безопасности в биохимической лаборатории.
2. Значение биохимических анализов.
3. Оборудование биохимической лаборатории.
4. Мерная посуда и работа с ней.

5. Требования к анализируемому биологическому материалу.

6. Физико-химические методы в биохимии:

- колориметрия;
- центрифугирование;
- флюориметрия;
- пламенная фотометрия.

7. Способы оценки полученных результатов при фотоэлектроколориметрии:

- формула расчета;
- калибровочный график.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Построить калибровочный график на примере определения содержания белка биуретовым методом.
2. Определить содержание белка в предложенном биологическом материале биуретовым методом с использованием калибровочного графика.

Лабораторная работа

Определение белка биуретовым методом

Оборудование:

1. Штатив с пробирками.
2. Пипетки на 0,1 мл и 5 мл.
3. КФК.
4. Кюветы на 1 см.

Реактивы:

1. Биуретовый реактив.
2. Стандартный раствор белка (70 г/л).
3. 0,9% раствор NaCl.
4. Сыворотка крови.

Принцип метода. Белки в щелочной среде образуют с сернокислой медью соединения сине-фиолетового цвета (биуретовая реакция). Интенсивность окраски пропорциональна концентрации.

Ход работы. В три пробирки внести реактивы согласно схеме:

Реактивы (мл)	Опытная проба	Стандарт. проба	Контроль. проба
Сыворотка	0,1	-	-
Стандарт. р-р белка (70 г/л)	-	0,1	-
0,9% раствор NaCl	-	-	0,1
Биуретовый реактив	2,5	2,5	2,5

Пробы хорошо перемешать, оставить на 15 мин при комнатной температуре. Колориметрировать опытную и стандартную пробы при зеленом светофилтре в кювете толщиной 0,5 см против контроля.

Концентрацию белка рассчитать по формуле:

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

где: X — концентрация белка в опытной пробе;
 $E_{\text{оп}}$ — оптическая плотность опытной пробы;
 $E_{\text{ст}}$ — оптическая плотность стандартной пробы;
 $C_{\text{ст}}$ — концентрация стандартного раствора белка.

Концентрацию белка можно определить по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика берут три раствора с известной концентрацией белка в каждом из них. Эти образцы можно приготовить разведением исходного стандартного раствора белка концентрацией 70 г/л. Затем с каждым образцом проводят биуретовую реакцию как описано выше. Оптическую плотность этих растворов определяют на КФК. По результатам строят график зависимости оптической плотности от концентрации белка.

Занятие №2

1. Тема: Химия аминокислот, пептидов, белков и их функции.

2. Форма учебного процесса: Лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность темы: Знания, полученные на данном за-

нятии, являются основой для изучения таких разделов биохимии как ферменты, обмен аминокислот и белков, биохимия регуляций. Они будут необходимы при обучении на клинических кафедрах.

4. Цель общая:

4.1.1. Повторить химию аминокислот и белков. Изучить их основные функции в организме.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Аминокислоты. Классификация. Свойства.
2. Пептиды. Классификация.
3. Белки. Строение. Свойства.
4. Белки плазмы крови. Функции.

Уметь:

1. Правильно пользоваться спиртовками, пипетками.
2. Проводить пробу Вельтмана и реакции осаждения белков кипячением.
3. Делать выводы по результатам проведенных опытов.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

1. Аминокислоты, определение, классификация.
2. Функциональные группы аминокислот.
3. Физико-химические свойства аминокислот.
4. Биологическое значение аминокислот.
5. Определение пептидов, классификация, функции.
6. Белки. Определение, классификация. Функции.
7. Структуры белковых молекул. Физико-химические свойства белков.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Проба Вельтмана, осаждение белков кипячением».
2. Сделать выводы по результатам работы.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Проба Вельтмана

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 0,1 мл и 5 мл.
3. Спиртовка.
4. Держатель для пробирки.

Реактивы:

1. 0,5% раствор CaCl_2 .
2. Дистиллированная вода.
3. Сыворотка крови.

Принцип метода. Реакция основана на том, что белки сыворотки крови в результате нагревания и действия хлористого кальция определенной концентрации выпадают в виде хлопьев (происходит нарушение коллоидной устойчивости).

Ход работы. К 0,1 мл сыворотки добавляют 4,9 мл воды, перемешивают и прибавляют 0,1 мл 0,5% CaCl_2 . Встряхивают и нагревают пробирку над пламенем до однократного вскипания смеси. Пробирку охлаждают и смотрят на свет. Если хлопьев нет, то в эту же пробирку добавляют еще 0,1 мл CaCl_2 и вновь кипятят. Процедуру повторяют, пока не выпадут хлопья. Результаты оценивают, подсчитывая общее количество пошедшего на реакцию CaCl_2 .

Диагностическое значение.

В норме коагуляция наступает при добавлении 0,4-0,5 мл CaCl_2 . При патологических процессах происходит нарушение соотношения белковых фракций крови, что приводит к изменению коллоидной устойчивости. При повреждениях печени, гемолизе и хронических воспалительных процессах коагуляция наступает при добавлении меньшего количества CaCl_2 , что обусловлено повышенным содержанием γ -глобулинов. При острых воспалительных и экссудативных процессах, сахарном диабете, повреждении почек, злокачественных опухолях коагуляция наблюдается при добавлении большего количества CaCl_2 . Причина — увеличение содержания α - и β -глобулинов.

2. Осаждение белков кипячением

Оборудование:

1. Штатив с пробирками.
2. Пипетки на 0,1 мл, 1 мл и 5 мл.
3. Спиртовка.
4. Держатель для пробирки.

- Реактивы:
1. Раствор белка.
 2. 1% раствор уксусной кислоты.
 3. Насыщенный раствор NaCl .
 4. 10% раствор NaOH .

В 5 пробирок внести реактивы согласно схеме:

Реактивы (мл)	Номера пробирок				
	1	2	3	4	5
Раствор белка	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
CH_3COOH	-	0,1	1,0	1,0	-
NaCl насыщенный	-	-	0,4	-	-
10% NaOH	-	-	-	-	0,4
Результат					
Вывод					

Все пробирки нагреть на спиртовке до кипения и записать, в каких из них выпадает осадок. Сопоставить результаты и сделать выводы. Объяснить, почему осадок появился не во всех пробирках.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторных работ

1. Как правильно работать со спиртовкой?
2. Как правильно нагревать пробирки в пламени спиртовки?
3. Что такое белки?
4. От чего зависит устойчивость растворов белка?
5. Что понимают под растворимостью белка?
6. Что такое pI белка?
7. Как изменяется растворимость белка в pI ?
8. Как изменяется растворимость белка при сдвиге влево или вправо от pI ?
9. Что значит кислый, основной и нейтральный белок?
10. Что такое денатурация белков? Какие факторы ее вызывают?
11. Чем денатурация отличается от гидролиза белков?
12. Что такое высаливание белков?
13. Чем высаливание отличается от денатурации?
14. Что такое электрофорез?

15. На какие фракции можно разделить белки плазмы крови с помощью электрофореза?
16. Какой принцип лежит в основе реакции Вельтмана?
17. От чего зависит коллоидная устойчивость белков?
18. При каких патологических состояниях коагуляция наступает при добавлении меньшего количества хлорида кальция?
19. При каких патологических состояниях коагуляция наступает при добавлении большего количества хлорида кальция?
20. При добавлении какого количества хлорида кальция коагуляция наступает в норме?

б) Ситуационные задачи

1. Каплю раствора, содержащего смесь аминокислот гли, ала, глу, лиз, арг, гис нанесли на середину электрофоретической бумаги, смочили буфером pH 6,0 и приложили электрическое напряжение. Укажите, в каком направлении (к катоду, аноду или останутся на старте) будут двигаться отдельные аминокислоты.
2. Трипептид, выделенный из токсина змей, состоит из трех незаменимых аминокислот — серусодержащей, гетероциклической и гидроксилсодержащей. Напишите этот трипептид и определите его изоэлектрическую точку.
3. По данным количественного аминокислотного анализа в сывороточном альбумине содержится 0,58% триптофана, молекулярная масса которого равна 204. Рассчитайте минимальную молекулярную массу альбумина.

4. Дано три группы белков:

А	М.м.	40000	90000	90000	150000
	pI	7	7	5	9

Б	М.м.	80000	120000	120000	120000
	pI	5	6	7	9

В	М.м.	50000	50000	150000	300000
	pI	7	9	9	7

Как разделить белки соответствующей группы (по выбору преподавателя), используя только высаливание и центрифугирование (для удаления осадка). При прочих равных условиях растворимость белка зависит только от молекулярной массы.

5. Чем объяснить возможное снижение растворимости белков при отщеплении от них пептидов (как в случае с фибриногеном)?

6. Как объяснить, что белок молока казеин при кипячении сворачивается (выпадает в осадок), если молоко кислое.

Глава 2. Ферменты

Раздел 1. Значение изучаемой темы

В организме практически нет реакций, которые не катализировались бы ферментами. Ферменты обеспечивают существование таких важнейших процессов жизнедеятельности, как реализация наследственной информации, биоэнергетика, синтез и распад биологических молекул. Изучение ферментов имеет огромное значение для любой фундаментальной и прикладной области биологии, пищевой и фармацевтической промышленности и медицины. Действие многих лекарственных препаратов основано главным образом на взаимодействии с ферментами. Успехи общей и молекулярной энзимологии способствуют развитию медицинской энзимологии, методологические подходы которой связаны с решением проблем энзимопатологии, энзимодиагностики и энзимотерапии. Наука о питании базируется на точных знаниях о расщеплении веществ под влиянием ферментов пищеварительного тракта. Многие проблемы наследственной патологии человека тесно связаны с дефектами или полным отсутствием синтеза специфических ферментов. Проблемы клеточного роста и развития, дифференцировки, физиологических функций (движение, перемещение в пространстве, транспорт веществ, процессы возбуждения и торможения и др.) определяются в большой степени работой ферментов. Все вышеперечисленное позволяет считать данную тему основой для изучения всех последующих тем.

Раздел 2. Сведения о ферментах

Общие сведения

Ферменты — это биологические катализаторы белковой природы.

Простые ферменты состоят только из аминокислот, а сложные — из двух частей: белковой (**апофермент**) и небелковой (**кофактор**).

Если кофактор прочно связан с апоферментом, он называется простетической группой, если непрочно — **коферментом**.

В отличие от неорганических катализаторов, ферменты:

- действуют в мягких условиях ($t^{\circ}=37^{\circ}\text{C}$, pH 7,4, давление 1атм);
- специфичны, т.е. катализируют определенные реакции. При **абсолютной специфичности** действуют на один субстрат (S), а при **относительной специфичности** действуют на определенный тип связи. Специфичность фермента обусловлена его конформацией.
- обладают высокой эффективностью;
- регулируются, то есть при определенных условиях работают с соответствующими данной ситуации скоростями.

Участок фермента, в котором происходит специфическое связывание субстрата и его превращение в продукт, называется **активным центром**.

У простых ферментов активный центр состоит из аминокислот. У сложных ферментов, кроме аминокислот, в состав активного центра входит кофактор.

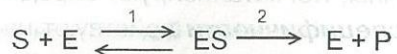
По теории Фишера субстрат подходит к ферменту, как ключ к замку, то есть между конформацией активного центра и конформацией субстрата существует абсолютное пространственное соответствие.

Согласно теории Кошланда, активный центр фермента формируется окончательно при взаимодействии его с субстратом, то есть субстрат меняет активный центр в соответствии со своей формой в момент контакта с ферментом.

Механизм действия ферментов

Скорость химической реакции определяется энергией активации (Еакт). *Энергией активации называется количество энергии в кдж, необходимое для того, чтобы все молекулы 1 моля вещества при определенной температуре достигли переходного состояния, соответствующего вершине энергетического барьера.* В этой точке существует равная вероятность того, что достигшие ее молекулы вступят в реакцию с образованием продукта (P) или вернутся обратно на уровень непрореагировавших молекул (S). Чем меньше энергия активации, тем легче (скорее) протекает реакция.

В присутствии фермента (E) реакция ($S \rightarrow P$) делится на несколько стадий.



Вначале фермент (E) взаимодействует с субстратом (S) с образованием фермент-субстратного комплекса (ES). Энергия активации этой стадии невелика, и комплекс образуется быстро.

На второй стадии происходит образование продукта (P). Поскольку энергия ES-комплекса уже достаточно высока, то энергия активации второй стадии будет опять невелика и переходное состояние ES достигается быстро.

Этот механизм обеспечивается следующими факторами:

- сближение и ориентация реакционного центра субстрата под каталитическую группу фермента;
- напряжение и деформация как субстрата, так и фермента, приводящее к увеличению энергии фермент-субстратного комплекса, что делает невыгодным его существование;
- кислотно-основный или ковалентный катализ.

Свойства ферментов

Белковая природа ферментов определяет уникальные свойства этих катализаторов:

1. Активность ферментов зависит от температуры. При низких температурах активность ферментов низкая из-за небольшой скорости движения молекул, при этом вероятность встречи фермента с субстратом мала. При повышении температуры активность фермента возрастает. Оптимальные значения температуры для большинства ферментов находятся в пределах 20-40°C. Некоторые ферменты денатурируют уже при температуре около 40°C, но основная часть их инактивируется при температурах выше 40-50°C.

2. Активность ферментов зависит от pH среды. Для каждого фермента существует такая область pH (оптимум), в которой он проявляет максимальную активность. В этой зоне pH конформация фермента максимально соответствует субстрату. При снижении или увеличении pH от оптимума разрушаются связи, построенные на кислотно-основных взаимодействиях (водородные, ионные). Это приводит к изменению конформации фермен-

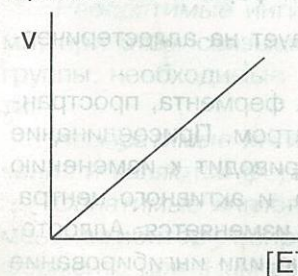
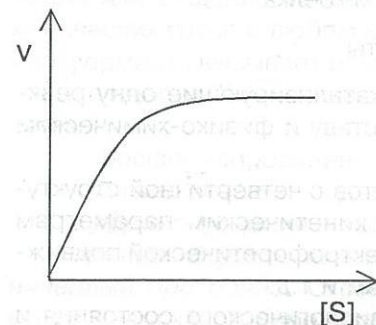
та, а, следовательно, и активного центра. В результате активность фермента снижается. Таким образом, ацидоз и алкалоз вызывают снижение активности ферментов и, поэтому, опасны для жизни. Для большинства ферментов оптимум pH находится при pH 7,4.

3. Скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата. При низких концентрациях субстрата вероятность столкновения с молекулой фермента мала и образование продукта будет происходить очень медленно. С увеличением концентрации субстрата вероятность столкновения возрастает, скорость реакции увеличивается. Когда активные центры всех молекул фермента заполняются субстратом, скорость реакции становится постоянной (максимальной). Концентрация субстрата, при которой достигается максимальная скорость, называется **насыщающей**. Концентрация субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной, называется **константой Михаэлиса (K_m)**. K_m характеризует сродство фермента к субстрату, то есть способность фермента связывать субстрат. Чем меньше K_m , тем выше сродство.

4. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента.

При насыщающих концентрациях субстрата зависимость прямая.

Определение активности фермента
За единицу активности любого фермента принимают такое его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль вещества в 1 минуту.



Активность ферментов определяют:

- по скорости убывания субстрата;
- по скорости образования продукта.

$$\text{Удельная активность} = \frac{\text{мкмоль}}{\text{мин} \cdot \text{мг белка}}$$

Изоферменты

Это разновидности ферментов, катализирующие одну реакцию, но отличающиеся по своему составу и физико-химическим свойствам.

Изоферменты имеются у ферментов с четвертичной структурой. Изоферменты различаются по кинетическим параметрам ($V_{\text{макс}}$ и K_m), тканевой локализации, электрофоретической подвижности, чувствительности к регуляторам и т.д.

В зависимости от возраста, физиологического состояния и других причин в организме устанавливается определенное соотношение изоферментов, которому соответствует определенный уровень активности фермента в целом. Изменение их соотношения в отдельных тканях или органах является одним из способов регуляции метаболических процессов в организме.

Определение в сыворотке крови активности определенных изоферментов используется для диагностики.

Регуляция активности ферментов

Вещества, изменяющие активность ферментов, называются эффекторами или регуляторами. Эффекторы, снижающие активность ферментов, называются *ингибиторами*, повышающие активность — *активаторами*.

Механизмы изменения активности ферментов

1. **Аллостерический.** Регулятор действует на аллостерический центр.

Аллостерический центр — это участок фермента, пространственно не совпадающий с активным центром. Присоединение регулятора к аллостерическому центру приводит к изменению конформации фермента, а следовательно, и активного центра. Сродство фермента к субстрату при этом изменяется. Аллостерические регуляторы вызывают активацию или ингибирование

фермента. Аллостерическими регуляторами являются *метаболиты, макроэрги, коферменты, катионы металлов, цАМФ, субстраты*.

2. **Химическая или ковалентная модификация.** Заключается в изменении химической структуры фермента путем присоединения или отщепления за счет ковалентных связей каких-либо химических групп в любом месте фермента. Химическое изменение фермента вызывает изменение конформации, а следовательно, активности. Химическая модификация может осуществляться путем:

- фосфорилирования — дефосфорилирования;
- метилирования — деметилирования;
- аденилирования — деаденилирования.

Частным случаем химической модификации является *ограниченный протеолиз*. Ограниченный протеолиз — это процесс отщепления какой-либо части фермента в виде олиго- или полипептида. В результате формируется активный центр.

4. **Взаимодействие «белок-белок».** Этот механизм регуляции характерен только для ферментов с четвертичной структурой, то есть состоящих из субъединиц. Диссоциация или ассоциация этих субъединиц приводит к изменению конформации активного центра. Для одних ферментов ассоциация приводит в активации фермента, а диссоциация — к ингибированию, для других — наоборот. Изменение взаимодействия между субъединицами возникает в результате присоединения аллостерического регулятора или в результате химической модификации фермента.

Ингибирование

Ингибирование ферментов бывает обратимым и необратимым.

Необратимые ингибиторы прочно связываются с ферментами, при этом связываются или разрушаются функциональные группы, необходимые для проявления каталитической активности.

Необратимые ингибиторы не имеют физиологического значения и являются ферментными ядами.

Обратимые ингибиторы действуют недолго. Комплекс «фермент-ингибитор» непрочен и быстро диссоциирует, активность фермента при этом восстанавливается.

Обратимые ингибиторы делятся на конкурентные и неконкурентные.

Конкурентный ингибитор похож на субстрат по структуре и форме, поэтому может конкурировать с ним за место в активном центре. Степень ингибирования зависит от концентрации субстрата и ингибитора.

Чем больше концентрация ингибитора, тем сильнее ингибирование.

Неконкурентные ингибиторы структурно не похожи на субстрат, поэтому действуют вне активного центра.

Регуляция ферментативных цепей

Регуляция в ферментативных цепях направлена на ключевые ферменты, которые катализируют, как правило, необратимые реакции. К ключевым ферментам относятся:

- а) фермент, стоящий в начале цепи;
- б) лимитирующий фермент (имеет наименьшую скорость в цепи);
- в) ферменты, стоящие на развилке цепи.

Классификация ферментов

1. **Оксидоредуктазы** — катализируют окислительно-восстановительные реакции.
2. **Трансферазы** — катализируют реакции переноса химических групп. (Киназы)
3. **Гидролазы** — катализируют расщепление связей с присоединением воды по месту разрыва.
4. **Лиазы** — катализируют расщепление связей без помощи воды с образованием или расщеплением двойных связей.
5. **Изомеразы** — катализируют изомерные превращения.
6. **Лигаза** — катализируют реакции синтеза с затратой АТФ.

Использование ферментов в медицине

1. **Энзимопатология** — изучает значение нарушений активности ферментов в развитии заболеваний.
2. **Энзимодиагностика**
 - а) применение ферментов для определения различных веществ в биологических жидкостях;
 - б) измерение активности ферментов или изоферментов в кро-

ви и моче для диагностики болезней, сопровождающихся разрушением клеток.

3. **Энзимотерапия** — использование ферментов в качестве лекарств. Например,
 - а) при нарушении пищеварения;
 - б) для очистки гнойных ран;
 - в) для лечения вирусных заболеваний.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие №1

1. **Тема:** Общие свойства ферментов.

2. **Форма учебного процесса:** лабораторно-практическое занятие.

3. **Актуальность занятия:** Знание общих свойств ферментов является основой всего курса биохимии, так как в организме все реакции катализируются ферментами.

4. **Цель общая:**

- 4.1.1. Изучить общие свойства ферментов;
- 4.1.2. Овладеть биохимическими методами в изучении каталитических свойств ферментов.
- 4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Ферменты. Строение ферментов.
2. Отличие ферментов от неорганических катализаторов.
3. Активный центр ферментов. Механизм действия ферментов.
4. Свойства ферментов, обусловленные белковой природой.

Уметь:

1. Пользоваться мерной посудой.
2. Приготовить ферментный препарат амилазы слюны.
3. Провести лабораторную работу, сделать выводы.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Белки: строение, физико-химические свойства (ИЭТ, растворимость, денатурация, высаливание, электрофорез).
2. Понятие о катализе и катализаторах.

По новой теме

1. Ферменты: определение, простые и сложные ферменты.
2. Кофактор фермента. Химическая природа кофактора.
3. Чем коферменты отличаются от простетических групп? Примеры.
4. Активный центр ферментов. Строение активного центра простых и сложных ферментов.
5. Специфичность ферментов. Чем обусловлена специфичность ферментов?
6. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, pH, концентрации фермента и субстрата.
7. Механизм действия ферментов.
8. Классификация ферментов.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Общие свойства ферментов».
2. Сделать выводы по результатам проведенных опытов. Оформить результаты опытов в виде таблицы и графика.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению задач (ориентировочные задачи и вопросы приведены ниже).

Лабораторная работа

① Зависимость активности ферментов и неорганических катализаторов от температуры.

Сравнивают условия действия фермента амилазы и неорганического катализатора HCl. Амилаза гидролизует крахмал до декстринов и мальтозы. Декстрины с йодом дают окраску от синефиолетовой до желто-бурой (в зависимости от глубины расщепления): Мальтоза с йодом окраски не дает. HCl при кипячении гидролизует крахмал до мальтозы.

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Мерная коническая пробирка.
 3. Пипетки на 1 и 2 мл, глазная пипетка.
 4. Термостат.
 5. Водяная баня

- Реактивы:
1. 1% раствор крахмала.
 2. Раствор Люголя.
 3. Дистиллированная вода
 4. 10% раствор HCl.
 5. Амилаза слюны.

Ход работы. Получение ферментного препарата амилазы слюны: ополаскивают рот водой, затем набирают 10-20 мл дистиллированной воды, выдерживают во рту 2-3 мин и полученный раствор амилазы сливают в стакан.

В 3 пробирки наливают по 2 мл 1% раствора крахмала, в первую добавляют 1 мл амилазы, во вторую и третью — по 1 мл 10% HCl. Первую и вторую помещают в термостат при 37°C на 10 мин, третью — в хорошо кипящую баню. Через 10 мин все пробирки вынимают и охлаждают холодной водой. Добавляют в них по 6 капель раствора Люголя, сравнивают окраску и делают выводы.

② Зависимость активности амилазы от температуры.

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Мерная коническая пробирка.
 3. Пипетки на 1 и 2 мл, глазная пипетка.
 4. Термостат.
 5. Водяная баня.
 6. Лед.

- Реактивы:
1. 1% раствор крахмала.
 2. Раствор Люголя.
 3. Дистиллированная вода.
 4. 0,1 Н раствор H_2SO_4 .
 5. Амилаза слюны.

Ход работы. В 4 пронумерованные пробирки наливают по 0,5 мл амилазы. Пробирку №1 ставят в лед, №2 — в термостат при 37°C, №3 — оставляют при комнатной температуре, №4 — в кипящую водяную баню. Через 5 минут, когда содержимое пробирок примет нужную температуру, в пробирку №1 добавляют 2 мл 1% раствора крахмала, охлажденного до температуры тающего льда, во 2-ю, 3-ю и 4-ю пробирки добавляют по 2 мл крахмала комнатной температуры. Во все пробирки сразу же добавляют по 2 капли раствора Люголя и помещают в те же самые

условия. После исчезновения окраски в пробирке №2 все их вынимают и добавляют в каждую по 1 мл 0,1N серной кислоты для прекращения действия фермента. Активность амилазы оценивают по конечной окраске содержимого пробирок. Чем выше активность фермента, тем слабее окраска. По полученным результатам построить график зависимости активности амилазы от температуры.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы:

1. Какую реакцию катализирует амилаза слюны?
2. Назовите субстраты амилазы?
3. Расскажите о строении субстратов амилазы.
4. Назовите продукты амилазной реакции.
5. Объясните результаты 1-го опыта.
6. С помощью какой качественной реакции можно обнаружить крахмал?
7. Какой специфичностью обладает амилаза слюны?
8. Обладают ли специфичностью неорганические катализаторы?
9. Объясните результаты 2-го опыта.
10. Что такое денатурация?
11. Подвергаются ли денатурации ферменты? (да, нет; почему?)
12. Для чего необходима инкубация фермента с субстратом?
13. Как можно измерить активность амилазы?
14. Какова зависимость скорости амилазной реакции от концентрации крахмала?
15. К какому классу ферментов относится амилаза слюны?
16. Назовите другие классы ферментов.

б) Ситуационные задачи

1. Может ли обратимая реакция катализироваться центром фермента, отличным от центра, катализирующего прямую реакцию?
2. Фермент трипсин способен разрывать пептидные связи белков. Почему обработка трипсином приводит к инактивации многих ферментов?
3. Какие пептидазы обладают большей специфичностью: пищеварительного тракта или каскада свертывания крови?

Рекомендуемая литература

1. Курс лекций по биохимии
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. «Биологическая химия», 1990, стр. 92-116
3. Николаев А.Я. «Биологическая химия», 1989, стр. 53-83, 89-90.

Занятие № 2

1. **Тема:** Регуляция активности ферментов.

2. **Форма учебного процесса:** лабораторно-практическое занятие.

3. **Актуальность занятия:** Так как многие лекарства изменяют активность ферментов, будущему врачу необходимо знать механизмы регуляции ферментов в организме.

4. Цель общая:

- 4.1.1. Изучить механизмы изменения активности ферментов;
- 4.1.2. Научиться проводить лабораторную работу и объяснять результаты опытов.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Механизмы изменения активности ферментов в клетке.
2. Значение ферментов в медицине.

Уметь:

1. Провести лабораторную работу.
2. Сделать выводы на основании проведенных опытов.
3. Оформить полученные результаты в виде таблицы и графика.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Ферменты. Строение ферментов.
2. Активный центр ферментов.
3. Механизм действия ферментов.
4. Свойства ферментов.

По новой теме

1. Активаторы и ингибиторы ферментов.
2. Дать характеристику:
 - аллостерическому механизму регуляции активности ферментов;

- химической (ковалентной) модификации;
 - ограниченному протеолизу;
 - взаимодействию «белок-белок».
3. Необратимое и обратимое ингибирование.
 4. Конкурентное ингибирование. Использование конкурентных ингибиторов в медицине.
 5. Изоферменты. Значение изоферментов в медицине.
 6. Ферментативные цепи. Регуляция ферментативных цепей. Ключевые ферменты.
 7. Энзимопатии. Виды энзимопатий.
 8. Использование ферментов в медицине.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу: «Регуляция активности ферментов».
2. Сделать выводы по результатам проведенных опытов.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению задач (ориентировочные задачи и вопросы приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Влияние ионов на активность амилазы слюны.

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.
2. Мерная коническая пробирка.
3. Пипетки на 1 мл, глазная пипетка.

Реактивы: 1. 1% раствор крахмала.
2. 1% раствор NaCl.
3. 1% раствор CuSO_4 .
4. 1% раствор ацетата свинца.
5. Раствор Люголя.
6. Дистиллированная вода
7. Амилаза слюны.

Ход работы. В 4 пробирки наливают по 1 мл 1% раствора крахмала, затем в пробирку №1 — 1 мл дистиллированной воды, в №2 — 1мл 1% раствора хлористого натрия, в №3 — 1мл 1% раствора ацетата свинца, в №4 — 1мл раствора сернокислой меди. Во все пробирки добавляют по 1 мл раствора амилазы слюны и

оставляют их на 10 мин при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку добавляют по 2 капли раствора Люголя и делают выводы о влиянии добавленных ионов на активность амилазы.

2. *Определение оптимального значения pH для каталитической активности амилазы слюны.*

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.
2. Мерная коническая пробирка.
3. Пипетки на 1 мл, глазная пипетка.
4. Термостат.

Реактивы: 1. 1% раствор крахмала.
2. Раствор Люголя.
3. Фосфатно-цитратный буфер с pH: 5,0; 5,4; 6,8; 8,0; 10,0.
4. Амилаза слюны.

Ход работы. В 5 пронумерованных пробирок наливают по 1 мл фосфатно-цитратного буфера со значением pH 5,0; 5,4; 6,8; 8,0; 10,0. Во все пробирки добавляют по 1 мл 1% раствора крахмала и по 1 мл раствора амилазы. Затем во все пробирки добавляют по 3 капли раствора Люголя, встряхивают их и помещают в термостат при 37°C до исчезновения окраски в пробирке №3. Сравнивают окраску во всех пяти пробирках и делают вывод о зависимости активности амилазы от pH среды.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. Объясните результаты 1-го опыта.
2. К каким регуляторам (обратимым или необратимым) относятся ацетат свинца и сульфат меди? Почему?
3. Может ли продукт реакции регулировать активность фермента? Какое биологическое значение это может иметь?
4. В ряде случаев субстрат способен активировать фермент. В чем биологический смысл этого явления?
5. Может ли субстрат усилить синтез фермента?
6. В чем сходство и различие аллостерического регулирования и химической модификации?

7. В чем сходство и различие между химической модификацией и ограниченным протеолизом?

8. Имеет ли физиологическое значение необратимое ингибирование активности ферментов? (Да, нет; почему)

9. Объясните результаты 2-го опыта.

10. Почему сдвиг pH в любую сторону от оптимума снижает активность фермента?

11. Почему ацидоз и алкалоз опасен для жизни?

12. Почему отравления солями тяжелых металлов лечат введением в пищеварительный тракт сырых яиц или молока?

б) Ситуационные задачи

1. Ингибитор снижает активность фермента до 30% от исходного уровня. Повышение концентрации субстрата катализируемой реакции восстанавливает 80% активности фермента. К какому типу относится данный ингибитор?

2. О чем может свидетельствовать резкое повышение в крови активности аспаратаминотрансферазы, если известно, что этот фермент локализован преимущественно в сердце?

3. Каким образом высокие концентрации субстрата могут ускорять собственную утилизацию?

Рекомендуемая литература

1. Курс лекций по биохимии.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия», 1990, стр. 116-13

3. Николаев А.Я., «Биологическая химия», 1989, стр. 84-92.

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы

1. Что такое ферменты?

2. В чем сходство ферментов и неорганических катализаторов?

3. Чем различаются ферменты и неорганические катализаторы?

4. Чем сложный фермент отличается от простого фермента?

5. Что такое кофактор фермента? Химическое строение кофактора.

6. Чем коферменты отличаются от простетических групп? Приведите примеры.

7. Дайте понятие об активном центре фермента. Строение активного центра простых и сложных ферментов.

8. Что такое специфичность ферментов? Какие виды специфичности ферментов вы знаете? Чем обусловлена специфичность ферментов?

9. Сформулируйте теории Фишера и Кошланда. Что они объясняют?

10. Какова зависимость активности фермента от температуры?

11. Как активность фермента зависит от pH среды?

12. Дайте понятие об энергии активации. Как ферменты влияют на нее? Расскажите о механизме действия ферментов.

13. Назовите факторы, влияющие на снижение энергии активации ферментативной реакции.

14. Какова зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата?

15. Что такое максимальная скорость ферментативной реакции?

16. Что такое константа Михаэлиса? Что она характеризует?

17. Какова зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента?

18. Как измерить активность фермента? В каких единицах выражается активность фермента?

19. Дайте понятие об изоферментах.

20. Назовите основные отличия изоферментов друг от друга.

21. Какое значение имеют изоферменты в медицине?

22. Дайте понятие об активаторах и ингибиторах ферментов.

23. Дайте сравнительную характеристику обратимого и необратимого ингибирования.

24. Приведите примеры необратимых ингибиторов. Имеют ли они физиологическое значение?

25. Что такое конкурентное ингибирование?

26. Дайте понятие о неконкурентных ингибиторах и механизме их действия.

27. Приведите примеры конкурентных ингибиторов.

28. Что такое аллостерический центр фермента. Механизм аллостерического изменения активности фермента.

29. Какие вещества могут выступать в роли аллостерических регуляторов?
30. Дайте понятие о химической модификации. Приведите примеры.
31. Что такое ограниченный протеолиз? Чем он отличается от химической модификации?
32. Расскажите об изменении активности ферментов путем взаимодействия «белок-белок».
33. Что такое ферментативная цепь?
34. Дайте представление о содружественном и конкурентном сопряжении ферментов в ферментативных цепях.
35. Дайте понятие о ключевых ферментах. Как они регулируются?
36. Какова роль обратных связей в регуляции ферментативных цепей?
37. По какому принципу классифицируются ферменты? Дайте характеристику каждому классу.
38. Что такое энзимопатии? Какие виды энзимопатий вы знаете?
39. Назовите основные направления использования ферментов в медицине. Дайте им характеристику.
40. Как в медицине используются конкурентные ингибиторы?

Тесты

1. Ферменты — это:

- а) катализаторы;
- б) витамины;
- в) регуляторы.

2. По химической природе ферменты — это:

- а) белки;
- б) углеводы;
- в) липиды.

3. Ферменты и неорганические катализаторы:

- а) не изменяются в процессе реакции;
- б) не катализируют термодинамически невозможные реакции;
- в) не сдвигают положение равновесия обратимых реакций;

г) снижают энергию активации;

д) обладают специфичностью.

4. Ферменты отличаются от неорганических катализаторов тем, что:

- а) действуют в мягких условиях;
- б) специфичны;
- в) регулируются;
- г) снижают энергию активации.

5. Ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию, но отличающиеся по составу и физико-химическим свойствам, называются:

- а) изоферментами;
- б) сопряженными ферментами;
- в) конкурирующими ферментами.

6. Простой фермент состоит из:

- а) аминокислот;
- б) аминокислот и ионов металлов;
- в) аминокислот и витаминов.

7. Сложный фермент состоит из:

- а) аминокислот;
- б) аминокислот и кофактора;
- в) глюкозы и ионов металлов.

8. У простых ферментов в состав активного центра входят:

- а) нуклеиновые кислоты;
- б) ионы металлов;
- в) аминокислоты.

9. У сложных ферментов химический состав активного центра представлен:

- а) только аминокислотами;
- б) аминокислотами и кофактором.

10. Константа Михаэлиса (K_m) характеризует:

- а) сродство фермента к субстрату;
- б) эффективность активатора;
- в) эффективность ингибитора.

11. Активность фермента определяется:

- а) по скорости убывания субстрата;
- б) по скорости образования продукта;
- в) по изменению конформации субстрата.

12. Константа Михаэлиса — это:

- а) концентрация субстрата, при которой скорость реакции является максимальной;
- б) концентрация субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной;
- в) насыщающая концентрация субстрата.

13. Активный центр фермента — это:

- а) участок фермента, отвечающий за связывание субстрата и образование продукта;
- б) участок фермента, отвечающий за регуляцию активности;
- в) участок фермента, отвечающий за связывание с клеточными структурами.

14. Кофактор — это:

- а) небелковая часть фермента;
- б) белковая часть фермента.

15. Коферменты от простетических групп отличаются:

- а) прочностью связи с апоферментом;
- б) прочностью связи с аллостерическим центром.

16. Повышение температуры тела выше 40° С опасно для жизни из-за:

- а) денатурации многих клеточных ферментов;
- б) резкого повышения активности ферментов;
- в) резкого снижения активности ферментов.

17. Сдвиг pH в любую сторону от оптимального значения:

- а) изменяет конформацию фермента;
- б) изменяет конформацию кофактора;
- в) не влияет на фермент.

18. Ферменты ускоряют химические реакции путем:

- а) снижения энергии активации;
- б) повышения энергии активации;
- в) повышения температуры реакции.

19. Изменение конформации фермента при алкалозе или ацидозе вызвано:

- а) разрушением водородных и ионных связей;
- б) разрушением дисульфидных связей;
- в) разрушением пептидных связей.

20. Денатурация фермента приводит к инактивации фермента из-за:

- а) разрушения активного центра;
- б) разрушения кофактора;
- в) разрушения аллостерического центра.

21. Денатурацию фермента вызывают:

- а) соли тяжелых металлов (ртути, свинца, меди, кадмия и др.);
- б) субстраты;
- в) кислоты и щелочи;
- г) высокие температуры.

22. Изоферменты различаются по:

- а) электрофоретической подвижности;
- б) максимальной скорости и K_m ;
- в) чувствительности к регуляторам;
- г) тканевой локализации.

23. При относительной специфичности ферменты действуют на:

- а) один субстрат;
- б) группу родственных субстратов;
- в) на определенный тип связи.

24. По теории Фишера:

- а) субстрат должен абсолютно соответствовать конформации активного центра;
- б) субстрат может не соответствовать конформации активного центра фермента.

25. По теории Кошланда:

- а) активный центр фермента формируется окончательно при связывании с субстратом;
- б) активный центр имеет необходимую конформацию до взаимодействия с субстратом.

26. Для очистки гнойных ран используют обработку пептидазами, так как они:

- а) расщепляют белки разрушенных клеток и этим очищают рану;
- б) расщепляют гликолипиды разрушенных клеток и этим очищают рану.

27. Трипсин является пептидазой. Добавление его к ферментам:

- а) ничего не изменит;

- б) приведет к потере активности;
- в) приведет к повышению активности.

28. Прямым доказательством белковой природы фермента является:

- а) снижение энергии активации;
- б) ускорение прямой и обратной реакции;
- в) ускорение достижения положения равновесия обратной реакции;
- г) прекращение каталитического действия при добавлении в раствор вещества, разрушающего пептидные связи.

29. Для сохранения сладкого вкуса свежесобранные початки кукурузы помещают на несколько минут в кипящую воду для того, чтобы:

- а) они стали мягкими;
- б) денатурировать ферменты, превращающие глюкозу в крахмал;
- в) было легко освободить зерна.

Глава 3. Энергетический обмен

Раздел 1. Значение изучаемой темы

Энергетический обмен является одним из важнейших факторов, определяющих функциональную активность человеческого организма. Интенсивность биосинтетических процессов, роста и развития клеток, репарационных и транспортных процессов, проявление мышечных и не мышечных форм подвижности, а также функциональной деятельности нервной ткани во многом зависит от эффективности энергетического обмена. Нарушение процессов синтеза АТФ является причиной многих патологических состояний. Поэтому данный материал важен в плане подготовки врача, как с теоретической, так и с практической точек зрения.

Раздел 2. Сведения об энергетическом обмене

Общие сведения

Окисление — это отщепление от вещества электронов; восстановление — это присоединение электронов.

Метаболизм — это обмен веществ. Он имеет две стороны: катаболизм и анаболизм. Катаболизм — это расщепление сложных органических веществ до более простых. Анаболизм — это синтез сложных веществ из простых веществ с использованием энергии.

Для поддержания гомеостаза (постоянства внутренней среды) в организме постоянно вырабатывается энергия. Источником энергии является расщепление пищевых веществ (белков, жиров и углеводов), а также аналогичных молекул самого организма до CO_2 , H_2O и NH_3 (для азотсодержащих веществ).

Под биологическим окислением понимают все окислительно-восстановительные реакции, происходящие в организме. Наиболее важным видом окисления с энергетической точки зрения является дегидрирование субстратов с последующим взаимодействием отщепленного водорода с кислородом, полученным из атмосферы при дыхании, с образованием воды. В отличие от неживой природы, где энергия при горении веществ выделяется в виде света и тепла, в организме человека и животных энергия окислительно-восстановительных реакций используется на син-

тез АТФ, то есть переводится в химическую форму, а также выделяется в виде тепла.

Этапы катаболизма

1-й этап. На этом этапе макромолекулы расщепляются до своих мономеров (или строительных блоков). Так, полисахариды распадаются до моносахаридов (гексоз и пентоз); жиры — до глицерина и жирных кислот; белки — до аминокислот. Этот этап является специфическим, так как каждая макромолекула (полимер) своим набором ферментов расщепляется до мономеров. 1-й этап катализируется ферментами класса гидролаз. Он локализован в пищеварительном тракте для пищевых (экзогенных) макромолекул, а для эндогенных (находящихся в клетках организма) — в основном в лизосомах. Этот этап энергетической ценности не имеет. В нем выделяется менее 1% энергии, которая рассеивается в виде тепла.

2-й этап. Является специфическим путем катаболизма. На этом этапе каждый из мономеров своим собственным путем превращается в одну из карбоновых кислот. Моносахариды, глицерин и некоторые аминокислоты превращаются в пируват. Жирные кислоты и часть аминокислот — в ацетил-КоА (активную уксусную кислоту). Некоторые аминокислоты превращаются в оксалоацетат или 2-оксоглутарат. 2-й этап происходит в митохондриях и цитозоле клеток. Образующаяся при этом энергия выделяется в виде тепла и используется на синтез АТФ.

3-й этап. Является общим для разных классов веществ. На этом этапе пируват в процессе окислительного декарбоксилирования превращается в ацетил-КоА. Ацетил-КоА, оксалоацетат и 2-оксоглутарат окисляются в цикле Кребса. За один оборот цикла Кребса образуются 2 молекулы CO_2 . Водород, полученный в дегидрогеназных реакциях, присоединяется к НАД⁺ и ФАД, с образованием НАДН и ФАДН₂, которые окисляются в дыхательной цепи. При этом образуется вода, а выделившаяся энергия используется частично на синтез АТФ и частично рассеивается в виде тепла. Все реакции этого этапа локализованы в митохондриях.

Окислительное декарбоксилирование пирувата

Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кис-

лоты (пирувата) катализируется пируватдегидрогеназой (ПДГ). ПДГ — это комплекс из трех ферментов, для работы которого требуются следующие витамины: В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), РР (никотинамид), пантотеновая и липоевая кислоты. ПДГ осуществляет декарбоксилирование (отщепление карбоксильной группы) и окисление (отщепление водорода) молекулы пирувата.

Продукты реакции и их дальнейшие превращения:

CO₂. В основном выделяется с выдыхаемым воздухом, а также используется для карбоксилирования субстратов.

Ацетил-КоА. Расщепляется в цикле Кребса до CO_2 и H_2 ;

НАДН. Окисляется в дыхательной цепи.

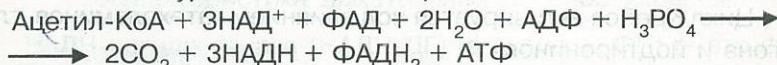
Регуляция ПДГ: ПДГ может быть в двух формах: фосфорилированной (неактивной) и дефосфорилированной (активной). АТФ, НАДН, ацетил-КоА, жирные кислоты ингибируют ПДГ, инсулин активирует.

Цикл Кребса

(цикл трикарбоновых кислот, цикл лимонной кислоты)

1. Ход реакций смотрите в учебнике Березова Т.Т., Коровкина Б.Ф. «Биологическая химия», 1990, стр.261-264.

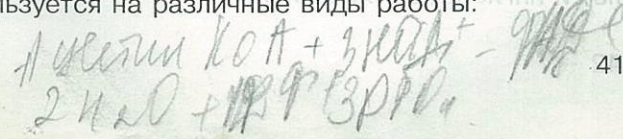
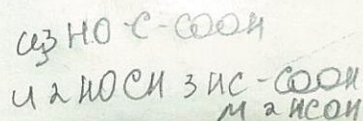
2. Итоговое уравнение цикла Кребса:



Таким образом, ацетил-КоА распадается в цикле Кребса до CO_2 и H_2 , который присоединяется к кофакторам дегидрогеназ. В ходе цикла Кребса образуется сукцинил-КоА, который содержит макроэргическую связь (первичный макроэрг). Гидролиз этой связи сопряжен с реакцией фосфорилирования АДФ, при этом образуется АТФ. Синтез АТФ с использованием энергии макроэргической связи субстрата называется субстратным фосфорилированием.

Конечные продукты цикла Кребса и пути их использования:

- CO_2 выдыхается с воздухом, небольшая часть используется в реакциях карбоксилирования.
- НАДН и ФАДН₂ окисляются в дыхательной цепи.
- АТФ используется на различные виды работы:



- 1) механическая работа (сокращение мышц, движение сперматозоидов, лейкоцитов);
- 2) осмотическая работа или активный транспорт, то есть движение против градиента концентрации;
- 3) химическая работа, когда энергия АТФ используется в биосинтетических процессах и на активацию субстратов;
- 4) электрическая работа (генерация биотоков);
- 5) при передаче гормонального сигнала (для работы аденилатциклазы и протеинкиназы).

Регуляция цикла Кребса

осуществляется путем влияния на ключевые ферменты: цитратсинтазу (начинает процесс), изоцитратдегидрогеназу (лимитирующий фермент), 2-оксоглутаратдегидрогеназу (фермент, стоящий на развилке).

Цитратсинтазу активируют оксалоацетат и ацетил-КоА, ингибируют АТФ, НАДН, длинноцепочные ацилы-КоА, сукцинил-КоА.

Изоцитратдегидрогеназа является аллостерическим ферментом. Ее активируют АДФ, Ca^{2+} , цАМФ. Ингибируют изоцитратдегидрогеназу АТФ, НАДН, НАДФН.

2-оксоглутаратдегидрогеназу активируют Ca^{2+} и цАМФ, ингибирует сукцинил-КоА.

Цикл Кребса активируется под влиянием катехоламинов, глюкагона и йодитронинов.

Значение цикла Кребса:

— **катаболическое и энергетическое** (цикл Кребса является общим конечным путем распада для метаболитов всех классов соединений; в нем образуется АТФ в результате субстратного фосфорилирования; он является главным поставщиком водорода для дыхательной цепи);

— **анаболическое** или биосинтетическое. Промежуточные метаболиты цикла Кребса используются на синтез других соединений. Например, из оксалоацетата, 2-оксоглутарата и сукцината образуются аминокислоты; из оксалоацетата — глюкоза и другие углеводы; сукцинил-КоА используется на синтез гема;

— **регуляторное**. Метаболиты — цитрат и АТФ являются регуляторами других процессов. Они активируют синтез жирных кислот и ингибируют гликолиз.

Дыхательная цепь

Дыхательная цепь (цепь переноса электронов) — это цепь сопряженных окислительно-восстановительных реакций, в ходе которых водород, отщепленный от субстратов, переносится на кислород с образованием воды и выделением энергии. Назначение дыхательной цепи — генерирование энергии.

Компоненты дыхательной цепи называются дыхательными переносчиками. Большинство из них (кроме убихинона) являются сложными белками.

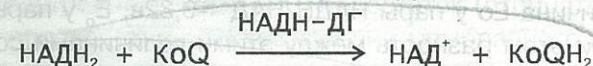
Схема дыхательной цепи



Характеристика дыхательных переносчиков:

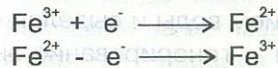
НАДН-дегидрогеназа (НАДН-ДГ) (в схеме — ФМН) — это флавинзависимый фермент, небелковой частью которого является ФМН и железо-серные центры. НАДН-ДГ встроена во внутреннюю мембрану митохондрий. Она осуществляет перенос водорода с НАДН вначале на ФМН с образованием ФМНН₂, затем переносит водород с ФМНН₂ на железо-серные центры и только потом на КоQ, при этом последний восстанавливается до КоQH₂.

Таким образом, НАДН-ДГ катализирует реакцию:



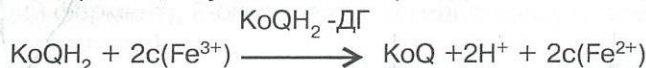
КоQ (убихинон) — это небелковый переносчик, растворимый в липидах. Восстановленная форма убихинона (КоQH₂) называется убихинолом. Убихинон может перемещаться в липидной фазе внутренней мембраны митохондрий, представляя, таким образом, лабильный субстрат для ферментов встроенных в мембрану.

Цитохромы (b, c₁, c, a, a₃) — это сложные белки, небелковой частью которых является гем, содержащий Fe³⁺. Принимая электрон, железо трехвалентное переходит в железо двухвалентное, отдавая электрон — переходит опять в трехвалентное.

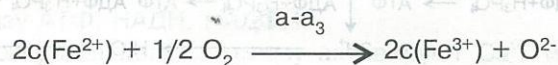


Комплекс цитохромов b-c₁ является ферментом (КоQН₂-дегидрогеназой). Он переносит электроны с КоQН₂ на цитохром c, при этом железо цитохрома восстанавливается до двухвалентного. Протоны атомов водорода выбрасываются в межмембранное пространство.

Таким образом, осуществляется реакция:



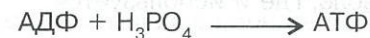
Комплекс цитохромов a-a₃ является оксидазой. Он переносит электроны с цитохрома c на кислород, превращая последний в ион (O²⁻). Цитохромоксидаза катализирует реакцию:



Ионы кислорода и протоны водорода взаимодействуют с образованием воды.

Перенос электронов по дыхательной цепи происходит по градиенту окислительно-восстановительного потенциала (E₀). Окислительно-восстановительный потенциал характеризует способность сопряженной окислительно-восстановительной пары обратимо отдавать электроны. Чем более отрицательна величина E₀, тем выше способность данной пары отдавать электроны, чем более положительна — тем выше способность принимать электроны. Величина E₀ у пары НАДН/НАД⁺ -0,32в, E₀ у пары Н₂О/О²⁻ +0,82в, при этом разность между этими величинами составляет 0,82-(-0,32)=1,14в. Этому соответствует разность свободной энергии — 220 кдж на пару переносимых электронов. Этого количества энергии достаточно для синтеза 4 молекул АТФ. Однако в дыхательной цепи синтезируется только 3 АТФ. Синтез АТФ происходит в тех участках дыхательной цепи, где наибольший перепад окислительно-восстановительного потенциала. В этих участ-

ках энергии выделяется столько, что ее достаточно для проведения реакции фосфорилирования АДФ.



Таким образом, в дыхательной цепи синтез АТФ (фосфорилирование) энергетически сопряжен с переносом электронов, то есть окислением дыхательных переносчиков.

Синтез АТФ, сопряженный с переносом электронов по дыхательной цепи, называется окислительным фосфорилированием.

Участки дыхательной цепи, где есть такой синтез, называют пунктами сопряжения окисления с фосфорилированием.

Пункты сопряжения: между НАДН и КоQ, на участке цитохромов b - c₁, и a - a₃.

Таким образом, окисление 1 молекулы НАДН приводит к синтезу 3 молекул АТФ, окисление 1 молекулы ФАДН₂ — к образованию 2 молекул АТФ.

Для работы цикла Кребса и дыхательной цепи требуются следующие витамины: В₁, В₂, РР, Q, пантотеновая и липоевая кислоты.

Механизм окислительного фосфорилирования

Компоненты электрон-транспортной цепи (дыхательной цепи) находятся во внутренней мембране митохондрий (непроницаемой для протонов водорода). Они расположены таким образом, что, передавая электроны по цепи, одновременно выталкивают протоны водорода на наружную сторону мембраны в межмембранное пространство. В результате, на наружной стороне мембраны создается избыток протонов водорода (положительный заряд), а с внутренней стороны — недостаток (отрицательный заряд). Это проявляется в возникновении мембранного электрохимического потенциала Δμ_{H⁺}, который складывается из разности зарядов на мембране (Δφ) и разности рН (снаружи более кислое, внутри — более щелочное). Протоны водорода могут возвращаться в матрикс по протонным каналам, с которыми связана специфическая Н⁺-АТФаза (АТФ-синтетаза). Обратный ток протонов по каналам в матрикс активирует этот фермент, и он катализирует синтез АТФ из АДФ и Н₃РО₄. Таким образом, энергия мембран-

ного потенциала преобразуется в энергию макроэргической связи АТФ. АТФ с помощью фермента транслоказы переносится из митохондрий в цитозоль, где и используется.

Сопряжение и разобщение в дыхательной цепи

Сопряжение в дыхательной цепи — это такое состояние, когда окисление (перенос электронов) сопровождается фосфорилированием, то есть синтезом АТФ.

Разобщение — это такое состояние дыхательной цепи, когда окисление идет, а фосфорилирование не происходит, то есть пункты фосфорилирования выключены полностью или частично. В этом случае вся или какая-то часть образующейся энергии выделяется в виде тепла. Сопряженность дыхательной цепи можно оценить по коэффициенту P/O. Коэффициент P/O равен числу молей АТФ, образующихся из АДФ и H_3PO_4 , на 1 грамм-атом поглощенного кислорода.

Разобщение в дыхательной цепи могут вызывать липофильные вещества, которые способны переносить протоны водорода с внешней стороны внутренней мембраны митохондрий на внутреннюю, минуя АТФ-синтазу. В результате вся энергия мембранного потенциала будет рассеиваться в виде тепла.

Разобщение вызывают: 2,4-ДНФ (динитрофенол), многие яды промышленных производств, бактериальные токсины, набухание митохондрий, жирные кислоты, ионофоры (вещества, переносящие ионы через мембрану).

Разобщители повышают скорость переноса электронов по дыхательной цепи и выводят ее из под контроля АТФ.

Регуляция дыхательной цепи

1. АДФ стимулирует работу дыхательной цепи. Это явление называется дыхательным контролем.
2. АТФ тормозит работу дыхательной цепи и потребление кислорода.
3. Адреналин и глюкагон активируют работу дыхательной цепи.

Блокаторы дыхательной цепи

1. Ротенон блокирует дыхательную цепь на участке НАДН — КоQ.

2. Амита, антимицин — на участке между цитохромами b и c_1 .
3. Цианиды и окись углерода блокируют цитохромоксидазу, при этом вся дыхательная цепь не работает.

Нефосфорилирующее (свободное) окисление

Это окисление без образования АТФ.

Ферменты свободного окисления: оксидазы, оксигеназы, некоторые дегидрогеназы.

Значение свободного окисления:

- терморегуляция;
- Образование биологически важных соединений (катехоламинов, глюкокортикостероидов, коллагена, активация витамина D и т.д.);
- обезвреживание ксенобиотиков (ядов, токсинов, лекарств, веществ бытовой химии).

Тканевые и возрастные особенности окислительных процессов

Анаэробные ткани могут получать энергию без кислорода. Такими тканями являются: скелетные мышцы, эритроциты, периферические нервы, мозговое вещество почек, кость, хрящ, соединительная ткань.

Аэробные ткани получают энергию с использованием кислорода и полностью зависят от кровотока. К таким тканям относятся: головной мозг, сетчатка глаза, сердце, кора почек, печень, слизистая тонкого кишечника.

Потребление кислорода, а значит, и интенсивность окислительных процессов с возрастом падают.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие №1

1. **Тема:** Введение в биоэнергетику. Цикл Кребса.
2. **Форма учебного процесса:** лабораторно-практическое занятие.
3. **Актуальность:** Является основой для понимания обмена веществ и причин возникновения гипозоэнергетических состояний.
4. **Цель общая:** При окислении...

4.1.1. Изучить основные этапы катаболизма и их роль в обеспечении организма энергией.

4.1.2. Научиться рассчитывать энергетическую ценность различных субстратов.

4.1.3. Научиться биохимическим приемам работы с окислительными ферментами в биологическом материале.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Отличия биологического окисления от окисления в неживой природе.
2. Этапы катаболизма.
3. Цикл Кребса, ход реакций, регуляцию и значение.

Уметь:

1. Выявить изменение активности окислительных ферментов в зависимости от термообработки пищевых продуктов.
2. Определять активность каталазы в крови и слюне.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Окисление и восстановление.
2. Виды окислительных реакций.
3. Ферменты: строение, свойства, регуляция активности.
4. Оксидоредуктазы.

По новой теме

1. Что понимают под терминами: анаболизм, катаболизм, метаболизм, биологическое окисление?
2. Отличия биологического окисления от окисления в неживой природе.
3. Этапы катаболизма.
4. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты.
5. Цикл Кребса: ход реакций, ферменты и витамины цикла, конечные продукты.
6. Значение цикла Кребса, его регуляция.

Рекомендуемая литература

1. Конспект лекций.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., Биологическая химия, 1990, стр. 204-225.

3. Николаев А.Я., Биологическая химия, 1989, стр. 199-222.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Изучение окислительных ферментов в биологическом материале».
2. Объяснить полученные результаты.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению задач (ориентировочные задачи и вопросы приведены ниже)

Лабораторная работа

1. Обнаружения альдегидоксидазы в молоке.

Оборудование: 1. Глазные пипетки.
2. Штатив с пробирками.
3. Термостат.

Реактивы: 1. 0,4% раствор формальдегида.
2. Метиленовая синь.
3. Растительное масло.
4. Молоко.

Принцип метода. Альдегидоксидаза молока является флавопротеидом, способным окислять альдегиды. При добавлении к некипяченому молоку формальдегида и метиленовой сини фермент окисляет альдегид в муравьиную кислоту, а освободившийся при этом водород передается на метиленовую синь, восстанавливая ее в бесцветное состояние. Реакцию используют, чтобы отличить кипяченое молоко от некипяченого.

Ход работы. В 2 пробирки наливают по 15 капель молока. Молоко в одной из них кипятят на спиртовке, затем охлаждают. В обе пробирки вносят по 1-2 капли 0,4% раствора формальдегида и по 1 капле раствора метиленовой сини. Содержимое пробирок перемешивают и добавляют несколько капель масла для создания анаэробных условий. Пробирки помещают в термостат при 37°C и отмечают постепенное обесцвечивание.

2. Дегидрогеназы цикла Кребса

Принцип метода. При окислении субстратов цикла Кребса ферментами скелетных мышц выделяется водород, который в

тканях акцептируется коферментами, а в пробирке переходит на искусственный акцептор — метиленовую синь. При этом она обесцвечивается. Опыт проводят в анаэробных условиях (под слоем масла) для предотвращения восстановления окраски сини.

Оборудование: 1. Глазные пипетки, пипетки на 1 мл.

2. Штатив с пробирками.

3. Термостат.

Реактивы:

1. 3% раствор цитрата натрия.

2. 3% раствор сукцината натрия.

3. 20% раствор сульфосалициловой кислоты.

4. Метиленовая синь.

5. Растительное масло.

6. Мышечная кашица.

Ход работы. В 3 пробирки вносят равные количества мышечной кашицы. В первую пробирку добавляют 1 мл 3% раствора цитрата натрия, во вторую — 1 мл 3% раствора сукцината натрия, в третью — 1 мл 20% раствора сульфосалициловой кислоты. Если между кусочками мышц остались пузырьки воздуха, их удаляют стеклянной палочкой. Затем в каждую пробирку добавляют по 2 капли метиленовой сини и несколько капель масла. Помещают пробирки в термостат при 37°C и наблюдают за обесцвечиванием сини. Объяснить, почему в пробирке с сукцинатом обесцвечивание идет быстрее, чем в пробирке с цитратом. Почему нет обесцвечивания в пробирке с сульфосалициловой кислотой?

3. Влияние малоната на активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ)

Оборудование: 1. Глазные пипетки, пипетки на 1 мл.

2. Штатив с пробирками.

3. Термостат.

Реактивы:

1. 3% раствор сукцината натрия.

2. 1% раствор малоната.

4. Метиленовая синь.

5. Растительное масло.

6. Мышечная кашица.

Малоновая кислота является конкурентным ингибитором СДГ.

Ход работы. В 3 пробирки вносят равные количества мышечной кашицы. В первую добавляют 0,4 мл воды, во вторую — 0,2 мл 1% раствора малоната, в третью — 0,4 мл 1% раствора малоната. Во все пробирки добавляют по 1 мл 3% раствора сукцината натрия и по 2 капли метиленовой сини, перемешивают и добавляют несколько капель масла. Пробирки помещают в термостат при 37°C, через 10 мин вынимают, сравнивают окраску и делают выводы.

4. Определение активности каталазы в слюне

Каталаза содержится во всех тканях и жидкостях организма, но особенно много ее в строме эритроцитов и печени. В процессе окисления некоторых веществ образуется пероксид водорода, ядовитый для организма. Каталаза расщепляет пероксид водорода на молекулярный кислород и воду.

Оборудование: 1. Пипетки на 1 мл.

2. Коническая мерная пробирка.

3. Химический стакан объемом 100 мл.

4. Штатив с пробирками.

Реактивы:

1. 0,9% раствор NaCl.

2. 10% раствор H_2SO_4 .

3. 1,5% раствор H_2O_2 .

4. 0,1н раствор $KMnO_4$.

Принцип метода. Метод основан на титрометрическом определении количества пероксида водорода, оставшегося в пробе после действия фермента. Пероксид водорода оттитровывают 0,1н раствором $KMnO_4$.

Ход работы. В две пробирки (контрольная и опытная) вносят по 1 мл 0,9% раствора NaCl, 0,3мл 1,5% раствора H_2O_2 и 0,5 мл неразведенной слюны. Опытную пробу оставляют на 15 мин при комнатной температуре, а в контрольную пробу сразу же после добавления слюны приливают 3 мл 10% H_2SO_4 и титруют 0,1 н раствором $KMnO_4$ до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей 30 сек. В опытную пробу через 15 мин инкубации тоже добавляют 3 мл 10% раствора H_2SO_4 и титруют так же, как контрольную.

Расчет активности каталазы проводят по формуле:

$$X = (K - O) \times 0,3 \text{ мг H}_2\text{O}_2/\text{мл в минуту, где}$$

K — количество KMnO_4 , пошедшее на титрование контроля,
O — количество KMnO_4 , пошедшее на титрование опыта,
0,3 — коэффициент, учитывающий титр H_2O_2 , количество слюны в пробе и время инкубации.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. Что такое дегидрогеназа?
2. Чем дегидрогеназы отличаются от оксидаз?
3. Приведите примеры известных вам дегидрогеназ и оксидаз.
4. Зачем в первом опыте использовали метиленовую синь и растительное масло?
5. С помощью какой биохимической реакции можно доказать, что молоко некипяченое?
6. К какому классу ферментов относится альдегидоксидаза? Какие реакции она катализирует?
7. Почему происходит обесцвечивание метиленовой сини?
8. Зачем пробирки с реакционной смесью помещают в термостат?
9. Напишите уравнение каталазной реакции. Какое значение в организме она имеет?
10. К какому классу ферментов относится каталаза?
11. Что является субстратом каталазы?
12. На чем основан принцип метода определения активности каталазы?
13. Где в организме встречается каталаза?
14. Как определить окончание титрования?
15. Как рассчитать активность каталазы? Приведите формулу.
16. В каких единицах выражается активность каталазы?

б) Ситуационные задачи

1. Как скажется на работе цикла Кребса недостаточность витаминов B_1 , B_2 , PP? Ответ поясните.
2. Выберите ферменты цикла Кребса, активность которых увеличится при повышении в митохондриях концентрации НАД^+ ?

3. К препарату митохондрий добавили оксалоацетат, меченый ^{14}C по углероду карбонильной группы. Какое положение займет меченый углерод после одного оборота цикла Кребса?

4. Напишите в формулах превращение цитрата в сукцинат. Назовите продукты этого превращения и их дальнейшее использование.

5. Какие изменения произойдут с реакциями цикла Кребса, если прекратится отток из него восстановленных эквивалентов (НАДН)? Ответ поясните.

Занятие №2

1. Тема: Дыхательная цепь. Нефосфорилирующее окисление.

2. Форма учебного процесса: практическое занятие.

3. Актуальность: Тканевое дыхание обеспечивает энергией весь организм в целом. Нарушение процессов тканевого дыхания приводит к гипоенергетическим состояниям, которые являются причиной многих патологических состояний.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить строение и значение дыхательной цепи, механизм окислительного фосфорилирования.

4.1.2. Научиться решать задачи.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Компоненты дыхательной цепи.
2. Ферменты дыхательной цепи.
3. Механизм окислительного фосфорилирования.
4. Нефосфорилирующее окисление.
5. Возрастные и тканевые особенности энергетического обмена.

Уметь:

1. Рассчитывать энергетический выход при окислении определенных субстратов.
2. Решать задачи, пользуясь изученным материалом.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень

1. Этапы катаболизма.

2. Значение и регуляция цикла Кребса.
3. Понятие о субстратном фосфорилировании.

По новой теме

1. Дыхательная цепь, ее компоненты и значение.
2. Окислительное фосфорилирование. Механизм.
3. Сопряжение и разобщение в дыхательной цепи.
4. Пути использования АТФ в организме.
5. Регуляция дыхательной цепи.
6. Нефосфорилирующее окисление и его функции в организме.
7. Активный кислород и антипероксидная система.
8. Классификация оксидоредуктаз.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

Ситуационные задачи

1. К препарату митохондрий добавили пируват, меченый ^{14}C по метильной группе. Какое положение займет ^{14}C в оксалоацетате после одного оборота цикла Кребса?

2. Сколько молекул АТФ синтезируется при окислении: одной молекулы пирувата до 2-оксоглутарата; одной молекулы изоцитрата до сукцината; одной молекулы сукцината до оксалоацетата, при условии, что дегидрогеназные реакции сопряжены с дыхательной цепью?

3. Ротенон (растительный яд) подавляет активность митохондриальной НАДН-дегидрогеназы. Антибиотик антимицин ингибирует окисление убинола. Если допустить, что оба эти вещества блокируют соответствующие участки дыхательной цепи с равной эффективностью, то какое из них сильнее нарушит тканевое дыхание?

4. Напишите реакции, которые ускоряются при введении в организм кокарбоксилазы.

5. Подберите каждому пронумерованному ферменту дыхательной цепи соответствующий кофермент, обозначенный буквами:

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

6. Как отразится передозировка барбитуратов на потребление кислорода клеткой?

7. 2,4-динитрофенол (ДНФ) сильный разобщитель, раньше использовали в качестве препарата, препятствующего ожирению. Однако, при этом иногда наблюдались смертельные исходы. Объясните, чем обосновывалось использование разобщителей как средства против ожирения и почему их использование может привести к смерти?

8. Выберите утверждения, которые правильно отражают особенности регуляции реакций общего пути катаболизма. Ответ поясните.

- а) изоцитратдегидрогеназа является аллостерическим ферментом;
- б) активность ПДГ не зависит от концентрации цитрата;
- в) скорость цикла Кребса не зависит от соотношения НАД⁺/НАДН;
- г) разобщители окисления и фосфорилирования не влияют на скорость реакций общего пути катаболизма.

9. Какое состояние, гипо- или гиперэнергетическое, будет в клетке при:

- нарушении кровообращения;
- гиповитаминозе РР, В₁, В₂;
- нарушении целостности митохондриальной мембраны;
- увеличении концентрации АТФ в митохондриях.

10. Подберите к пронумерованным метаболическим путям соответствующий буквенный ответ:

- | | |
|--|-------------------------|
| 1). Расщепление аминокислот до пирувата | А. Специфический путь |
| 2). Превращение глицерина в пируват | В. Неспецифический путь |
| 3). Расщепление аминокислот до ацетил-КоА | С. Общий путь |
| 4). Распад жирных кислот до ацетил-КоА | |
| 5). Превращение пирувата в ацетил-КоА | |
| 6). Распад ацетил-КоА до CO ₂ и H ₂ O. | |

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы

1. Что такое окисление?
2. Что такое восстановление?
3. Что понимают под биологическим окислением?
4. Перечислите способы передачи электронов.
5. Чем биологическое окисление отличается от окисления в неживой природе?
6. Какая окислительная реакция дает больше всего энергии?
7. Дайте характеристику этапам катаболизма.
8. Напишите в формулах пируватдегидрогеназную реакцию. Укажите продукты этой реакции и их дальнейшую судьбу.
9. Как регулируется пируватдегидрогеназа?
10. Напишите в формулах цикл Кребса.
11. Назовите субстраты и продукты цикла Кребса. Какова их дальнейшая судьба?
12. Охарактеризуйте дегидрогеназы. Приведите примеры дегидрогеназ цикла Кребса. Чем они отличаются друг от друга?
13. Что такое окислительное декарбоксилирование? Приведите примеры.
14. Что понимают под субстратным фосфорилированием? Напишите эту реакцию в формулах.
15. Какие витамины необходимы для работы цикла Кребса?
16. Каково значение цикла Кребса?
17. Назовите ключевые ферменты цикла Кребса и расскажите о их регуляции.
18. Где в клетке находятся ферменты цикла Кребса?
19. Какова связь цикла Кребса с дыхательной цепью?
20. Что такое дыхательная цепь?
21. Какие ферменты работают в дыхательной цепи? Назовите субстраты и продукты катализируемых ими реакций.
22. Какие процессы сопряжены в дыхательной цепи?
23. Что такое окислительное фосфорилирование?
24. Назовите пункты сопряжения окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи.
25. Расскажите о механизме окислительного фосфорилирования.

26. Как регулируется работа дыхательной цепи?
27. Что такое сопряжение и разобщение в дыхательной цепи?
28. Каков принцип действия разобщителей дыхательной цепи?
29. Назовите пути использования АТФ в организме.
30. Что такое свободное окисление?
31. Чем окислительное фосфорилирование отличается от субстратного?
32. Расскажите о тканевых и возрастных особенностях окислительных процессов.
33. Охарактеризуйте ферменты класса оксидоредуктаз.

Тесты

1. Анаболизм — это:

- а) синтез макроэргов;
- б) синтез сложных молекул из простых;
- в) распад биополимеров до мономеров;
- г) окисление глюкозы до пирувата;
- д) окисление жирных кислот до ацетил-КоА.

2. Ферменты, участвующие в окислительно-восстановительных процессах, относятся к классу:

- а) трансфераз;
- б) лиаз;
- в) оксидоредуктаз.

3. Специфическим этапом катаболизма является:

- а) первый этап;
- б) второй этап;
- в) третий этап.

4. Катаболизм — это:

- а) расщепление веществ с образованием энергии;
- б) синтез веществ с использованием энергии.

5. На первом этапе катаболизма происходит:

- а) расщепление полимеров до мономеров;
- б) окисление пирувата;
- в) окисление глицерина.

6. Последним этапом катаболизма является:

- а) окисление глюкозы;
- б) окисление жирных кислот;
- в) окисление глицерина;

- г) переаминирование аланина;
д) окисление пирувата и цикл Кребса.
- 7. Первый этап катаболизма локализован в:**
а) митохондриях;
б) микросомах;
в) лизосомах;
г) цитозоле;
д) ЖКТ, лизосомах.
- 8. Наибольшую энергию для жизнедеятельности клетки дает:**
а) распад белков до аминокислот;
б) распад углеводов до глюкозы;
в) распад жира до глицерина и жирных кислот;
г) работа дыхательной цепи в сопряженном режиме;
д) работа дыхательной цепи в разобщенном режиме.
- 9. Энергетическая ценность 3-го этапа катаболизма:**
а) 1%;
б) 20%;
в) 30%;
г) 50%;
д) 75-80%.
- 10. Биологическое окисление — это:**
а) совокупность всех химических реакций организма;
б) совокупность анаболических реакций;
в) совокупность катаболических реакций;
г) совокупность окислительно-восстановительных реакций.
- 11. Сукцинатдегидрогеназа катализирует переход:**
а) сукцинил-КоА → сукцинат;
б) 2-оксоглутарат → сукцинил-КоА;
в) изоцитрат → 2-оксоглутарат;
г) сукцинат → фумарат;
д) малат → оксалоацетат.
- 12. Реакцию образования цитрата в цикле Кребса катализирует:**
а) сукцинилтиокиназа;
б) малатдегидрогеназа;
в) цитратсинтаза;
г) фумараза;
д) изоцитратдегидрогеназа.

- 13. Переход изоцитрата в 2-оксоглутарат катализирует:**
а) сукцинилтиокиназа;
б) малатдегидрогеназа;
в) цитратсинтаза;
г) фумараза;
д) изоцитратдегидрогеназа.
- 14. Переход сукцинил-КоА в сукцинат катализирует:**
а) сукцинилтиокиназа;
б) малатдегидрогеназа;
в) цитратсинтаза;
г) фумараза;
д) изоцитратдегидрогеназа.
- 15. Переход малата в оксалоацетат катализирует:**
а) сукцинилтиокиназа;
б) малатдегидрогеназа;
в) цитратсинтаза;
г) фумараза;
д) изоцитратдегидрогеназа.
- 16. Переход фумарата в малат катализирует:**
а) сукцинилтиокиназа;
б) малатдегидрогеназа;
в) цитратсинтаза;
г) фумараза;
д) изоцитратдегидрогеназа.
- 17. Субстратное фосфорилирование в цикле Кребса происходит на этапе:**
а) малат → оксалоацетат;
б) сукцинат → фумарат;
в) 2-оксоглутарат → сукцинил-КоА;
г) сукцинил-КоА → сукцинат;
д) цитрат → изоцитрат.
- 18. Ключевыми ферментами цикла Кребса являются:**
а) пируватдегидрогеназа;
б) изоцитратдегидрогеназа;
в) 2-оксоглутаратдегидрогеназа;
г) малатдегидрогеназа;
д) цитратсинтаза.

19. Ключевые ферменты цикла Кребса находятся:
а) во внутренней мембране митохондрий;
б) в матриксе;
в) во внешней мембране митохондрий.
20. Макроэргическими называют связи, при разрыве которых выделяется:
а) 10 кДж энергии;
б) свыше 30 кДж энергии;
в) 60 кДж энергии.
21. В молекуле АТФ макроэргических связей:
а) 3;
б) 2;
в) 6.
22. В молекуле АДФ макроэргических связей:
а) 2;
б) 1;
в) 3.
23. Макроэргическую связь имеют:
а) ацетил-КоА;
б) цитрат;
в) пируват;
г) сукцинил-КоА.
24. В цикле Кребса путем субстратного фосфорилирования образуется:
а) 3 АТФ;
б) 2 АТФ;
в) 1 АТФ.
25. В состав малатдегидрогеназы входит:
а) НАД⁺;
б) ФАД;
в) ФМН.
26. В состав сукцинатдегидрогеназы входит:
а) НАД⁺;
б) НАДФ⁺;
в) ФАД;
г) ФМН.
27. В состав пируватдегидрогеназы входят:
а) НАД⁺;

- б) НАДФ⁺;
в) ФАД;
г) ФМН;
д) тиаминдифосфат;
е) липоевая кислота;
ж) пантотеновая кислота.

28. Значение цикла Кребса:

- а) энергетическое и катаболическое;
б) синтетическое;
в) регуляторное.

29. Цикл Кребса ингибируется под влиянием:

- а) АТФ;
б) НАДН;
в) АДФ.

30. Цикл Кребса активируется под влиянием:

- а) АТФ;
б) НАДН;
в) АДФ.

31. На 2-м этапе катаболизма:

- а) мономеры расщепляются до карбоновых кислот;
б) лактат превращается в глюкозу.

32. Второй этап катаболизма локализован в:

- а) митохондриях;
б) лизосомах;
в) цитозоле.

33. Дыхательной цепью называется:

- а) цепь биосинтетических ферментов;
б) цепь окислительно-восстановительных ферментов;
в) цепь ферментов — трансфераз;
г) цепь ферментов — изомераз;
д) цепь ферментов — лиаз.

34. Ферменты дыхательной цепи в митохондриях располагаются:

- а) в матриксе;
б) во внутренней мембране;
в) в межмембранном пространстве.

35. Компонентами дыхательной цепи являются:

- а) НАД⁺;

- б) НАДФ⁺;
- в) ФАД;
- г) ФМН;
- д) Коэнзим Q;
- е) цитохромы.

36. Цитохромы по химической природе — это:

- а) сложные липиды;
- б) сложные белки;
- в) гликопротеиды;
- г) простые белки;
- д) липопротеиды.

37. Движущей силой переноса протонов и электронов по дыхательной цепи является:

- а) изменение электрохимического потенциала;
- б) изменение окислительно-восстановительного потенциала;
- в) изменение pH;
- г) гидролиз АТФ;
- д) окисление-восстановление.

38. Энергия окислительно-восстановительных реакций дыхательной цепи на мембране митохондрий запасается в виде:

- а) АТФ;
- б) АДФ;
- в) НАДФН₂;
- г) Δμ_H;
- д) ΔpH.

39. Поступление в дыхательную цепь атомов водорода от НАДН и сукцината осуществляется при участии:

- а) флавопротеидов;
- б) гемпротеидов;
- г) оксидаз;
- д) гидроксилаз.

40. Процесс синтеза АТФ, идущий сопряженно с реакциями окисления при участии системы дыхательных ферментов митохондрий, называется:

- а) субстратным фосфорилированием;
- б) свободным окислением;

- в) окислительным фосфорилированием;
- г) фотосинтетическим фосфорилированием.

41. Свободное окисление — это:

- а) окисление, не связанное с синтезом АТФ;
- б) окисление, связанное с синтезом АТФ;
- в) окисление, энергия которого выделяется в виде тепла;
- г) окисление, энергия которого может использоваться на транспорт ионов;
- д) окисление, энергия которого может использоваться на транспорт субстратов.

42. Реакция: Субстрат + НАД⁺ → продукт + НАДН + Н⁺ — катализируется:

- а) НАД-зависимой дегидрогеназой;
- б) ФАД-зависимой дегидрогеназой;
- в) цитохромоксидазой.

43. $QH_2 + 2 c(Fe^{3+}) \rightarrow Q + 2H^+ + 2 c(Fe^{2+})$

Данную реакцию цепи переноса электронов катализирует:

- а) ФАД-зависимая дегидрогеназа;
- б) НАДН-дегидрогеназа;
- в) QH_2 — дегидрогеназа.

44. $НАДН_2 + Q \rightarrow НАД^+ + QH_2$

Данная реакция цепи переноса электронов катализируется:

- а) НАДН-дегидрогеназой;
- б) ФАД-зависимая дегидрогеназой;
- в) цитохромоксидазой.

45. $c(Fe^{2+}) + 1/2 O_2 \rightarrow c(Fe^{3+}) + H_2O$

Данная реакция цепи переноса электронов катализируется:

- а) НАД-зависимой дегидрогеназой;
- б) ФАД-зависимой дегидрогеназой;
- в) QH_2 -дегидрогеназой;
- г) цитохромоксидазой.

46. К регуляторам дыхательной цепи относятся:

- а) АДФ;
- б) 2,4-ДНФ;
- в) бактериальный токсин;
- г) KCN;
- д) ДНК.

47. Разобщители окислительного фосфорилирования:

- а) увеличивают синтез АТФ;
- б) ингибируют работу дыхательной цепи;
- в) снижают потребление кислорода;
- г) увеличивают выработку тепла, снижают синтез АТФ, увеличивают потребление кислорода;
- д) усиливают выработку тепла, снижают синтез АТФ, снижают потребление кислорода.

48. Признаком разобщения при окислении НАД-зависимых субстратов является:

- а) $P/O = 3$;
- б) $P/O = 2$;
- в) $P/O = 1$;
- г) $P/O = 0$.

49. Сопряжение — это состояние дыхательной цепи, при котором:

- а) большая часть энергии выделяется в виде тепла;
- б) большая часть энергии идет на транспорт ионов;
- в) большая часть энергии запасается в виде АТФ;
- г) большая часть энергии идет на транспорт субстратов;
- д) большая часть энергии запасается в виде НАДФН₂.

50. АДФ изменяет работу дыхательной цепи следующим образом:

- а) активирует, уменьшает потребление кислорода;
- б) ингибирует, увеличивает потребление кислорода;
- в) не влияет;
- г) активирует, увеличивает потребление кислорода;
- д) ингибирует, уменьшает потребление кислорода.

51. АТФ-синтетаза осуществляет синтез АТФ за счет энергии:

- а) окислительно-восстановительного потенциала;
- б) изменения рН по разные стороны мембраны митохондрий;
- в) электрохимического потенциала;
- г) энергии, выделяющейся при преобразовании субстратов.

52. При сопряжении дегидрогеназной реакции цикла Креб-

са с дыхательной цепью окисление 1 моля изоцитрата до 2-оксоглутарата дает:

- а) 1 моль АТФ;
- б) 2 моль АТФ;
- в) 3 моль АТФ;
- г) ни одной АТФ.

53. При сопряжении дегидрогеназной реакции цикла Кребса с дыхательной цепью окисление 1 моля 2-оксоглутарата до сукцинил-КоА дает:

- а) 1 моль АТФ;
- б) 2 моль АТФ;
- в) 3 моль АТФ;
- г) ни одной.

54. При недостатке витамина РР снизится активность:

- а) малатдегидрогеназы;
- б) сукцинатдегидрогеназы;
- в) пируватдегидрогеназы;
- г) НАДН-дегидрогеназы;
- д) изоцитратдегидрогеназы.

55. При сопряжении дегидрогеназной реакции цикла Кребса с дыхательной цепью окисление 1 моля сукцината до фумарата дает:

- а) 1 моль АТФ;
- б) 2 моль АТФ;
- в) 3 моль АТФ;
- г) ни одной.

56. При сопряжении дегидрогеназной реакции цикла Кребса с дыхательной цепью окисление 1 моля малата до оксалоацетата дает:

- а) 1 моль АТФ;
- б) 2 моль АТФ;
- в) 3 моль АТФ;
- г) ни одной.

57. Потребление кислорода в дыхательной цепи увеличивают:

- а) АТФ;

- б) АДФ;
- в) 2,4-ДНФ;
- г) KCN.

58. При сопряжении дегидрогеназных реакций с дыхательной цепью окисление 1 моля пирувата до CO_2 и H_2O дает:

- а) 2 АТФ;
- б) 3 АТФ;
- в) 5 АТФ;
- г) 12 АТФ;
- д) 15 АТФ.

59. При сопряжении дегидрогеназных реакций с дыхательной цепью окисление 1 моля ацетил-КоА до CO_2 и H_2O дает:

- а) 2 АТФ;
- б) 3 АТФ;
- в) 5 АТФ;
- г) 12 АТФ;
- д) 15 АТФ.

60. При сопряжении дегидрогеназной реакции с дыхательной цепью окисление 1 моля пирувата до ацетил-КоА дает:

- а) 2 АТФ;
- б) 3 АТФ;
- в) 5 АТФ;
- г) 12 АТФ;
- д) 15 АТФ.

61. При сопряжении дегидрогеназных реакций цикла Кребса с дыхательной цепью окисление 1 моля сукцината до оксалоацетата дает:

- а) 2 АТФ;
- б) 3 АТФ;
- в) 5 АТФ;
- г) 12 АТФ;
- д) 15 АТФ.

62. Разобщителями дыхательной цепи являются:

- а) 2,4-динитрофенол;
- б) антимицин;
- в) жирные кислоты;

- г) тироксин;
- д) цианиды;
- е) грамицидин;
- ж) барбитураты.

63. Дыхательную цепь ингибируют:

- а) 2,4-динитрофенол;
- б) антимицин;
- в) жирные кислоты;
- г) тироксин;
- д) цианиды;
- е) грамицидин;
- ж) барбитураты (амитал);
- з) оксид углерода.

64. АТФ удаляется из митохондрий с помощью:

- а) АТФ-синтетазы;
- б) АТФ-трансферазы;
- в) адениннуклеотидтранслоказы.

65. АДФ переносится в митохондрии с помощью:

- а) АТФ-синтетазы;
- б) АТФ-трансферазы;
- в) адениннуклеотидтранслоказы.

66. В присутствии 2,4-динитрофенола скорость синтеза АТФ:

- а) снизится;
- б) увеличится;
- в) не изменится.

67. При отравлении оксидом углерода скорость синтеза АТФ:

- а) увеличится;
- б) не изменится;
- в) уменьшится.

68. Для получения цитрата в цикле Кребса используются следующие вещества:

- а) ацетил-КоА;
- б) 2-оксоглутарат;
- в) оксалоацетат;
- г) H_2O ;
- д) цитратсинтаза;
- е) АТФ.

69. Для работы цикла Кребса необходимы следующие витамины:

- а) А;
- б) В₁;
- в) Д;
- г) РР;
- д) Н;
- е) В₂;
- ж) липоевая кислота;
- з) пантотеновая кислота.

70. Синтез АТФ, сопряженный с обратной диффузией протонов через мембрану, осуществляется:

- а) Н⁺-АТФ-синтетазой;
- б) фосфоенолпируваткиназой;
- в) фосфорилазой.

Глава 4. Углеводный обмен

Раздел 1. Значение изучаемой темы

Знание обмена углеводов необходимо будущему врачу любой специальности. Углеводы являются одним из главных источников энергии для организма, а также важным компонентом многих внутриклеточных и внеклеточных структур; из углеводов образуются вещества других классов (жиры и заменимые аминокислоты). Нарушения в обмене углеводов приводят к таким заболеваниям как гликогенозы, дисахаридозы, галактоземия, фруктозурия. Знание гормональной регуляции обмена углеводов в целом и уровня глюкозы в крови, в частности, необходимо для правильного прочтения, оценки и использования данных биохимических анализов при постановке диагноза и лечения таких заболеваний как сахарный диабет, феохромоцитома, стероидный диабет и других.

Раздел 2. Сведения об углеводном обмене

Функции углеводов

Углеводы — это оксипроизводные многоатомных спиртов и продукты их конденсации. В организме человека выполняют важные функции:

- обеспечивают значительную часть энергетических потребностей (около 57% суточного калогенеза);
- являются составными частями более сложных соединений;
- из них могут синтезироваться соединения других классов, в частности, липиды и заменимые аминокислоты;
- выполняют структурообразовательную функцию, то есть входят в состав клеточных и межклеточных структур;
- выполняют специфические функции.

Переваривание и всасывание углеводов

Попадающие с пищей углеводы подвергаются в организме **перевариванию**. В этом процессе участвуют следующие ферменты:

- α -амилаза слюны и α -амилаза поджелудочной железы. Эти

ферменты расщепляют α -1,4-гликозидные связи в крахмале и гликогене, действуют в слабощелочной среде, активируются ионами хлора и стабилизируются ионами кальция;

— амило-1,6-гликозидаза вырабатывается в кишечнике, расщепляет 1,6-гликозидные связи в крахмале и гликогене;

— сахараза образуется в кишечнике и расщепляет сахарозу с образованием глюкозы и фруктозы;

— мальтаза образуется в кишечнике и расщепляет мальтозу на две молекулы глюкозы;

— лактаза образуется там же, расщепляет лактозу с образованием галактозы и глюкозы.

Таким образом, пищевые углеводы в ЖКТ расщепляются до моносахаридов — глюкозы, фруктозы и галактозы, которые всасываются путем активного транспорта или диффузно и попадают в кровь, а затем в печень.

Роль печени в обмене углеводов

Печень в обмене углеводов выполняет важные функции:

1. Унификация моносахаридов. Превращение галактозы и фруктозы в глюкозу или метаболиты ее обмена.

2. Гликогенная функция. При избытке глюкозы в крови в печени происходит синтез гликогена, при ее снижении в крови гликоген печени расщепляется до глюкозы и, таким образом, ее концентрация в крови восстанавливается до нормального уровня.

3. Синтез углеводов из метаболитов неуглеводного характера (глюконеогенез).

4. Синтез гликопротеинов крови.

5. Образование глюкуроновой кислоты, которая участвует в обезвреживании экзогенных и эндогенных токсинов (например, билирубина), а также в инактивации гормонов.

Образование активной формы глюкозы и значение этой реакции

Активация глюкозы происходит путем фосфорилирования под действием ферментов *киназ*. В печени работают две *киназы*: *гексокиназа* и *глюкокиназа*, в других органах, в том числе и в мышцах, — *гексокиназа*. Эти ферменты катализируют перенос H_3PO_4 с АТФ на глюкозу с образованием глюкозо-6-фосфата. Различие между этими ферментами заключается в разном сродстве к глю-

козе. У *гексокиназы* оно выше, чем у *глюкокиназы*. Поэтому мышца, а не печень, в первую очередь будет использовать глюкозу. Но когда глюкозы много в крови, тогда и печень будет получать глюкозы достаточно и синтезировать гликоген. Глюкозо-6-фосфат является центральным метаболитом углеводного обмена, имеет более высокую энергию по сравнению с глюкозой и легко вступает в дальнейшие превращения. Кроме того, в отличие от глюкозы, глюкозо-6-фосфат не может выходить из клеток.

Синтез и распад гликогена

Синтез гликогена происходит с участием нескольких ферментов: *гексокиназы*, *фосфоглюкомутазы* (переводит глюкозо-6-фосфат в глюкозо-1-фосфат), *уридилтрансферазы* (образует УДФ-глюкозу), *гликогенсинтетазы* (переносит глюкозу с УДФ-глюкозы на имеющуюся молекулу гликогена и присоединяет ее 1,4-гликозидной связью). Таким образом, чтобы удлинить молекулу гликогена на одно звено глюкозы необходимо затратить 2 макроэрга (АТФ и УТФ). Ветвление гликогена происходит под влиянием ветвящего фермента.

Распад гликогена происходит двумя путями:

1. Гидролитический путь идет в лизосомах клеток под действием γ -амилазы при участии воды без образования промежуточных продуктов.

2. Фосфоролитический путь (фосфоролиз) идет в цитоплазме под действием фосфорной кислоты с образованием промежуточных продуктов, катализируется несколькими ферментами.

Оба способа расщепления гликогена приводят к образованию глюкозы. В мышцах фосфоролиз заканчивается на глюкозо-6-фосфате, так как в них нет глюкозо-6-фосфатазы. Таким образом, только печень является источником глюкозы для крови.

Ключевыми ферментами синтеза гликогена являются: *гексокиназа* и *гликогенсинтетаза*, распада гликогена — *фосфорилаза* и *глюкозо-6-фосфатаза*. Синтез гликогена усиливается инсулином, распад стимулируется катехоламинами, глюкагоном, глюкокортикостероидами, цАМФ и Ca^{2+} .

Гликолиз. Значение. Регуляция.

Гликолиз — это расщепление глюкозы до молочной кислоты

в анаэробных условиях. Гликолиз, проходящий в аэробных условиях, называют аэробным.

Гликолиз состоит из двух стадий: подготовительной и главной.

В подготовительной стадии глюкоза расщепляется с образованием диоксиацетонфосфата (ДОАФ) и 3-фосфоглицеринового альдегида, при этом расходуются 2 молекулы АТФ;

В главной стадии фосфотриозы превращаются в лактат (молочную кислоту), при этом образуются 4 молекулы АТФ. Синтез АТФ в гликолизе происходит путем субстратного фосфорилирования.

Таким образом, анаэробное окисление глюкозы приводит к образованию 2 молекул лактата и 2 молекул АТФ.

Ключевыми ферментами гликолиза являются: гексокиназа (начальный фермент), фосфофруктокиназа (лимитирующий фермент), пируваткиназа. АТФ и цитрат ингибируют фосфофруктокиназу, АДФ — активирует.

Преимущества гликолиза:

- быстрый процесс;
- анаэробный.

Недостатки гликолиза:

- малоэффективный процесс;
- продуктом гликолиза является лактат, накопление которого в клетках и в крови вызывает метаболический ацидоз.

Гликогенолиз — это анаэробное окисление гликогена с образованием молочной кислоты. Окисление каждой отщепленной от гликогена молекулы глюкозы приводит к образованию 3 молекул АТФ. Ключевыми ферментами гликогенолиза являются: фосфорилаза, фосфофруктокиназа и пируваткиназа. Гликогенолиз усиливается катехоламинами, глюкагоном, цАМФ, Ca^{2+} .

Глюконеогенез

Глюконеогенез — это синтез глюкозы из неуглеводных предшественников (лактата, пирувата, оксалоацетата, глицерина, аминокислот). По направлению реакций глюконеогенез (ГНГ) напоминает гликолиз наоборот. Однако ГНГ не является простым обращением гликолиза, так как в нем три фермента (гексокиназа, фосфофруктокиназа, пируваткиназа) катализируют необратимые

реакции и поэтому в глюконеогенезе работать не могут. Они заменяются другими ферментами. Так, пируваткиназа заменена двумя ферментами пируваткарбоксилазой и фосфоенолпируваткарбоксикиназой (ФЕПКК); фосфофруктокиназа — фруктозо-1,6-дифосфатазой; гексокиназа — глюкозо-6-фосфатазой.

На образование 1 молекулы глюкозы расходуется 6 макроэргов (4 АТФ и 2 ГТФ). ГНГ локализован в цитоплазме гепатоцитов печени, в клетках коры почек и тонкого кишечника. Около 90% лактата, используемого в глюконеогенезе, поступает в печень, 10% — в почки и тонкий кишечник.

Значение глюконеогенеза

1. Является важным источником глюкозы в организме;
2. Удаляет большую часть лактата из клеток и тканей, работающих в анаэробных условиях, что предохраняет их от метаболического ацидоза. ГНГ особенно важен после интенсивной мышечной работы, когда накапливается лактат. 20-30% лактата может окисляться до CO_2 и H_2O в самой мышце, 70-80% используется в ГНГ на образование глюкозы. Так как в мышце нет ГНГ, лактат из нее поступает в кровь, затем в печень, где превращается в глюкозу, которая кровью разносится всем органам и тканям, в том числе и мышцам. Таким образом, между печенью и мышцей существует взаимосвязь, так называемый цикл Кори (глюкозо-лактатный цикл).

Регуляция глюконеогенеза

Ключевыми ферментами ГНГ являются: пируваткарбоксилаза, ФЕПКК, фруктозо-1,6-дифосфатаза, глюкозо-6-фосфатаза.

ГНГ усиливают: глюкагон, катехоламины, глюкокортикостероиды, ацетил-КоА, АТФ, цАМФ, Ca^{2+} . Тормозят глюконеогенез: инсулин, АДФ, этанол.

Источники глюкозо-6-фосфата: 1) во всех клетках образуется из глюкозы в ходе гексокиназной реакции; 2) в печени и мышцах образуется в ходе фосфоролиза из гликогена; 3) в печени, мышцах, тонком кишечнике — в результате ГНГ; 4) в печени — в результате унификации моносахаридов.

Пути использования глюкозо-6-фосфата: 1) синтез гликогена; 2) окисление до лактата в анаэробных условиях и до CO_2 и

H₂O в аэробных; 3) окисление в пентозофосфатном пути; 4) превращение в глюкозу (в печени, тонком кишечнике и коре почек).

Пентозофосфатный путь (ПФП)

Это прямое окисление глюкозо-6-фосфата. Состоит из двух частей: окислительной (необратимой) и неокислительной (обратимой). В ходе окислительной части ПФП при участии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы глюкозо-6-фосфат окисляется с образованием рибозо-5-фосфата, CO₂, 2 молекул НАДФН. В неокислительной части ПФП из каждых трех молекул рибозо-5-фосфата образуются 1 молекула фосфоглицеринового альдегида и 2 молекулы фруктозо-6-фосфата. Дальнейшая судьба этих метаболитов известна: они могут либо окисляться в гликолизе и, в зависимости от условий, превращаться в лактат или пируват, либо использоваться в ГНГ на образование глюкозы. Если метаболиты окислительной части ПФП будут использоваться в ГНГ, тогда будет иметь место замыкание процесса, то есть ПФП примет вид цикла. Для протекания неокислительной части ПФП необходим витамин В₁.

Значение ПФП: 1) энергетическое — образующиеся метаболиты окислительной части могут использоваться в гликолизе; 2) синтетическое — связано с использованием рибозо-5-фосфата и НАДФН. Рибозо-5-фосфат используется на синтез нуклеотидов, которые необходимы для образования коферментов, макроэргов, нуклеиновых кислот. НАДФН необходим для *восстановительных биосинтезов* (для работы редуктаз в синтезе холестерина и жирных кислот; в образовании дезоксирибозы из рибозы; для восстановления глутатиона, в образовании глутамата из 2-оксоглутарата); для работы *гидроксилаз*, участвующих в синтезе катехоламинов, серотонина, стероидных гормонов, желчных кислот, активной формы витамина Д, синтезе коллагена, обезвреживании ксенобиотиков; *используется в трансгидрогеназной реакции*.

ПФП локализован в цитозоле клеток. Он особенно активен в тканях эмбриона и плода, лимфоидной и миелоидной тканях, слизистой тонкого кишечника, жировой ткани, эндокринных железах (надпочечники, половые), молочных железах (в период лактации), печени, эритроцитах, пульпе зуба, зачатках эмали зуба, при гипертрофии органов. ПФП мало активен в нервной, мышечной и

соединительной тканях. ПФП способствует прозрачности хрусталика глаза; предупреждает гемолиз эритроцитов; входит в систему защиты от свободных радикалов и активных форм кислорода.

Регуляция ПФП: ключевыми ферментами являются — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, транскетолаза. Активность ПФП увеличивается при повышении отношения НАДФ⁺/НАДФН, а также под влиянием инсулина и йодтиронинов. ПФП ингибируют глюкокортикостероиды.

Глюкоза крови

Концентрация глюкозы в крови поддерживается на постоянном уровне 3,3 — 5,5 ммоль/л. Он обеспечивается двумя противоположно направленными процессами: 1. *поставляющими* глюкозу в кровь (переваривание углеводов в ЖКТ, ГНГ, распад гликогена печени) и 2. *использующими* глюкозу в тканях (гликолиз, синтез гликогена, ПФП, синтез жира). При очень высокой концентрации глюкозы в крови (> 9 — 10 ммоль/л), она может быть снижена за счет выведения ее с мочой. Такое явление называют глюкозурией. В норме концентрация глюкозы в моче составляет 0,2 — 1,2 ммоль/л.

Регуляция глюкозы крови гормонами

Гормоны, повышающие концентрацию глюкозы в крови, называются гипергликемическими, к ним относятся: глюкагон, катехоламины, глюкокортикостероиды и соматотропин (соматотропный гормон). Гормоны, снижающие концентрацию глюкозы в крови, называются гипогликемическими. Гипогликемическим гормоном является инсулин. Гипергликемические гормоны повышают глюкозу крови за счет усиления распада гликогена печени и стимуляции ГНГ. Инсулин снижает глюкозу крови благодаря: 1) увеличению проницаемости клеточных мембран для глюкозы; 2) ингибированию процессов, поставляющих глюкозу (ГНГ, распад гликогена печени); 3) усилению процессов, использующих глюкозу (гликолиз, синтез гликогена, ПФП, синтез жира).

Патологии углеводного обмена

Среди патологий углеводного обмена можно выделить такие,

причиной которых является наследственная или приобретенная недостаточность ферментов. К таким болезням относятся дисахаридозы, гликогенозы, агликогенозы, галактоземия.

Дисахаридозы вызваны недостаточностью дисахаридаз. При этом возникает непереносимость отдельных видов углеводов, например лактозы. Дисахариды подвергаются действию ферментов микрофлоры кишечника. При этом образуются кислоты и газы. Симптомами дисахаридозов являются метеоризм, понос.

Гликогенозы. В этом случае нарушен распад гликогена. Гликоген накапливается в клетках в больших количествах, что может привести к их разрушению. Клинические симптомы: увеличение размеров печени, мышечная слабость, гипогликемия натошак. Известно несколько типов гликогенозов. Они могут быть вызваны недостаточностью глюкозо-6-фосфатазы, фосфорилазы или γ -амилазы.

Агликогенозы вызываются недостаточностью ферментов, участвующих в синтезе гликогена. В результате нарушается синтез гликогена и снижается его содержание в клетках. Симптомы: резкая гипогликемия натошак, особенно после ночного перерыва в кормлении. Гипогликемия приводит к отставанию в умственном развитии. Больные погибают в детском возрасте.

Галактоземия возникает при отсутствии гена, отвечающего за синтез уридилтрансферазы — ключевого фермента унификации галактозы. В результате в тканях накапливается галактоза и галактозо-1-фосфат, вызывая повреждение головного мозга и печени, а также помутнение хрусталика (катаракту). Свободная галактоза у таких больных в больших количествах обнаруживается в крови. Для лечения используется диета без молока и молочных продуктов.

Другим видом патологий углеводного обмена является нарушение гомеостаза глюкозы, которое характеризуется гипер- или гипогликемией.

Гипергликемия — это повышение концентрации глюкозы в крови. **Причины гипергликемии:** 1) алиментарная (пищевая); 2) сахарный диабет (возникает при недостатке инсулина); 3) патология ЦНС (менингит, энцефалит); 4) стресс; 5) избыток гипергликемических гормонов; 6) повреждение островков поджелудочной железы (панкреатит, кровоизлияния). Невысокая и кратков-

ременная гипергликемия не опасна. Длительная гипергликемия приводит к истощению запасов инсулина (что является одной из причин сахарного диабета), потере воды тканями, поступлению ее в кровь, увеличению кровяного давления, увеличению диуреза. Гипергликемия в 50-60 ммоль/л может привести к гиперосмолярной коме.

Длительная гипергликемия приводит к неферментативному гликозилированию белков плазмы крови, эритроцитов, кровеносных сосудов, почечных канальцев, нейронов, хрусталика, коллагена. Это изменяет их свойства, что является причиной тяжелых осложнений: тканевых гипоксий, склерозирования сосудов, катаракты, почечной недостаточности, нарушения нервной проводимости, снижения срока жизни эритроцитов и т.д.

Гипогликемия — это снижение концентрации глюкозы в крови.

Причины гипогликемии: 1) пищевая; 2) усиленное использование глюкозы (при тяжелой мышечной работе); 3) патология ЖКТ (воспалительные процессы); 4) патология печени; 5) патология ЦНС; 6) недостаток гипергликемических гормонов; 7) избыток инсулина (опухоль поджелудочной железы, передозировка инсулина). Гипогликемия очень опасна, так как приводит к гипогликемической коме.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1

1. Тема: Переваривание углеводов. Обмен гликогена.

2. Форма учебного процесса: Лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Углеводы играют важную роль в жизнедеятельности организма, так как входят в состав структурных элементов клеток всех органов и тканей, являются важным источником энергии. Студенты должны хорошо изучить данный раздел, поскольку с нарушениями обмена углеводов связаны такие заболевания как дисахаридозы, гликогенозы, агликогенозы и другие.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить переваривание углеводов и пути использования продуктов, роль печени в обмене углеводов, биохимические основы патологии процессов обмена углеводов.

4.1.2. Научиться определять активность амилазы в крови, слюне и моче, оценивать полученные результаты.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Определение и классификация углеводов.
2. Строение моносахаридов, дисахаридов и полисахаридов.
3. Функции углеводов.
4. Переваривание углеводов пищи.
5. Роль печени в обмене углеводов.
6. Обмен гликогена. Регуляция обмена гликогена.
7. Патология обмена углеводов.

Уметь:

1. Использовать знание данной темы для решения ситуационных задач.
2. Научиться определять активность амилазы в крови, моче и слюне.
3. Интерпретировать полученные в ходе лабораторных исследований результаты в соответствии с диагностическим значением.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний:

1. Определение и классификация углеводов.
2. Строение моносахаридов, дисахаридов, крахмала и гликогена.
3. Представление о первом этапе катаболизма углеводов.
4. Понятие о киназах, лиазах и гидролазах.

По новой теме:

1. Переваривание и всасывание углеводов.
2. Нарушение переваривания и всасывания углеводов.
3. Роль печени в обмене углеводов.
4. Унификация углеводов.
5. Синтез и распад гликогена, регуляция процессов.
6. Нарушение обмена гликогена.

Рекомендуемая литература

1. Конспект лекций.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия», 1990, стр. 238-266.

3. Николаев А.Я., «Биологическая химия», 1989, стр. 232-255.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение активности амилазы в крови, слюне и моче».
2. Сделать выводы по результатам проведенных биохимических анализов.
2. Подготовиться к защите лабораторной работы (ориентировочные задачи и вопросы приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение активности α -амилазы в крови

Оборудование:

1. Штатив с пробирками.
2. Мерная коническая пробирка.
3. Пипетки на 1 мл и 0,1 мл.
4. Термостат.
5. КФК.

Реактивы:

1. Крахмальный субстрат.
2. Раствор йода.
3. Дистиллированная вода
4. Сыворотка крови, моча, слюна.

Принцип метода. Метод основан на колориметрическом определении уменьшения концентрации крахмала в пробах после ферментативного гидролиза по сравнению с исходным уровнем, что служит мерой активности амилазы.

Ход работы. В 2 пробирки (опытная и контрольная пробы) наливают по 0,5 мл крахмального субстрата. Опытную пробу прогревают при 37°C 5 мин, после чего добавляют в нее 0,01 мл сыворотки и инкубируют 8 мин при 37°C в термостате. Сразу же после инкубации опытной пробы в обе пробирки добавляют по 0,5 мл раствора йода и доводят объем проб до 5 мл дистиллированной водой. Сразу же колориметрируют их при красном свето- фильтре в кюветах толщиной 1 см против воды.

Активность α -амилазы рассчитывают по формуле:

$$(E_k - E_{оп})/E_k \times 150 = \text{г крахмала, гидролизованного 1л сыворотки за 1 час инкубации (г/л), где}$$

E_k — оптическая плотность контрольной пробы,
 $E_{оп}$ — оптическая плотность опытной пробы,
150 — коэффициент пересчета на количество крахмала в г,
гидролизованного 1 л сыворотки за 1 час инкубации.

Норма активности амилазы в сыворотке — 16-30 г/л в час

2. *Определение активности α -амилазы в моче*

Работу проводят так же, как с сывороткой крови, только в опытную пробу вместо сыворотки добавляют 0,01 мл мочи, разведенной в 100 раз. При расчете активности фермента в формулу добавляют коэффициент, учитывающий разведение мочи.

Норма активности амилазы в моче — 28-160 г/л в час

3. *Определение активности α -амилазы в слюне*

Работа проводится так же, как с сывороткой и мочой. В опытную пробу добавляют 0,01 мл разведенной в 10 раз слюны. При расчете учитывают коэффициент разведения.

Норма активности амилазы в слюне — 320-640 г/л в час.

Диагностическое значение определения амилазы

Гиперамилаземия. При остром панкреатите активность амилазы крови возрастает в первые 12 — 24 часа в 10-40 раз, затем быстро снижается и приходит к норме на 2-6 сутки.

При остром аппендиците, перитоните, перфоративной язве желудка и двенадцатиперстной кишки активность амилазы повышается в 3-5 раз.

Гиперамилаземия наблюдается также при паротите.

Гиперамилаземию вызывают: адреналин, гистамин, секретин, фуросемид, салицилаты, антикоагулянты, морфин, пантопон, опиум, кодеин, тетрациклин, алкоголь.

Гипоамилаземия. Чаще всего снижение активности амилазы свидетельствует о недостаточности экзокринной функции поджелудочной железы. Также встречается у больных гепатитами, циррозами, злокачественными опухолями с метастазами в печень, обширными ожогами кожи, сахарным диабетом, гипотиреозом, при интоксикациях.

Гиперамилазурия. При остром панкреатите в суточной моче активность амилазы возрастает в 10-40 раз. При этом активность амилазы остается высокой до 7 суток.

Отношение активности амилазы в крови к активности амила-

зы в моче служит показателем функциональной полноценности почечного фильтра.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. К какому классу ферментов относится амилаза?
2. Назовите субстраты для амилазы.
3. Где образуется амилаза и где действует?
4. Назовите продукты амилазной реакции.
5. Какой принцип лежит в основе метода определения активности амилазы?
6. С какой целью пробы помещают в термостат?
7. Для диагностики каких заболеваний используется определение активности амилазы в крови? моче? слюне?
8. Каковы причины снижения активности амилазы в крови?
9. Каковы причины увеличения активности амилазы в крови?
10. Каковы причины повышения активности амилазы в моче?
11. Чему равна норма активности амилазы в крови? В слюне? В моче?

б) Ситуационные задачи (УИРС)

1. Животному внутривенно ввели стерильный раствор сахаразы. Появится ли сахароза в моче?
2. Употребление в пищу кондитерских изделий, конфет вызывает у ребенка рвоту, понос. Он плохо переносит и сладкий чай, тогда как молоко не вызывает отрицательных реакций. Какой молекулярный дефект является причиной данных нарушений?
3. Больной страдает от судорог в мышцах при напряженной физической работе, но в остальном чувствует себя здоровым. Биопсия мышечной ткани выявила, что концентрация гликогена в мышцах этого больного гораздо выше нормы. Почему накапливается гликоген? Ваши рекомендации такому человеку.
4. Клинические симптомы двух форм галактоземии, одна из которых обусловлена недостаточностью галактокиназы, а другая — галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы, резко различаются по своей тяжести. И в том, и в другом случае

молоко вызывает у больных кишечные расстройства, но при недостаточности галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы нарушаются функции печени, почек, селезенки и мозга, а затем наступает смерть. Какие продукты накапливаются в крови и тканях при недостаточности каждого из двух ферментов? Оцените сравнительную токсичность этих продуктов на основе приведенных выше данных.

5. Сделайте предположение о возможных причинах заболевания, если известно, что у больного, длительно страдающего хроническим заболеванием кишечника — энтероколитом, после молочной пищи стали появляться метеоризм, диарея, колики.

6. Введение животным адреналина вызывает гипергликемию. Почему это не наблюдается у животных с удаленной печенью?

7. Какие реакции характерны для мобилизации гликогена в печени и мышцах?

1) гликоген → глюкозо-1-фосфат → глюкозо-6-фосфат → глюкоза

2) гликоген → глюкозо-1-фосфат → глюкозо-6-фосфат

3) гликоген → глюкозо-6-фосфат → лактат

4) гликоген → мальтоза

А. Характерно для печени.

Б. Характерно для мышц.

С. Протекает и в печени, и в мышцах.

Д. Не протекает ни в печени, ни в мышцах.

Занятие № 2

1. **Тема:** Гликолиз и глюконеогенез.

2. **Форма учебного процесса:** лабораторно-практическое занятие.

4. **Цель общая:**

4.1.1. Изучить процессы распада и синтеза глюкозы, понять значение этих процессов в организме.

4.1.2. Научиться определять содержание глюкозы в крови и моче, оценивать полученные результаты в соответствии с диагностическим значением.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Гликолиз, ход реакций, регуляция и значение.
2. Глюконеогенез. Реакции. Регуляция. Значение.
3. Глюкозо-лактатный цикл.

Уметь:

1. Использовать знание материала данной темы для решения ситуационных задач.
1. Пользоваться фотоэлектроколориметром.
2. Определять содержание глюкозы в крови и моче глюкозо-оксидазным методом.
3. Интерпретировать полученные результаты в соответствии с диагностическим значением.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Понятие о киназах, лиазах, оксидоредуктазах.
2. Представление о первом этапе катаболизма углеводов.
3. Распад гликогена в печени и мышцах.
4. Цикл Кребса, дыхательная цепь, субстратное и окислительное фосфорилирование.

По новой теме

1. Понятие о гликолизе и гликогенолизе. Ход реакций в гликолизе.
2. Регуляция гликолиза.
3. Биологическая роль гликолиза.
4. Определение глюконеогенеза. Ход реакций в глюконеогенезе.
5. Регуляция глюконеогенеза.
6. Значение глюконеогенеза.
7. Глюкозо-лактатный цикл.

Рекомендуемая литература

1. Конспект лекций.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия», 1990, стр. 244 -259.
3. Николаев А.Я., «Биологическая химия», 1989, стр. 241 — 246.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение глюкозы в крови и моче»
 - ознакомиться с другими методами определения глюкозы в крови;
 - определить содержание глюкозы в исследуемой крови глюкозооксидазным методом;
 - определить содержание глюкозы в моче.
2. Сделать выводы по результатам проведенных биохимических анализов.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

Методы определения глюкозы можно разделить на 3 группы:
— Методы, основанные на восстанавливающих свойствах глюкозы (например, метод Хагедорна — Йенсена). Эти методы неспецифичны, т.к. кроме глюкозы в крови могут быть другие редуцирующие вещества (аскорбиновая кислота, фруктоза, галактоза, ряд лекарственных препаратов), которые завышают истинные значения глюкозы в среднем на 30%.

— Методы, основанные на превращении глюкозы в оксиметилфурфурол и его конденсации с ароматическими аминами (О-толуидин) с получением окрашенного продукта. Методы просты и достаточно специфичны, поэтому удобны для практики.

— Ферментативные методы. Самые специфичные и точные.

1. *Определение глюкозы в крови глюкозооксидазным методом.*

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Пипетки на 1 мл и 0,2 мл.
 3. КФК.
 4. Кюветы на 3 мм.
 5. Иммунологические планшеты.
 6. Диагностические тест-полоски.

- Реактивы:
1. Рабочий раствор (ферментативно-хромогенный раствор).
 2. Стандартный раствор глюкозы.

3. Дистиллированная вода.
4. Сыворотка крови.
5. Моча

Принцип метода. Глюкозооксидаза окисляет глюкозу с образованием перекиси водорода, которая под действием пероксидазы окисляет хромоген хлоркрезол с образованием окрашенного продукта. Обе реакции протекают одновременно.

Ход работы. Внести в пробирки образцы сыворотки крови и реагенты по схеме:

Реактивы (мл)	Опытная проба	Стандартная проба	Контроль
Рабочий раствор	1,0	1,0	1,0
Сыворотка	0,2	—	—
Стандартный раствор глюкозы (10ммоль/л)	—	0,2	—
Дистиллированная вода	—	—	0,2

Пробы тщательно перемешать и инкубировать 15 мин при 37°C, затем интенсивно встряхнуть. Измерение оптической плотности проводят при длине волны 490 нм в кювете толщиной 3 мм против контроля. Расчет концентрации глюкозы проводят по формуле:

$$C = (E_o/E_c) \times 10, \text{ где}$$

C — концентрация глюкозы в ммоль/л.

E_o — оптическая плотность опытной пробы.

E_c — оптическая плотность стандартной пробы.

10 — концентрация глюкозы в стандартной пробе, ммоль/л.

Норма глюкозы крови утром натощак — 3,3-5,5 ммоль/л.

2. *Определение глюкозы в моче.*

В лунки иммунологического планшета вносят 0,05 мл мочи и 0,2 мл рабочего реактива.

Отсутствие развития окраски в течение 2 мин свидетельствует об отсутствии глюкозы в данной пробе. Пробы мочи, вызывающие покраснение реакционной смеси, считают положительными.

3. Определение глюкозы в моче с использованием тест-полосок

Тест-полоска, предназначенная для качественного экспресс-анализа содержания глюкозы в моче, представляет собой полоску полимерного материала с наклеенным аналитическим элементом в виде квадрата светло-бежевого, светло-розового или желтого цвета (в зависимости от красителя), выполненного из любого фильтрующего материала. На аналитический элемент нанесены глюкозооксидаза и пероксидаза.

Тест-полоску погружают в мочу на 1-2 секунды и вынимают, оставшуюся на полоске мочу удаляют о край сосуда и выдерживают на воздухе от 1 до 3 минут. Визуально определяют цвет. Переход светло-бежевого цвета в синий, светло-розового в красный, желтого в зеленый учитывают как положительный результат. Положительные пробы мочи направляются на количественное исследование.

Чувствительность метода составляет 1,4 — 5,6 ммоль/л или не более 0,1% массовой доли глюкозы в исследуемой моче.

Диагностическое значение определения глюкозы в крови и моче

Для диагностики целого ряда заболеваний (к числу которых прежде всего следует отнести сахарный диабет, патологические состояния, связанные с недостаточностью функции печени и почек, некоторые эндокринные заболевания, новообразования мозга, поджелудочной железы и надпочечников, гиповитаминоз В₁, а также ряд наследственных аферментозов) важно иметь объективное представление о состоянии углеводного обмена, главным показателем которого служит содержание глюкозы в крови.

Гипергликемия — это увеличение содержания глюкозы в крови выше нормы (до 6,7 — 7,0 ммоль/л). Наблюдается обычно при следующих состояниях:

- 1) сахарном диабете, остром панкреатите, панкреатических циррозах (эти заболевания дают гипергликемию, связанную с недостаточностью инсулина);
- 2) токсическом, травматическом, механическом раздражении центральной нервной системы. Травмы, опухоли мозга, а также эпилепсия, менингит, отравления ртутью, окисью углерода, си-

нильной кислотой, эфиром дают так называемую центральную (нервную) гипергликемию;

- 3) при гипефункции щитовидной железы, коры и мозгового вещества надпочечников, гипофиза (в этом случае выделяется больше гипергликемических гормонов);

- 4) при сильных эмоциях и психическом возбуждении;

- 5) после обильного приема с пищей углеводов — алиментарная гипергликемия.

Гипогликемия — это снижение содержания глюкозы в крови. Встречается при:

- 1) передозировке инсулина (при лечении сахарного диабета);

- 2) заболеваниях почек, когда нарушается процесс реабсорбции в канальцах;

- 3) плохом всасывании углеводов вследствие заболевания тонкого кишечника;

- 4) недостаточной выработке гипергликемических гормонов;

- 5) при гиперфункции островков Лангерганса поджелудочной железы (аденомы, гиперплазии, гипертрофии);

- 6) при острых и хронических гепатитах, циррозах, дистрофии печени, механической желтухе, алкогольной интоксикации, при раке печени, отравлении фосфором, бензолом, хлороформом, мышьяком;

- 7) после больших потерь крови;

- 9) при спленомегалии (стойкое увеличение селезенки) у детей;

- 10) при несбалансированной диете (неправильном соотношении пищевых веществ), от недоедания и голода — алиментарная гипогликемия.

Глюкозурия — повышение глюкозы в моче. Глюкозурия наблюдается при сахарном диабете, синдроме Иценко-Кушинга, акромегалии, феохромоцитоме, тиреотоксикозе, инсульте, энцефалите, травмах и опухолях головного мозга, гепатитах, циррозе, инфаркте миокарда, воспалении легких. Глюкозурия наблюдается также при заболеваниях почек, связанных с нарушением реабсорбции глюкозы в почечных канальцах, пиелонефрите, гломерулонефрите, нефросклерозе, почечном диабете, раке почек. Во всех перечисленных случаях концентрация глюкозы в крови превышает верхнее значение почечного порога 9,99 ммоль/л.

В моче здорового человека глюкоза практически не выявляется. Но может обнаружиться при некоторых физиологических состояниях (физиологическая глюкозурия): алиментарная глюкозурия, после психоэмоционального напряжения, при приеме лекарств (кофеина и других).

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. Какие методы определения глюкозы в крови вы знаете?
2. Принцип определения глюкозы в каждом из известных методов.
3. Какой из известных методов определения глюкозы является наиболее специфичным?
4. Перечислите методы определения глюкозы в моче?
5. Какой метод определения глюкозы в основе экспресс анализа «глюкотест»?
6. Для диагностики каких патологий назначается анализ глюкозы в крови и моче?
7. Каково нормальное содержание глюкозы в крови? Моче?
8. Что такое гипергликемия? Гипогликемия? Глюкозурия?
9. Назовите причины гипергликемии.
10. Перечислите причины гипогликемии.
11. Назовите гипер- и гипогликемические гормоны.
12. В каких случаях необходимо исследование концентрации глюкозы в крови и моче?
13. Чем опасна длительная гипергликемия?
14. Назовите причины глюкозурии.
15. Рассчитайте концентрацию глюкозы в крови, если известно, что $E_0 = 0,01$ и $E_{\text{стандарта}} = 0,02$, концентрация глюкозы в стандартной пробе равна 10 ммоль/л.

б) Ситуационные задачи

1. Могут ли янтарная, яблочная, лимонная кислоты служить предшественниками глюкозы? Если да, то составьте схему превращения. Сколько АТФ необходимо для синтеза 1 молекулы глюкозы в каждом случае?
2. Описано два типа заболеваний. Для одного характерен дефект фосфоорилазы мышц, для другого — печени. Назовите признаки этих заболеваний. Как изменится концент-

рация лактата в крови после физической нагрузки? Какова реакция больных на введение глюкагона?

3. При длительных физических нагрузках запасы гликогена истощаются не только в работающих, но и в неработающих мышцах. Обсудите механизм взаимосвязи обмена гликогена в этих тканях. Какой орган опосредует эту взаимосвязь?
4. Спортсмен пробежал 100-метровую дистанцию. Изменится ли содержание молочной кислоты в крови? Почему?
5. При добавлении АТФ к гомогенату мышечной ткани снизилась скорость гликолиза. Концентрация глюкозо-6-фосфата и фруктозо-6-фосфата увеличилась, а концентрация всех других метаболитов при этом снизилась. Укажите фермент, активность которого снижается при добавлении АТФ.
6. Подберите среди предложенных (А — С) подходящее изменение метаболизма углеводов для перечисленных состояний:
 - 1) Через 1-2 часа после еды в состоянии покоя.
 - 2) Голодание в течение 2-х суток.
 - 3) Утром натощак (постабсорбтивное состояние).
 - 4) В промежутках между приемами пищи.

А. В печени усиливается распад гликогена.
В. В печени усиливается синтез гликогена.
С. В печени усиливается ГНГ из глицерина и аминокислот.
7. Выберите утверждения, правильно характеризующие процесс глюконеогенеза:
 - а) является одним из источников глюкозы в крови;
 - б) регуляторные ферменты катализируют необратимые реакции;
 - в) ингибируется при накоплении в клетке АТФ;
 - г) протекает главным образом в печени, а также коре почек и слизистой тонкого кишечника;
 - д) обеспечивает глюкозой мозг в тех случаях, когда глюкоза в организм не поступает.
8. Сколько АТФ образуется при окислении сахарозы до углекислого газа и воды?
9. Сколько молекул АТФ нужно затратить на синтез 10 молекул глюкозы из пирувата?

Занятие № 3

1. Тема: Пентозофосфатный путь окисления глюкозы. Глюкоза крови и ее регуляция. Гетерополисахариды.

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Знание механизмов поддержания гомеостаза глюкозы крови необходимо для понимания патогенеза ряда заболеваний: сахарный диабет, стероидный диабет, феохромоцитома и другие. Гетерополисахариды выполняют структурообразовательную функцию и ряд других важных функций. Материал данной темы будет широко использоваться при изучении дисциплин медицинского профиля.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить пути окисления глюкозы.

4.1.2. Изучить механизмы поддержания гомеостаза глюкозы крови.

4.1.3. Изучить строение и функции протеогликанов и гликопротеинов.

4.1.4. Научиться определять содержание гликопротеинов в крови и объяснять полученные результаты на основе диагностического значения.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Окисление лактата.
2. Пентозофосфатный путь. Значение. Регуляция.
3. Регуляция глюкозы крови гормонами.
4. Строение и функции гетерополисахаридов.

Уметь:

1. Определять концентрацию серогликоидов в сыворотке крови.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Химическое строение гетерополисахаридов (курс биохимической химии).
2. Ферменты.
3. Основные метаболические пути обмена углеводов (гликолиз, глюконеогенеза, обмен гликогена).
4. Строение нуклеотидов.

По новой теме

1. Окисление лактата.
2. Пути образования и использования глюкозо-6-фосфата.
3. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы. Ход реакций в окислительной части пентозофосфатного пути. Пентозный цикл.
4. Значение пентозофосфатного пути для организма.
5. Регуляция пентозофосфатного пути.
6. Возрастные и тканевые особенности пентозофосфатного пути.
7. Глюкоза крови и ее регуляция.
8. Сахарные нагрузки и сахарные кривые.
9. Основные причины гипергликемии.
10. Неферментативное гликозилирование белков.
11. Причины гипогликемии.
12. Гетерополисахариды, определение, классификация.
13. Протеогликаны, строение значение.
14. Гликопротеины, их строение и значение.

Рекомендуемая литература

1. Конспект лекций.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия», 1990, стр. 266-275, 521-525.
3. Николаев А.Я., «Биологическая химия», 1989, стр. 253-270, 405-408.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определения серогликоидов в крови».
2. Сделать выводы по результатам проведенных биохимических анализов.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы (вопросы приведены ниже).

Лабораторная работа

Определение концентрации серогликоидов в крови.

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 1 мл, 2 мл и 5 мл.

3. Мерная пробирка на 10 мл.

4. Центрифуга.

5. КФК.

6. Кюветы толщиной 1 см.

Реактивы:

1. 0,85% NaCl (физ. раствор).

2. 1,8 Н хлорная кислота.

3. 5% фосфорновольфрамовая кислота.

4. Сыворотка крови.

Принцип метода. Под названием серогликоиды (или серомукоиды) объединяется группа гликопротеидов, которые не осаждаются серной кислотой, трихлоруксусной и сульфосалициловой кислотами. Метод основан на осаждении всех белков, кроме серогликоидов, хлорной кислотой. Серогликоиды выделяют осаждением фосфорновольфрамовой кислотой и по степени помутнения раствора судят о содержании серогликоидов.

Ход работы. К 0,5 мл сыворотки приливают 4,5 мл 0,85% раствора хлористого натрия и добавляют по каплям 2,5 мл 1,8 Н раствора хлорной кислоты. Хорошо перемешивают и оставляют на 10 мин при комнатной температуре. Затем центрифугируют 15 мин при 3000 об/мин. 5 мл центрифугата смешивают с 1 мл 5% раствора фосфорновольфрамовой кислоты и через 15 мин измеряют мутность на КФК в кювете толщиной 1 см при красном светофильтре против контроля. Контроль готовят, смешивая 3,3 мл физиологического раствора с 1,7 мл хлорной кислоты и 1 мл фосфорновольфрамовой кислоты.

Результат выражают в условных единицах — значении оптической плотности.

Норма содержания серогликоидов в крови — 0,13 — 0,2 условных единиц.

Диагностическое значение определения серогликоидов в крови

Увеличение серогликоидов наблюдается при всех воспалительных и некробиотических процессах: у больных с инфарктом миокарда, желтушным синдромом (особенно на почве новообразования), злокачественной опухолью, обострением хронического холецистита, с деструктивной формой туберкулеза легких, ревматизмом, мозговым инсультом и другими патологическими состояниями.

Снижение серогликоидов наблюдается при инфекционном гепатите, гематоцеллюлярной дистрофии, рассеянном склерозе.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. Что такое серогликоиды?
2. Принцип метода определения концентрации серогликоидов в крови.
3. Зачем к сыворотке крови приливают раствор хлорной кислоты?
4. Как рассчитывают концентрацию серогликоидов?
5. Для чего проводится центрифугирование?
6. Какая существует связь между концентрацией серогликоидов и состоянием больного?
7. В каких случаях содержание серогликоидов в крови может быть высоким?
8. Можно ли на основании повышения концентрации серогликоидов диагностировать определенное заболевание?

б) Ситуационные задачи (УИРС)

1. Глюкозу, меченную ^{14}C в 6-м положении, добавили в раствор, содержащий ферменты и кофакторы окислительной части пентозофосфатного пути. Какова судьба радиоактивной метки?
2. На экзамене у студента содержание глюкозы в крови оказалось равным 7,2 ммоль/л. Является ли это признаком патологии?
3. Будет ли содержать радиоактивную метку рибозо-5-фосфат, полученный в пентозофосфатном пути из глюкозы, меченной ^{14}C по 1-му атому?
4. Выберите пути использования метаболитов пентозофосфатного пути:

1) НАДФН.	А. Синтез нуклеотидов.
2) Рибозо-5-фосфат.	В. Восстановительные реакции в окислении жирных кислот.
3) 3-фосфоглицериновый альдегид.	С. Реакции гидроксирования.
4) Фруктозо-6-фосфат.	Д. Гликолиз.
5. Выберите определения, характеризующие свойства НАДН и НАДФН.

1) Является коферментом дегидрогеназ.	А. Характерно для НАДН.
2) Служит донором водорода для дыхательной цепи.	В. Характерно для НАДФН.

- 3) Используется в реакции рибозо-5-фосфат → рибулозо-5-фосфат.
 4) Образуется в окислительной части ПФП.
 5) Образуется в гликолизе.
 6) Образуется при синтезе липидов.

6. Выберите особенности, характерные для гликопротеинов и протеогликанов.

- 1) Входят в состав мембран.
 2) Состоят из различных мономеров.
 3) Обеспечивают взаимодействие между клетками.
 4) Являются резервными углеводами.
 5) Определяют группоспецифические свойства крови.

7. У больного резко уменьшено время ретракции сгустка (протромбиновое время — тест для оценки количества фибриногена). Введение какого протеогликана будет целесообразным и почему?

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы

1. Определение и классификация углеводов.
2. Функции углеводов.
3. Переваривание углеводов.
4. Обмен гликогена: синтез и распад гликогена, ключевые ферменты, регуляция, тканевые особенности.
5. Гликолиз: ход реакций, характеристика двух этапов, аэробный и анаэробный гликолиз, ключевые ферменты, регуляция, значение, преимущества и недостатки анаэробного гликолиза.
6. Гликогенолиз: ход реакций, конечные продукты, регуляция, значение.
7. Глюконеогенез: определение, субстраты, локализация, ключевые ферменты, регуляция, значение, энергозатраты.
8. Унификация углеводов: определение, локализация, значение.
9. Глюкозо-лактатный цикл. Значение.

10. Пентозофосфатный путь (ПФП). Ход реакций в окислительной части. Представление о неокислительной части пентозофосфатного пути. Ключевые ферменты, регуляция. Значение ПФП. Пентозный цикл.

11. Пути образования и использования глюкозо-6-фосфата.
12. Регуляция глюкозы крови. Сахарные кривые.
13. Болезни нарушения углеводного обмена: дисахаридозы, гипо- и гипергликемия, галактоземия, гликогенозы, агликогенозы.
14. Гетерополисахариды: протеогликан (гепарин, гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты) и гликопротеины. Строение, функции.
15. Неферментативное гликозилирование белков. Значение.

Тесты

1. Углеводы — это:

- а) альдегиды или кетоны многоатомных спиртов;
 б) альдегиды;
 в) кетоны.

2. К моносахаридам относятся:

- а) глюкоза;
 б) сахароза;
 в) рибоза;
 г) галактоза.

3. К олигосахаридам относятся:

- а) фруктоза;
 б) лактоза;
 в) гиалуроновая кислота;
 г) мальтоза.

4. К гомополисахаридам относятся:

- а) целлюлоза;
 б) крахмал;
 в) гликоген;
 г) целлобиоза.

5. Альдозами являются:

- а) фруктоза;
 б) глицериновый альдегид;
 в) диоксиацетон.

6. Кетозами являются:

- а) глюкоза;
- б) фруктоза;
- в) галактоза.

7. Для полного переваривания крахмала в ЖКТ необходимы:

- а) фосфорилаза;
- б) α -амилаза слюны;
- в) лактаза;
- г) α -амилаза поджелудочной железы;
- д) амило-1,6-гликозидаза;
- е) мальтаза.

8. Данную последовательность реакций синтеза гликогена катализируют ферменты в следующем порядке:

Глюкоза $\rightarrow$ глюкозо-6-фосфат $\leftrightarrow$ глюкозо-1-фосфат + УТФ $\rightarrow$ УДФ — глюкоза $\rightarrow$ гликоген

- а) гексокиназа, фосфоглюкомутаза, трансфераза, гликогенсинтетаза;
- б) фосфоглюкомутаза, трансфераза, гликогенсинтетаза, гексокиназа;
- в) гексокиназа, фосфоглюкомутаза, гликогенсинтетаза, трансфераза;
- г) трансфераза, фосфоглюкомутаза, гексокиназа, гликогенсинтетаза.

9. Гидролиз гликогена отличается от фосфороллиза тем, что:

- а) катализируется одним ферментом;
- б) локализован в лизосомах;
- в) имеет промежуточные продукты;
- г) является доминирующим процессом в клетке.

10. Фосфороллиз гликогена в печени является :

- а) источником глюкозы для крови;
- б) источником кетоновых тел;
- в) источником аминокислот.

11. Фосфороллиз гликогена — это процесс расщепления гликогена с использованием:

- а) фосфорной кислоты;
- б) АТФ;
- в) воды.

12. Ключевыми ферментами синтеза гликогена являются:

- а) гексокиназа;
- б) фосфоглюкомутаза;
- в) гликогенсинтетаза;
- г) фосфофруктокиназа,

13. Ключевыми ферментами фосфороллиза гликогена являются:

- а) фосфорилаза;
- б) фосфогексоизомераза;
- в) глюкозо-6-фосфатаза;
- г) пируваткиназа.

14. Для фосфороллиза в печени характерны следующие особенности:

- а) поставляет глюкозу в кровь;
- б) служит источником энергии в самой ткани;
- в) ключевым ферментом является фосфорилаза;
- г) процесс активируется инсулином;
- д) процесс активируется глюкагоном;
- е) характеризуется высокой активностью глюкозо-6-фосфатазы;
- ж) характеризуется отсутствием глюкозо-6-фосфатазы.

15. Для фосфороллиза в мышцах характерны следующие особенности:

- а) поставляет глюкозу в кровь;
- б) служит источником энергии в самой ткани;
- в) ключевым ферментом является фосфорилаза;
- г) процесс активируется инсулином;
- д) процесс активируется глюкагоном;
- е) характеризуется высокой активностью глюкозо-6-фосфатазы;
- ж) характеризуется отсутствием глюкозо-6-фосфатазы.

16. Ферменты фосфороллиза расположены в следующей последовательности:

- а) фосфорилаза, фосфоглюкомутаза, глюкозо-6-фосфатаза;
- б) фосфоглюкомутаза, фосфорилаза, глюкозо-6-фосфатаза;
- в) глюкозо-6-фосфатаза, фосфорилаза, фосфоглюкомутаза.

17. Синтез гликогена активируют:

- ☒ а) инсулин;
- б) глюкокортикостероиды;
- в) катехоламины;
- г) глюкагон;
- д) цАМФ, Ca^{2+} .

18. Распад гликогена активируют:

- ☒ а) инсулин;
- б) глюкокортикостероиды;
- в) катехоламины;
- г) глюкагон;
- д) цАМФ, Ca^{2+} .

19. Оптимум pH для переваривания углеводов в кишечнике составляет:

- ☒ а) 7,4;
- б) 6,8;
- в) 5,2.

20. Непереносимость молока связана с отсутствием в пищеварительном соке:

- а) амилазы слюны;
- б) мальтазы;
- ☒ в) лактазы;
- г) амило-1,6-гликозидазы.

21. Галактоземия возникает при недостатке:

- а) лактазы;
- б) галактокиназы;
- в) гексокиназы;
- ☒ г) галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы.

22. Дисахаридозы — это заболевания, вызванные:

- ☒ а) отсутствием дисахаридаз;
- б) отсутствием дисахаридов.

23. Гликогеноз — это заболевание, при котором:

- ☒ а) нарушен распад гликогена;
- б) нарушен синтез гликогена;
- в) нарушено переваривание гликогена.

24. Гидролитический распад гликогена в клетках катализируют ферменты:

- ☒ а) α -амилаза;

- б) α -амилаза;
- в) фосфорилаза.

25. Для удлинения гликогена на 10 глюкозных звеньев требуется:

- ☒ а) 20 молекул макроэргов;
- б) 10 молекул макроэргов;
- в) 100 молекул макроэргов.

26. Глюкоза в клетках сохраняется в составе гликогена, а не в свободном виде по следующим причинам:

- ☒ а) глюкоза свободно выходит из клеток;
- б) глюкоза повышает осмотическое давление;
- в) глюкоза снижает осмотическое давление;
- г) обладает токсическим действием.

27. Фосфорилиз гликогена в мышцах не является источником глюкозы для крови, так как в мышцах отсутствует:

- а) гексокиназа;
- б) фосфорилаза;
- ☒ в) глюкозо-6-фосфатаза;
- г) фосфоглюкомутаза.

28. Главной функцией пищевых углеводов является:

- ☒ а) энергетическая;
- б) структурообразовательная;
- в) защитная.

29. Гликолиз — это:

- ☒ а) расщепление глюкозы до лактата в анаэробных условиях;
- б) расщепление глюкозы до ацетата в анаэробных условиях;
- в) расщепление глюкозы до CO_2 и H_2O .

30. В клетке ферменты гликолиза находятся в:

- а) эндоплазматическом ретикулуме;
- ☒ б) цитозоле;
- в) митохондриях;
- г) лизосомах.

31. На 1-ом этапе гликолиза глюкоза расщепляется с образованием:

- а) 2 молекул лактата;
- б) 2 молекул пирувата;
- ☒ в) фосфоглицеринового альдегида (ФГА) и ДОАФ.

32. На 1-ом этапе гликолиза расходуется:

- а) 2 АТФ;
- б) 3 АТФ;
- в) 4 АТФ.

33. Субстратное фосфорилирование в гликолизе происходит в реакциях, катализируемых:

- а) гексокиназой;
- б) фосфофруктокиназой;
- в) пируваткиназой;
- г) глицераткиназой.

34. Первичными макроэргами гликолиза являются:

- а) глюкозо-6-фосфат;
- б) 3-ФГА;
- в) 3-ФГК;
- г) 1,3-диФГК;
- д) ФЕП.

35. Во 2-ом этапе гликолиза участвуют:

- а) фруктозо-6-фосфат;
- б) ДОАФ;
- в) 3-ФГА;
- г) НАДН₂.

36. Фермент гликолиза альдолаза относится к классу:

- а) оксидоредуктаз;
- б) лиаз;
- в) синтетаз;
- г) трансфераз;
- д) гидролаз.

37. В реакции гликолитической оксидоредукции участвует:

- а) гексокиназа;
- б) альдолаза;
- в) лактатдегидрогеназа;
- г) глицеральдегидфосфатдегидрогеназа;
- д) фосфофруктокиназа.

38. В приведенной схеме 1-го этапа гликолиза не достает метаболитов:

глюкоза → глюкозо-6-фосфат → ... → фруктозо-1,6-дифосфат → ? + ?

- а) фруктозо-6-фосфат, ДОАФ и фосфоглицериновый альдегид;

- б) гликоген, фосфоенолпируват, 1,3-дифосфоглицерат;
- в) фруктозо-6-фосфат, пируват, лактат.

39. Данную цепь реакций гликолиза катализируют ферменты в следующем порядке:

глюкоза → глюкозо-6-фосфат → фруктозо-6-фосфат → фруктозо-1,6-ди-фосфат → ДОАФ + 3-ФГА

- а) гексокиназа, фосфогексоизомераза, фосфофруктокиназа, альдолаза;
- б) гексокиназа, пируваткиназа, фосфофруктокиназа, альдолаза;
- г) гексокиназа, фосфогексоизомераза, фосфорилаза, альдолаза;
- д) гексокиназа, фосфогексоизомераза, глицераткиназа, пируваткиназа;

40. В приведенную схему реакций 2-го этапа гликолиза нужно вписать недостающие метаболиты в следующей последовательности:

3-ФГА → 1,3-ФГК → ... → 2-ФГК → ... → Пируват → ...

- а) 3-ФГК, ФЕП, лактат;
- б) 3-ФГК, глюкоза, лактат;
- в) лактат, ФЕП, оксалоацетат;
- г) глюкоза, пируват, оксалоацетат.

41. Ключевыми ферментами гликолиза являются:

- а) гексокиназа;
- б) фосфогексоизомераза;
- в) фосфофруктокиназа;
- г) пируваткиназа;
- д) глицераткиназа.

42. Эффект Пастера — это:

- а) торможение гликолиза продуктами тканевого дыхания;
- б) активация гликолиза продуктами тканевого дыхания;
- в) торможение гликолиза жирными кислотами.

43. Значение гликолиза:

- а) энергетическое;
- б) синтетическое;
- в) регуляторное.

44. Достоинства гликолиза:

- а) образование АТФ в анаэробных условиях;

- б) образование лактата;
в) быстрый процесс.
- 45. Недостатки гликолиза:**
а) быстрый процесс;
б) образуется мало АТФ;
в) образуется лактат.
- 46. Гликолиз является источником энергии в:**
а) миокарде;
б) эритроцитах;
в) печени;
г) коре почек;
д) головном мозге.
- 47. В аэробных условиях гликолиз:**
а) заторможен;
б) активен;
в) активность не изменяется.
- 48. Аэробное окисление глюкозы до CO_2 и H_2O сопровождается синтезом:**
а) 20 АТФ;
б) 38 АТФ;
в) 45 АТФ.
- 49. Из перечисленных ниже метаболитов в гликолизе не участвуют:**
а) глюкозо-6-фосфат;
б) ДОАФ;
в) 3-ФГА;
г) фруктозо-6-фосфат;
д) 1,3-дифГК;
е) ФЕП;
ж) оксалоацетат;
з) пируват.
- 50. В гликолизе не работают следующие ферменты:**
а) гексокиназа;
б) фосфофруктокиназа;
в) альдолаза;
г) глюкозо-6-фосфатаза;
д) глицераткиназа;
ж) пируваткиназа.

- 51. При окислении лактата до CO_2 и H_2O образуется:**
а) 15 АТФ;
б) 9 АТФ;
в) 18 АТФ.
- 52. Глюконеогенез (ГНГ) — это:**
а) синтез глюкозы из неуглеводных предшественников;
б) синтез глюкозы из жирных кислот;
в) синтез глицерина.
- 53. Большинство реакций ГНГ локализовано в:**
а) цитозоле;
б) митохондриях;
в) лизосомах.
- 54. ГНГ является процессом:**
а) универсальным;
б) тканеспецифичным.
- 55. ГНГ имеет место в:**
а) печени;
б) головном мозге;
в) тонком кишечнике;
г) коре почек;
д) скелетных мышцах.
- 56. В ГНГ не участвуют следующие ферменты:**
а) гексокиназа;
б) фосфофруктокиназа;
в) пируваткиназа;
г) альдолаза;
д) глицераткиназа.
- 57. Ключевыми ферментами ГНГ являются:**
а) пируваткарбоксилаза;
б) пируваткиназа;
в) фосфоенолпируваткарбоксикиназа;
г) фруктозо-1,6-дифосфатаза;
д) глюкозо-6-фосфатаза.
- 58. В глюконеогенезе:**
а) синтезируется глюкоза;
б) используется лактат;
в) образуется АТФ.

59. Глюконеогенез активируют:

- а) катехоламины;
- ☒ б) инсулин;
- в) АТФ;
- г) глюкагон;
- д) глюкокортикостероиды;
- е) тироксин.

60. Накопление лактата приводит:

- а) к обезвоживанию тканей;
- ☒ б) метаболическому ацидозу;
- в) метаболическому алкалозу;
- г) к повреждению мембран.

61. Чтобы синтезировать 100 молекул глюкозы в глюконеогенезе, необходимо затратить:

- а) 300 АТФ;
- ☒ б) 600 АТФ;
- в) 1000 АТФ.

62. Нормальный уровень глюкозы в крови составляет:

- а) 3,3 — 5,5 ммоль/л;
- ☒ б) 5,5 — 7,5 ммоль/л;
- в) 1,5 — 3,5 ммоль/л.

63. Гипергликемическим действием обладают:

- а) глюкагон;
- ☒ б) инсулин;
- в) глюкокортикостероиды;
- г) катехоламины;
- д) секретин.

64. Источниками глюкозы для крови являются:

- а) гликолиз;
- ☒ б) глюконеогенез;
- в) распад гликогена в мышцах;
- г) распад гликогена в печени;
- д) пентозофосфатный путь.

65. В тканях глюкоза используется:

- а) на синтез гликогена;
- ☒ б) в гликолизе;
- в) в пентозофосфатном пути;
- г) в глюконеогенезе.

66. Пентозофосфатный путь активно протекает в следующих тканях:

- а) костная;
- ☒ б) жировая;
- в) кора надпочечников;
- г) хрящевая;
- д) эмбриональная;
- е) лимфоидная.

67. В приведенной ниже схеме окислительной части пентозофосфатного пути отсутствуют метаболиты в следующем порядке:

глюкозо-6-фосфат → . . . → 6-фосфоглюконат → . . . → рибозо-5-фосфат

- ☒ а) 6-фосфоглюконолактон;
- б) рибулозо-5-фосфат;
- в) лактат;
- г) фосфоглицериновый альдегид.

68. Реакции окислительной части пентозофосфатного пути катализируют ферменты:

- а) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа;
- б) лактоназа;
- ☒ в) лактатдегидрогеназа;
- г) 6-фосфоглюконатдегидрогеназа;
- д) пируваткиназа.

69. Причинами гипергликемии являются:

- а) стресс;
- б) голодание;
- в) интенсивная мышечная работа;
- г) гиперсекреция инсулина;
- ☒ д) сахарный диабет;
- е) лечение глюкокортикостероидами.

70. Длительная гипергликемия опасна:

- а) истощением запасов инсулина;
- ☒ б) гликозилированием белков;
- в) тканевыми отеками;
- г) обезвоживанием тканей;
- д) гипоксией тканей.

- 71. Значение пентозофосфатного пути заключается в том, что он:**
- а) основной поставщик рибозо-5-фосфата;
 - б) основной поставщик АТФ в клетке;
 - в) основной поставщик глюкозы;
 - г) основной поставщик НАДФН.
- 72. Серогликоиды — это:**
- а) белки, содержащие серу;
 - б) гликопротеины крови, не осаждающиеся хлорной кислотой;
 - в) протеогликаны, входящие в состав межклеточного матрикса.
- 73. Повышение концентрации серогликоидов в сыворотке крови происходит:**
- а) при ишемической болезни сердца;
 - б) при сахарном диабете;
 - в) при воспалительных процессах разной этиологии;
 - г) беременности;
 - д) при наличии опухоли.
- 74. Источниками глюкозы при переваривании являются следующие углеводы:**
- а) крахмал;
 - б) лактоза;
 - в) целлюлоза;
 - г) сахароза;
 - д) декстраны.
- 75. Клетками поджелудочной железы синтезируются следующие гликозидазы:**
- а) сахараза;
 - б) мальтаза;
 - в) амилаза;
 - г) амило-1,6-гликозидаза;
 - д) ни одна из перечисленных.
- 76. Мальтаза синтезируется:**
- а) поджелудочной железой;
 - б) слизистой желудка;
 - в) слизистой кишечника.

- 77. Ферменты, участвующие в переваривании углеводов, относятся к классу:**
- а) оксидоредуктаз;
 - б) лиаз;
 - в) гидролаз.
- 78. Транспорт глюкозы из крови в клетки зависит от:**
- а) катехоламинов;
 - б) глюкокортикостероидов;
 - в) инсулина.
- 79. Молочная кислота накапливается после:**
- а) тяжелой мышечной работы;
 - б) ночного сна;
 - в) бега на короткие дистанции;
 - г) бега на длинные дистанции.
- 80. Субстратами для ГНГ могут быть следующие вещества:**
- а) оксалоацетат;
 - б) глицерин;
 - в) пируват;
 - г) ацетил-КоА;
 - д) 2-оксоглутарат;
 - е) сукцинат.
- 81. При пищеварении происходит:**
- а) расщепление дисахаридов до моносахаридов;
 - б) распад моносахаридов до CO_2 и H_2O ;
 - в) расщепление полисахаридов до олигосахаридов;
 - г) распад моносахаридов до лактата.
- 82. После приема пищи концентрация глюкозы в крови:**
- а) уменьшается;
 - б) не изменяется;
 - в) повышается.
- 83. Депонирование глюкозы в печени происходит:**
- а) спустя 8-10 часов после приема пищи, богатой углеводами;
 - б) при концентрации глюкозы в крови ниже 3,5 ммоль/л;
 - в) при длительной физической нагрузке;
 - г) спустя 1-2 часа после приема пищи, богатой углеводами.

84. При гликогенозах рекомендуется следующая диета:

- а) диета, бедная углеводами;
- б) нормальная диета;
- в) частое кормление малыми порциями.

85. В анаэробных условиях в крови накапливается:

- а) лактат;
- б) глюкоза;
- в) пируват;
- г) пентозы.

86. Физиологическим механизмом предупреждения лактацидоза является:

- а) выведение лактата с мочой;
- б) использование лактата в ГНГ;
- в) окисление лактата до CO_2 и H_2O .

87. При галактоземии нарушен обмен:

- а) глюкозы;
- б) галактозы;
- в) фруктозы.

88. Главным углеводом в большом круге кровообращения является:

- а) галактоза;
- б) фруктоза;
- в) глюкоза;
- г) рибоза.

89. Глюкоза внутри клеток фосфорилируется, чтобы:

- а) активироваться;
- б) не выйти из клеток;
- в) не влиять на осмотическое давление.

90. Для предотвращения неблагоприятных последствий галактоземии необходимо:

- а) вводить определенные ферменты;
- б) применять ингибиторы трансферазы;
- в) перевести ребенка на диету без молока и молочных продуктов;
- г) увеличить в пище количество глюкозы.

91. Инсулин быстро нормализует повышенный уровень глюкозы в крови:

- а) увеличивая ее поступление в клетки;

б) стимулируя синтез ферментов ПФП;

в) активируя синтез гликогена;

г) репрессируя синтез ферментов ГНГ.

92. Концентрацию глюкозы в крови повышают:

- а) АКТГ;
- б) глюкагон;
- в) инсулин;
- г) катехоламины;
- д) глюкокортикостероиды;
- е) пролактин.

Глава 5. Липидный обмен

Раздел 1. Значение изучаемой темы

Липиды — это вещества, которые объединены в единый класс одним их свойством. Они не растворяются в воде. Разнообразие веществ этого класса определяет разнообразие их функций. Так, основной функцией жиров является их способность служить источником энергии. Такие вещества, как фосфолипиды и гликолипиды входят в состав клеточных мембран и определяют их свойства. Холестерин также входит в состав мембран, определяя их текучесть. Из холестерина образуются такие биологически важные вещества как стероидные гормоны, витамин Д и желчные кислоты. Именно с холестерином связано такое грозное заболевание как атеросклероз. Атеросклероз сопутствует ряду других патологий организма.

Ожирение, желчно-каменная болезнь, липидозы являются заболеваниями, связанными с нарушением липидного обмена.

Знания, полученные при изучении липидного обмена и его нарушений, будут использоваться при обучении на клинических кафедрах и необходимы врачу любой специальности.

Раздел 2. Сведения о липидном обмене

Липиды — это органические вещества, нерастворимые в воде, но растворимые в неполярных органических растворителях.

Функции липидов

Функции жира

1. **Энергетическая:** при окислении 1 г жира выделяется около 9,3 ккал энергии.

В сутки человек в среднем потребляет 60-80 г жира, что составляет 35-40% суточного калоригенеза.

2. **Резерв эндогенной воды** (1 г жира при окислении дает 1,07 г воды).

3. **Жир необходим для растворения и всасывания жирорастворимых витаминов.**

4. **Защитный барьер**, предохраняющий от термических и механических воздействий.

Функции липоидов

1. Мембранная:

- избирательная проницаемость;
- участие в активном транспорте;
- упорядочение ферментативных цепей;
- биопотенциалы (не только на нейронах, но и мембранах митохондрий);
- входят в состав рецепторов для гормонов и обеспечивают механизм усиления эффектов;

2. **Гормональная** (стероидные гормоны; гормоны, производные полиненасыщенных жирных кислот).

3. Специфические функции:

- обеспечивают устойчивость эритроцитов;
- ганглиозиды связывают токсины и яды.

4. **Энергетическая** (не имеет большого значения).

Переваривание жира (триглицеридов — ТГ)

Переваривание жира происходит под действием ферментов липаз (класс гидролаз), которые расщепляют сложноэфирные связи.

Переваривание жира в *ротовой полости* не происходит. Установлено, что в слизистой корня языка синтезируется так называемая лингвальная липаза, активность которой не может проявиться в полости рта, и основным местом ее действия является желудок. Оптимум pH для этой липазы находится в области pH 4 — 4,5. Она действует на ТГ, содержащие жирные кислоты (ЖК) с короткой и средней длиной цепи, что характерно для ТГ молока. Таким образом, лингвальная липаза имеет большое значение у грудных детей. Активность этого фермента у взрослых крайне низкая.

В желудке синтезируется собственная липаза, значение которой у взрослых незначительно, так как содержание этой липазы в желудочном соке невелико. Кроме того, pH желудочного сока далек от оптимума действия этого фермента (оптимум pH для желудочной липазы находится в пределах 5,5-7,5); в желудке нет условий для эмульгирования жира, а липаза может активно действовать только на эмульгированные ТГ. В отличие от взрослых у грудных детей в желудке умеренная кислотность (pH 5,0), жир

молока эмульгирован, липаза синтезируется в достаточном количестве и активна. Таким образом, переваривание жира в желудке в основном происходит у детей.

Главным местом переваривания ТГ у взрослых является тонкий кишечник.

На ТГ действует липаза поджелудочного сока. Панкреатическая липаза является гликопротеидом с оптимумом pH 8-9, поступает в верхний отдел тонкой кишки в неактивном состоянии в виде пролипазы. Превращение пролипазы в активный фермент происходит при участии желчных кислот и колипазы (пептид с М.м. 10 кДа). Колипаза присоединяется к пролипазе, что активирует ее и делает устойчивой к действию трипсина. Липаза расщепляет ТГ, находящиеся в эмульгированном состоянии. Панкреатическая липаза отщепляет жирные кислоты, находящиеся в α -положении. Продуктами переваривания жира в кишечнике являются: глицерин, жирные кислоты, а также моноглицерины.

Роль желчных кислот в переваривании жира

1. Активируют панкреатическую липазу.
2. Эмульгируют жир.
3. Необходимы для всасывания продуктов переваривания жира.

Всасывание продуктов переваривания жира

Глицерин и жирные кислоты с короткой цепью хорошо растворимы в воде, поэтому легко всасываются стенкой кишечника. Жирные кислоты с длинной цепью сначала нужно перевести в растворимую форму. Для этого жирные кислоты связываются с желчными кислотами (1:3), образуя холеиновые комплексы, которые легко всасываются. В виде холеиновых комплексов всасываются моно-, ди- и триацилглицерины (последние в небольших количествах). Внутри эпителиальных клеток кишечника происходит ресинтез жира в основном из моноацилглицеринов и жирных кислот.

Ресинтез жира — это синтез жира, свойственного данному организму. Не все жирные кислоты могут этерифицироваться. В неизменном виде они поступают в кровь, где связываются с альбуминами и в таком виде разносятся кровью к органам и тканям.

Свободные жирные кислоты называются неэтерифицированными или НЭЖК.

Хиломикроны и пути их использования

Образованные в эпителиальных клетках ТГ покрываются оболочкой из белка и фосфолипида. В результате образуются хиломикроны (ХМ). ХМ — это микроскопические липопротеидные частицы диаметром 100 — 1100 нм.

В составе ХМ 1-2% белка и 98-99% липидов, из которых 88% ТГ, 8% — ФЛ (фосфолипидов) и 4% ХС (холестерина). 90% ТГ пищевого происхождения транспортируется в виде ХМ, оставшиеся 10% поглощаются в виде жирных кислот. НЭЖК переносятся в печень, там они либо окисляются, либо идут на синтез липидов. Печень характеризуется ограниченной способностью к запасанию ТГ и даже небольшой их избыток секретируется в виде ЛПОНП (липопротеидов очень низкой плотности). В отличие от ХМ ЛПОНП содержат 10% белка и 90% липидов.

Таким образом, ХМ и ЛПОНП являются транспортными формами. ХМ транспортируют экзогенные липиды, а ЛПОНП — липиды, синтезированные в печени. 70% ХМ поступает в лимфу, а 30% — прямо в кровеносные капилляры. Появление «молочного» вида у плазмы крови после приема жирной пищи обязано наличию в ней ХМ (т.н. хилезная кровь).

Пути использования хиломикронов

ХМ расщепляются липопротеидлипазой (ЛПЛ-аза), которая действует на триглицеридную часть. Этот фермент располагается в поверхностном слое эндотелиальных клеток капилляров, особенно жировой ткани, лактирующей молочной железы, скелетной и сердечной мышц. ТГ хиломикронов расщепляются на глицерин и жирные кислоты. В ХМ липида становится меньше, плотность такой частицы повышается, она превращается в, так называемый, остаточный ХМ. Липопротеидлипаза активируется гепарином. Остаточный ХМ переносится в печень, где метаболизируется. Выделяющиеся из ХМ НЭЖК поступают в клетки сердца и мышц, где окисляются.

Содержание липидов в кровотоке может понижаться вследствие откладывания их в различных тканях. Способность откла-

дывать жир характерна для всех тканей, кроме мозга. Главную роль в обмене липидов играют жировая ткань и печень. Примерно 65% веса жировой ткани приходится на ТГ. Количество жировой ткани нарастает с возрастом. Различают *белую жировую ткань* (подкожная жировая ткань и сальник) и *бурую жировую ткань* (находится в межлопаточной области). Белый жир является источником глицерина и жирных кислот. Бурый жир выполняет термогенную функцию, так как в нем жир сгорает с образованием воды, углекислого газа и тепла. Много бурого жира у новорожденных и у зимоспящих животных.

Липолиз

Липолиз — это расщепление жира до глицерина и жирных кислот. Катализируется триглицеридлипазой, диглицеридлипазой и моноглицеридлипазой, которые действуют соответственно на ТГ, ДГ и МГ. Триглицеридлипаза является лимитирующим ферментом липолиза. Она имеет две формы: фосфорилированную (активную) и нефосфорилированную (неактивную).

Превращение неактивной формы в активную происходит под влиянием протеинкиназы. Протеинкиназа, в свою очередь, активируется в результате присоединения к ее аллостерическим центрам цАМФ.

Регуляция липолиза происходит под действием гормонов.

Активируют липолиз: катехоламины, глюкагон, СТГ, АКТГ, тироксин, липотропин гипофиза, цАМФ.

Ингибирует липолиз инсулин.

Липогенез

Липогенез — это синтез жира. Для синтеза жира необходимы глицерин и жирные кислоты в активных формах. Активной формой глицерина является 3-фосфоглицерол (α -глицерофосфат). Активной формой жирной кислоты является ацил-КоА.

В жировой ткани 3-фосфоглицерол образуется из ДОАФ (метаболит гликолиза) путем гидрирования под действием глицерофосфатдегидрогеназы с затратой НАДН. Таким образом, синтез жира в жировой ткани происходит из углеводов. В печени и почках 3-фосфоглицерол образуется путем фосфорилирования глицерина под действием глицеролкиназы с затратой АТФ.

Ацил-КоА образуется при взаимодействии жирной кислоты с HSKoA с затратой АТФ под влиянием ацил-КоА-синтетазы.

Сборка триглицерида происходит из 3-фосфоглицерола и ацилов-КоА под действием ацилтрансферазы (ход реакций смотрите в учебнике или лекции).

Ингибируют липогенез КА, СТГ, ЙТ, АКТГ, АДФ. Активируют — инсулин, эстрогены и АДФ.

Обмен глицерина

В зависимости от типа ткани, в которую он поступает, глицерин может:

1. окисляться до CO_2 и H_2O с образованием 21 АТФ (см лекцию);
2. использоваться в синтезе липидов (ТГ и ФЛ);
3. использоваться на синтез глюкозы в глюконеогенезе.

Окисление жирных кислот

Происходит в митохондриях. Активная форма жирных кислот ацил-КоА образуется в цитоплазме под действием ацил-КоА-синтетазы.



Мембрана митохондрий не пропускает жирные кислоты. Для переноса жирных кислот в митохондрии существует специальный переносчик — карнитин. С помощью фермента карнитина-ацилтрансферазы-1 остаток жирной кислоты (ацил) переносится на карнитин, в результате образуется ацилкарнитин, способный проникать в митохондрии. В митохондриях комплекс ацилкарнитин распадается, освободившийся ацил присоединяется к HSKoA с образованием ацил-КоА с помощью карнитина-ацилтрансферазы-2. Карнитин возвращается в цитоплазму за новой молекулой жирной кислоты. Легче всего окисляют жирные кислоты те ткани, где много карнитина, например, в таких органах, как сердце, скелетные мышцы, почки.

Ход реакций β -окисления жирных кислот смотрите в учебнике или лекции.

Окисление жирных кислот является циклическим процессом. В результате одного цикла (витка) жирная кислота укорачивается на два углеродных атома, при этом в ходе окислительно-восстановительных реакций образуются НАДН и ФАДН₂. Количество

витков рассчитывается по формуле: количество атомов углерода в кислоте делят на 2 и отнимают 1.

Энергетическая роль жирных кислот в разных тканях различна. Так, для миокарда окисление жирных кислот дает 70% энергии, для мышечной ткани — 50%, в головном мозге они не окисляются.

Регуляция β -окисления жирных кислот

Ключевым процессом является поступление жирных кислот в митохондрии. Карнитинцилтрансфераза-1 является аллостерическим ферментом, аллостерическим ингибитором которого является малонил-КоА. КА, СТГ — активируют, инсулин — тормозит окисление жирных кислот.

Синтез жирных кислот

Происходит главным образом в жировой ткани, молочной железе и печени. Местом синтеза жирных кислот является цитоплазма. Для синтеза жирных кислот необходимы CO_2 , ацетил-КоА, АТФ и НАДФН. Синтез жирных кислот происходит циклически. В начале каждого цикла из ацетил-КоА и углекислого газа с затратой АТФ образуется малонил-КоА. Ход реакций смотрите в учебнике или лекции.

Для синтеза одной молекулы C_{16} потребуется 8 молекул ацетил-КоА, (из которых 7 проходят стадию образования малонил-КоА), 7 АТФ и 14 НАДФН.

Регуляция синтеза жирных кислот

Лимитирующим ферментом является ацетил-КоАкарбоксилаза. Аллостерические активаторы — АТФ и цитрат, ингибиторы — жирные кислоты с длинной цепью. Инсулин, эстрогены активируют, катехоламины и стресс ингибируют синтез жирных кислот.

Пути образования и использования ацетил-КоА

Пути образования ацетил-КоА

1. Из пирувата в ходе пируватдегидрогеназной реакции. Этот путь преобладает при кратковременной и напряженной мышечной работе.

2. β -окисление жирных кислот. Преобладает в следующих ситуациях: длительная мышечная работа, холод, голод, беременность, сахарный диабет.

Пути использования ацетил-КоА

Ацетил-КоА окисляется в цикле Кребса, используется в синтезе жирных кислот и идет на синтез холестерина и кетоновых тел. Путь использования ацетил-КоА зависит от энергообеспеченности и потребности организма в этих веществах.

Кетоновые тела и их функции

Под кетоновыми телами понимают три вещества: ацетоацетат, β -гидроксibuтират и ацетон. Кетоновые тела образуются в печени и выполняют следующие функции:

1. *Энергетическая.* Скелетная и сердечная мышцы, мозг и другие внепеченочные ткани обеспечивают значительную долю своих энергетических потребностей за счет катаболизма кетоновых тел. Печень не может окислять кетоновые тела.

2. *Кетоновые тела необходимы для образования миелиновых оболочек нервов и белого вещества головного мозга.*

Накопление кетоновых тел в организме называется кетозом. Кетоз сопровождается кетонемией и кетонурией. Кетоз бывает физиологическим и патологическим. Физиологический кетоз возникает при голодании, длительной мышечной работе и у новорожденных, патологический — при сахарном диабете.

Накоплению кетоновых тел способствуют катехоламины и СТГ. Инсулин снижает синтез кетоновых тел.

Обмен холестерина

Источники холестерина:

- пищевые продукты (желток куриного яйца, головной мозг, печень, сливочное масло и др.);
- синтез из ацетил-КоА (см. в учебнике или лекции).

Всасывание холестерина из кишечника происходит с участием желчных кислот. После всасывания большая часть холестерина этерифицируется жирными кислотами с образованием стеридов, которые входят в состав липопротеидов.

Синтез холестерина происходит из ацетил-КоА с затратой НАДФН и АТФ. 80% холестерина синтезируются в печени, 10% — в тонком кишечнике, 5% — в коже. Лимитирующим ферментом синтеза холестерина является ГМГКоА-редуктаза. Активируют синтез: КА, СТГ, ГКС, андрогены, насыщенные жирные кислоты,

любые виды стресса, пища, богатая углеводами. Снижают синтез холестерина: инсулин, тироксин, эстрогены, холестерин, полиненасыщенные жирные кислоты, мышечная работа.

Роль холестерина в организме

1. Входит в состав всех клеточных мембран и обеспечивает их текучесть.
2. В печени используется для синтеза желчных кислот.
3. В коже под действием ультрафиолета из него образуется витамин D.
4. В эндокринных железах используется на синтез стероидных гормонов (половые, минералокортикостероиды, глюкокортикостероиды).

Липопротеиды

Содержат гидрофобное ядро (ТГ и холестериды) и гидрофильную оболочку (холестерин, фосфолипиды, белки).

Классификация липопротеидов основана на различной их плотности (чем больше липидов, тем меньше плотность).

Классы липопротеидов:

— *хиломикроны (ХМ)* содержат 1% белка и 99% липидов. Это самые гидрофобные липопротеиды, имеют наименьшую плотность, не обладают электрофоретической подвижностью. Образуются в стенке кишечника. Являются главной формой транспорта пищевых липидов. Это самые крупные частицы. Исчезают из кровяного русла через 1 — 2 часа после еды. Метаболизируются липопротеидлипазой.

— *пре β -липопротеиды (или ЛПОНП)*. Содержат 10% белка, 90% липидов. Образуются в печени и очень мало — в тощем кишечнике, являются транспортной формой эндогенных липидов в жировую ткань. Те из них, которые не попадают в жировую ткань, превращаются в кровяном русле в липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), богатые эфирами холестерина. Это превращение катализируется липопротеидлипазой.

— *β -липопротеиды (ЛПНП)*. Содержат около 25% белка и 75% липидов. Главным компонентом является холестерин (примерно 50%) в виде эфиров с линолевой кислотой и фосфолипиды. У

здоровых людей до 2/3 всего холестерина плазмы находится в составе ЛПНП. Они являются главным поставщиком холестерина в ткани. ЛПНП регулируют синтез холестерина *de novo*. Большинство ЛПНП являются продуктами расщепления ЛПОНП липопротеидлипазой. На клеточных мембранах имеются рецепторы для ЛПНП. В клетки ЛПНП проникают путем эндоцитоза.

— *α -липопротеиды (ЛПВП)* содержат 50% белков, 25% фосфолипидов, 20% эфиров холестерина и очень мало триацилглицеринов. Образуются главным образом в печени. ЛПВП образуют комплексы с ферментом лецитинхолестеролацилтрансферазой (ЛХАТ). С помощью этого фермента свободный холестерин ЛПВП превращается в эфир (холестерид). Холестерид является гидрофобным соединением, поэтому перемещается в ядро ЛПВП. Источником жирной кислоты для этерификации холестерина является лецитин (фосфатидилхолин). Таким образом, ЛПВП, благодаря ЛХАТ, забирают холестерин от других липопротеидов и транспортируют его в печень, предотвращая накопление его в клетках. ЛПОНП и ЛПНП считают атерогенными, то есть вызывающими атеросклероз. ЛПВП — антиатерогенными.

Липопротеиды в крови имеются постоянно, но их концентрация меняется в зависимости от ритма питания. После приема пищи концентрация липопротеидов повышается. Повышение липопротеидов называется гиперлипипотеидемией. Главная опасность этого состояния связана с тем, что повышается вероятность возникновения атеросклероза. Вероятность заболевания тем выше, чем больше отношение ЛПНП к ЛПВП в крови.

Атеросклероз

Это патология, которая характеризуется отложением, главным образом, холестерина в стенке крупных сосудов (аорта, коронарные сосуды, сосуды мозга и т.д.) с образованием вначале пятен, полосок. Затем на их месте образуются утолщения (атеросклеротические бляшки). Эти липидные бляшки являются своеобразным инородным телом, вокруг которого развивается соединительная ткань, затем наступает кальцификация пораженного участка сосуда. Сосуды становятся неэластичными, плотными, ухудшается кровоснабжение ткани, а на месте бляшек могут возникать тромбы. В стенке сосудов есть два защитных механизма от избыточного отложения холестерина:

1. Работа липопротеидлипазы, которая расщепляет жир липопротеидов, делает их меньше по размеру;
2. ЛПВП, которые уносят холестерин.

Биохимические причины атеросклероза

1. Увеличение атерогенных липопротеидов (ЛПОНП и ЛПНП).
2. Снижение ЛПВП.
3. Снижение активности липопротеидлипазы, в результате которого липопротеиды не расщепляются и накапливаются в сосуде.
4. Снижение количества рецепторов к ЛПНП. Эти рецепторы находятся в основном в печени. Когда их мало, ЛПНП не захватываются печенью и остаются в кровотоке.

Факторы риска для развития атеросклероза

1. Курение.
2. Стресс.
3. Переедание (пища, богатая насыщенными жирными кислотами и углеводами).
4. Эндокринные факторы:
 - гипотиреоз;
 - сахарный диабет;
 - андрогены;
 - климакс;
 - гиперфункция гипофиза;
 - гиперфункция надпочечников.
5. Хронические гипоксии.
6. Гиподинамия.
7. Семейно-наследственные факторы.

Степень развития атеросклероза можно оценить по коэффициенту атерогенности:

общий холестерин — холестерин ЛПВП

холестерин ЛПВП

У здоровых людей это соотношение не должно превышать 3. Если выше — имеется риск ИБС.

Ожирение

У нормально упитанного человека жиры составляют около 15% массы тела. При сбалансированном питании количество жира в

организме не изменяется. При этом жиры жировой ткани все время обновляются, то есть одновременно идут липолиз и липогенез с равными скоростями. В результате жиры жировой ткани за несколько дней обновляются полностью.

При длительном голодании и физических нагрузках липолиз идет с большей скоростью, чем липогенез. В результате количество депонированного жира уменьшается. Если липогенез опережает липолиз, наступает ожирение.

Наиболее частой причиной ожирения является несоответствие между количеством потребляемой пищи и энергетическими тратами организма. Такое несоответствие возникает при переедании (особенно углеводов, так как они легко переходят в жиры), при гиподинамии (при этом мобилизация жира идет с более низкой скоростью) и, особенно, при сочетании этих факторов. Кроме того, ожирение является характерным признаком многих эндокринных заболеваний.

Люди, страдающие ожирением, в 7 раз чаще болеют диабетом, атеросклерозом, гипертонией и желчно-каменной болезнью.

Липидозы

Липидозы — это наследственные заболевания, связанные с отсутствием генов, отвечающих за синтез ферментов, расщепляющих сложные липиды.

Болезнь Гоше (цереброзидоз)

Нет фермента, расщепляющего глюкоцереброзид. В результате в лизосомах печени, селезенки и костного мозга накапливаются глюкоцереброзиды.

Болезнь Нимана-Пика

При этой болезни в лизосомах печени и селезенки накапливаются лецитины и сфингомиелины. У детей наблюдается умственная отсталость и ранняя смерть.

Болезнь Тей-Сакса

Накапливаются ганглиозиды в мозге, меньше в других тканях.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1.

1. Тема: «Переваривание липидов. Липолиз и липогенез».

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Жиры являются источником энергии в состояниях напряженной работы, а также при тяжелых стрессах и жизненно опасных ситуациях. Поэтому студенты должны знать, как происходит 1-ый этап катаболизма жира. При патологиях, приводящих к нарушению поступления желчи в тонкий кишечник, переваривание жира снижается или вообще останавливается, что может вызвать гипохолемическое состояние.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить переваривание жиров, липолиз и липогенез.

4.1.2. Научиться определять содержание общих липидов и активность липазы в сыворотке крови.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Функции липидов.
2. Переваривание жира.
3. Липолиз. Липогенез.

Уметь:

1. Определять общие липиды и активность липазы в сыворотке крови.
2. Делать выводы по результатам проведенных биохимических анализов.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Липиды. Классификация.
2. Строение и физико-химические свойства жира.
3. Характеристика первого этапа катаболизма жира.
4. Эмульгирование жира.
5. Гидролазы.

По новой теме

1. Функции липидов.

2. Переваривание и всасывание липидов. Особенности переваривания липидов у детей.

3. Ресинтез жира. Значение.

4. Хиломикроны. Строение. Значение. Метаболизм.

5. Жировые депо.

6. Липолиз. Ход реакций. Регуляция. Значение.

7. Липогенез. Ход реакций. Регуляция. Значение.

Рекомендуемая литература

1. Курс лекций по биохимии.

2. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин «Биологическая химия», 1990, стр. 276-316.

3. А.Я.Николаев «Биологическая химия» 1989, стр. 270-299.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение общих липидов в сыворотке крови. Определение активности липазы».
2. Сделать выводы по результатам проведенных опытов.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению ситуационных задач (ориентировочные задачи и вопросы приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение общих липидов в сыворотке крови

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 2 мл и 0,1 мл.

3. КФК.

4. Кюветы на 0,3 см.

5. Водяная баня.

Реактивы:

1. Серная кислота.
2. Стандартный раствор (8 г/л).
3. Фосфованилиновый реактив.
4. Сыворотка крови.

Принцип метода. Продукты гидролиза ненасыщенных липидов образуют с фосфованилиновым реактивом соединение красного цвета: интенсивность окраски прямо пропорциональна содержанию общих липидов.

Ход работы. Проводят гидролиз липидов. Для этого в 3 сухие пробирки приливают реактивы по схеме:

Реактивы (мл)	Опытная проба	Стандартная проба	Контроль
Сыворотка	0,02	—	—
Стандартный раствор (8г/л)	—	0,02	—
Серная кислота	1,5	1,5	1,5

Содержимое пробирок перемешать и нагревать 15 мин в кипящей водяной бане.

Затем охладить их в струе холодной воды и отмерить в другие сухие пробирки:

Гидролизат	0,1	0,1	0,1
Фосфованилиновый реактив	1,5	1,5	1,5

Содержимое пробирок перемешать и оставить на 40 мин. Затем колориметрируют опытную и стандартную пробы против контроля при зеленом светофилтре в кювете толщиной 0,3 см. Расчет содержания общих липидов в сыворотке проводят по обычной формуле: $(E_{оп}/E_{ст}) \times 8$ г/л, где 8 г/л — концентрация стандартного раствора липидов.

Нормальное содержание липидов — 4-8 г/л

Диагностическое значение определения общих липидов

Увеличение содержания липидов крови (гиперлипемия) возможно как физиологическое явление, которое наступает через 1-4 часа после еды. Патологическая гиперлипемия наблюдается при сахарном диабете, ожирении, атеросклерозе, гипотиреозе, панкреатите, злоупотреблении алкоголем.

2. *Определение активности липазы в сыворотке крови.*

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.
2. Пипетки на 2 мл и 0,1 мл.
3. Термостат.

Реактивы:

1. Дистиллированная вода.
2. Трис-буфер pH 8,0.
3. Эмульсия масла.
4. Фенолфталеин.
5. 0,05 Н NaOH.
6. Этанол.
7. Сыворотка.

Принцип метода. В качестве субстрата для липазы используют эмульсию растительного масла. Мерой активности фермента служит количество освободившихся жирных кислот, которые оттитровывают щелочью.

Ход работы. В 2 пробирки наливают по 0,25 мл дистиллированной воды, 0,3 мл эмульсии масла и 0,1 мл трис-буфера pH 8,0. В одну пробирку (опытную) добавляют 0,1 мл сыворотки, вторая служит контролем. Опытную пробирку встряхивают и помещают в термостат при 37°C на 15 мин. За это время в контрольную пробирку добавляют 1 каплю фенолфталеина и титруют 0,05Н NaOH до слабозеленого окрашивания. В опытную пробирку после инкубации добавляют 0,3 мл этанола и 1 каплю фенолфталеина, встряхивают и титруют щелочью до слабозеленого окрашивания.

Расчет активности липазы проводят по формуле: $(O - K) \times 10$ = единиц активности липазы в 1 мл сыворотки, где O — количество щелочи, пошедшего на титрование опытной пробы, K — количество щелочи, пошедшего на титрование контрольной пробы, 10 — коэффициент пересчета на 1 мл сыворотки.

Норма активности липазы в сыворотке от 0,5 до 1,5 единиц.

Диагностическое значение определения активности липазы

Активность липазы в сыворотке может резко повышаться при заболеваниях поджелудочной железы, особенно при остром панкреатите; при хроническом заболевании желчных путей; при пептической язве, перфорирующей в поджелудочную железу. Снижаться активность липазы может при кислотном фиброзе поджелудочной железы.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) вопросы к защите лабораторной работы

1. Что понимают под термином «общие липиды»?

2. Принцип метода определения общих липидов.
3. Что такое «гиперлипемия»?
4. Когда гиперлипемия считается физиологическим явлением? При каких патологиях повышается содержание липидов в сыворотке крови?
5. Что такое липаза? Назовите места образования липаз в ЖКТ.
6. Расскажите о принципе метода определения активности липазы в сыворотке крови.
7. Какое заболевание характеризуется резким повышением липазы в крови? Почему?
8. Когда снижается активность липазы в крови?

б) ситуационные задачи

1. У больного при зондировании 12-перстной кишки установлена задержка оттока желчи из желчного пузыря. Влияет ли это на переваривание жиров?
2. В крови пациента отмечено повышение содержания липидов. Как называется это состояние? Не может ли оно зависеть от нарушения правил взятия крови на анализ?
3. Какие липиды и в какой форме можно обнаружить в крови человека через 5 часов после того, как он съел жирные котлеты?
4. В молоке жир эмульгирован, желудочная липаза у детей активна. Нужны ли в этих условиях желчные кислоты?
5. В организме человека примерно 4 г желчных кислот. За сутки они совершают в среднем 6 оборотов между печенью и ЖКТ. За каждый оборот реабсорбируется примерно 96% желчных кислот. Сколько граммов желчных кислот синтезируется ежедневно? И сколько дней в среднем циркулирует молекула желчной кислоты?
6. У больного вследствие хронической недостаточности печени и кишечника, нарушено всасывание липидов. Какие сопутствующие гиповитаминозы отягощают, состояние больного?

Занятие № 2

1. Тема: «Обмен глицерина, жирных кислот и кетоновых тел».

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Имеет значение для изучения энергетического обмена.

4. Цель занятия:

4.1.1. Изучить обмен глицерина, жирных кислот и кетоновых тел.

4.1.2. Научиться определять содержание липопротеидов низкой плотности и кетоновых тел в сыворотке крови.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Окисление жирных кислот, глицерина и кетоновых тел до CO_2 и H_2O , энергетический выход.
2. Синтез жирных кислот.
3. Синтез кетоновых тел.

Уметь:

1. Определять содержание ЛПНП в сыворотке крови.
2. Определять содержание кетоновых тел в моче.
3. Анализировать полученные результаты, исходя из их диагностического значения.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

По базисным знаниям

1. Ферменты.
2. Этапы катаболизма.
3. Жирные кислоты. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты.

По новой теме

1. Окисление жирных кислот. Ход реакций. Регуляция.
2. Синтез жирных кислот. Ход реакций. Регуляция.
3. Обмен глицерина.
4. Источники и пути использования ацетил-КоА.
5. Кетоновые тела. Синтез. Значение. Регуляция.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение ЛПНП и кетоновых тел в сыворотке крови».
2. Сделать выводы по результатам работы.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению задач (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение содержания ЛПНП (β -липопротеидов) в сыворотке крови

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.
2. Пипетки на 2 мл, 1 мл и 0,2 мл.
3. КФК.
4. Кюветы на 5 мм.
5. Стеклянная палочка.

Реактивы: 1. 0,025 М CaCl_2 .
2. Дистиллированная вода.
3. 1% раствор гепарина.
4. Сыворотка крови.

Принцип метода. β -липопротеиды образуют с гепарином комплекс, который в присутствии хлористого кальция выпадает в осадок. По степени помутнения раствора судят о концентрации β -липопротеидов.

Ход работы. В пробирку с 2 мл 0,025 М хлористого кальция приливают 0,2 мл сыворотки, тщательно перемешивают стеклянной палочкой и определяют оптическую плотность (E_1) при красном светофильтре в кювете толщиной 0,5 см против воды. Затем в пробу добавляют 0,04 мл 1% раствора гепарина и точно через 4 мин, тщательно перемешав пробу, вновь измеряют оптическую плотность (E_2) при тех же условиях.

Количество β -липопротеидов определяют по формуле: $(E_2 - E_1) \times 10 = \text{г/л}$

Нормальное содержание β -липопротеидов в сыворотке — 3,0 — 4,5 г/л.

Диагностическое значение определения β -липопротеидов в крови

Возрастание содержания β -липопротеидов — наиболее часто встречающееся отклонение от нормы в спектре липопротеидов. Оно бывает при атеросклерозе, сахарном диабете, гипотиреозе, некоторых острых гепатитах, при резкой гипопротеинемии, гликогенозной болезни и других состояниях.

2. Определение кетоновых тел в моче нитропруссидным методом

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.
2. Мерная пробирка на 10 мл.

Реактивы:

3. Глазные пипетки.
1. Кристаллический сульфат аммония.
2. 5% раствор нитропрусида натрия.
3. Моча.
4. Аммиак (концентрированный).

Принцип метода. Кетоновые тела (ацетон и β -кетомасляная кислота) образуют с нитропруссидом натрия в щелочной среде комплексный анион, окрашенный в красно-бурый цвет. Реакция очень чувствительна.

Ход работы. В пробирку наливают 5 мл мочи и добавляют порошок сульфата аммония до насыщения. Вносят 2-3 капли концентрированного аммиака и 5 капель 5% раствора нитропрусида натрия. Встряхивают. При наличии кетоновых тел появляется темно-красная или фиолетовая окраска. В норме за сутки с мочой выводится около 40 мг кетоновых тел. Такое количество нитропруссидной реакцией не определяется.

Диагностическое значение определения кетоновых тел
Чаще всего кетонурия наблюдается при сахарном диабете (до 10-50 г в сутки). Кетоновые тела выделяются с мочой при голодании, исключении углеводов из пищи. Кетонурия наблюдается также при заболеваниях, связанных с усиленным расходом углеводов: при тиреотоксикозе, почечной глюкозурии. Кетонурия имеет место при раздражении и возбуждении ЦНС.
В раннем детском возрасте продолжительные заболевания ЖКТ (дизентерия, токсикозы) могут вызвать кетонемии и кетонурию в результате голода и истощения. Неправильное питание в раннем детском возрасте может вызвать кетонемии гораздо быстрее, чем у взрослого. Кетонурия нередко наблюдается при инфекционных заболеваниях — скарлатине, гриппе, туберкулезе, менингите. При этих заболеваниях кетонурия не имеет диагностического значения, является вторичным явлением.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) вопросы к защите лабораторной работы

- Что такое ЛПНП? Каковы их функции?
- Каков принцип метода определения ЛПНП?
- Для диагностики каких заболеваний используется определение ЛПНП?

- Назовите причины повышения содержания кетоновых тел в крови.

- Какие виды кетоза вы знаете?

- Почему кетоз приводит к метаболическому ацидозу?

- Чем опасен кетоацидоз?

б) ситуационные задачи

1. Сколько АТФ потребуется для синтеза трипальмитина из глицерина и пальмитиновой кислоты?

2. Экспериментально доказано, что жирные кислоты — естественное энергетическое «горючее» для сердца. Подсчитайте и сравните энергетический эффект аэробного окисления глюкозы и пальмитиновой кислоты.

3. Синтезируйте бутановую кислоту. Сколько и каких веществ для этого потребуется?

4. Сколько молекул ацетил-КоА надо окислить до углекислого газа и воды, чтобы покрыть энергетические затраты на синтез 3 молекул стеариновой кислоты?

5. У пациента в крови и моче резко повышено содержание кетоновых тел. Какие данные необходимы для уточнения причин этого повышения?

Занятие № 3

1. Тема: «Обмен холестерина. Липиды крови. Патологии липидного обмена. Биохимическая диагностика атеросклероза».

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Атеросклероз — заболевание, осложнения которого являются причиной инвалидности или смерти большого количества людей в развитых странах. Поэтому будущему врачу необходимо знать биохимические причины возникновения атеросклероза, факторы риска для его развития, биохимическую диагностику этого заболевания.

4. Цель занятия:

4.1.1. Изучить обмен холестерина, липиды крови, патологию липидного обмена.

4.1.2. Научиться проводить биохимическую диагностику атеросклероза.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Строение холестерина, его биологическое значение.
2. Источники холестерина.
3. Атеросклероз и другие патологии липидного обмена.
4. Транспортные формы липидов в крови.
5. Обмен сложных липидов.

Уметь:

1. Определять содержание общего холестерина в сыворотке крови.
2. Определять содержание холестерина ЛПВП.
3. Делать выводы по результатам биохимических анализов.
4. Решать ситуационные задачи.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

По базисным знаниям

1. Сложные белки.
2. Оксидоредуктазы. Характеристика.
3. Пути использования ацетил-КоА.
4. Источники НАДФН.
5. Энзимопатии.

По новой теме

1. Холестерин. Строение. Значение.
2. Синтез холестерина. Регуляция.
3. Липопротеиды крови. Классификация. Значение липопротеидов.
4. Источники и пути использования НЭЖК.
5. Атеросклероз. Значение холестерина в развитии атеросклероза. Факторы риска для развития атеросклероза.
6. Ожирение.
7. Наследственные патологии липидного обмена.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение холестерина и его фракций в сыворотке крови».
2. Сделать выводы по результатам работы.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению задач (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение общего холестерина крови методом Ильяка

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 2 мл и 0,1 мл.

3. КФК.

4. Кюветы на 0,5 см.

Реактивы:

1. Реактив Ильяка.

2. Стандартный раствор холестерина.
(5,2 ммоль/л).

3. Сыворотка крови.

4. Дистиллированная вода.

Принцип метода. Холестерин в присутствии смеси ледяной уксусной кислоты, уксусного ангидрида и концентрированной серной кислоты (реактив Ильяка) переходит в соединение зеленого цвета. Реакция происходит в темноте. Интенсивность окраски измеряют колориметрически.

Ход работы. Для проведения реакции Ильяка берут сухие пробирки. В одну пробирку к 2 мл холодного реактива Ильяка осторожно добавляют 0,1 мл сыворотки так, чтобы она стекала по стенке пробирки. Во вторую пробирку к реактиву Ильяка добавляют 0,1 мл стандартного раствора холестерина. Пробирки энергично встряхивают и оставляют на 20 минут в темноте. Затем пробы колориметрируют в кювете толщиной 0,5 см при красном светофильтре против воды. Расчет проводят по обычной формуле (см. занятие 1).

Нормальное содержание холестерина в сыворотке 3,0-6,2 ммоль/л.

2. Определение холестерина липопротеидов высокой плотности (α -холестерин)

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 2 мл и 0,1 мл.

3. КФК.

4. Кюветы на 0,5 см.

5. Лед.

Реактивы:

1. Реактив Ильяка.

2. Стандартный раствор холестерина
(5,2 ммоль/л).

3. Сыворотка крови.
4. Дистиллированная вода.
5. Смесь гепарина с $MnCl_2$.

Принцип метода. Липопротеиды низкой и очень низкой плотности образуют нерастворимые комплексы с гепарином в присутствии ионов марганца. После осаждения этих комплексов в надосадочной жидкости остаются липопротеиды высокой плотности, в которых определяют α -холестерин по реакции Ильяка или ферментативным методом.

Ход работы. К 1 мл сыворотки приливают 0,09 мл смеси гепарина и хлористого марганца. Содержимое пробирки хорошо перемешать и оставить на льду на 10 мин. Затем смесь центрифугируют 30 мин при 3000 об/мин. В прозрачном верхнем слое определяют содержание α -холестерина как это описано выше. При расчете в формулу нужно ввести коэффициент 1,09, учитывающий разведение сыворотки при осаждении липопротеидов.

Нормальное содержание α -холестерина в сыворотке — 0,91-1,95 ммоль/л.

3. Расчет коэффициента атерогенности

Коэффициент атерогенности (К) используют при оценке вероятности заболевания атеросклерозом.

$K = (\text{общий холестерин} - \alpha\text{-холестерин}) / \alpha\text{-холестерин}$

В норме $K = 3-4$. При возрастании коэффициента риск заболевания увеличивается.

4. Определение холестерина ферментативным методом

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 1 мл и 0,1 мл.

Реактивы:

1. Рабочий реагент, содержащий холестеролэстеразу, холестеролоксидазу, пероксидазу и хромоген.

2. Сыворотка крови.

Принцип метода. Определение холестерина в сыворотке крови основано на использовании сопряженных ферментативных реакций. При гидролизе эфиров холестерина холестеролэстеразой образуется свободный холестерин. Образовавшийся и имеющийся в пробе холестерин окисляется кислородом воздуха под дей-

ствием холестеролоксидазы с образованием эквимольного количества пероксида водорода. Под действием пероксидазы пероксид водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации холестерина в пробе.

Ход работы. 1 мл рабочего реагента наливают в пробирку и ставят в термостат на 5 мин при температуре 37°C. Затем добавляют 0,05 мл сыворотки крови. Смесь перемешивают и выдерживают в термостате 20 мин. Измеряют оптическую плотность пробы против дистиллированной воды при длине волны 490 нм в кювете на 0,3 см.

Расчет концентрации холестерина проводят по калибровочному графику.

Диагностическое значение определения холестерина

Общий холестерин. Гиперхолестеринемия наблюдается при атеросклерозе, сахарном диабете, гипотиреозе, механической желтухе, нефрозах, болезни Иценко-Кушинга. Гипохолестеринемия обнаружена при гипертиреозе, туберкулезе, анемии, голодании, паренхиматозной желтухе, при аддисоновой болезни, врожденных гемолитических анемиях, острых панкреатитах, полиневритах, колитах, при расстройствах питания. При заболеваниях печени снижается количество эфирносвязанного холестерина пропорционально степени нарушения функции печени.

α -холестерин. Снижение концентрации холестерина липопroteидов высокой плотности наблюдается у лиц с ишемической болезнью сердца, обусловленной коронарным атеросклерозом. Каждый из известных факторов риска атеросклероза и ИБС сопряжен со снижением α -холестерина. У лиц с наследственной гипер- α -холестеринемией реже, чем у остальных наблюдается инфаркт миокарда и ИБС.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) вопросы к защите лабораторной работы

- Что такое холестерин?
- Объясните принцип метода определения общего холестерина.
- Что такое α -холестерин?
- Каков принцип метода определения холестерина ЛПВП?

- Как рассчитывается коэффициент атерогенности? Какую информацию он дает врачу?
- Для диагностики каких заболеваний используется определение холестерина?
- Почему определение общего холестерина могло бы помочь установить гипотиреоз у детей?
- Почему при сахарном диабете повышен холестерин крови?
- Назовите патологии, при которых снижен холестерин крови.
- Почему повышение ЛПНП тесно связано с гиперхолестеринемией?

б) ситуационные задачи

1. При скормливание животным пищи, содержащей олеил-холестерин, все углеродные атомы которого были радиоактивными, через 2 часа удалось обнаружить метку в составе хило-микронов сыворотки крови. Однако, при этом радиоактивность обнаруживалась не только в холестерине и его эфирах, но и во фракциях триацилглицеринов. Объясните результаты опытов, вспомнив и записав в тетради:

- а) превращение, которому подвергаются эфиры холестерина пищи в тонком кишечнике;
- б) вещества, участвующие в процессе всасывания продуктов гидролиза;
- в) превращения, которым подвергается холестерин и высшие жирные кислоты в эпителиальных клетках кишечника;
- г) липопroteиды, в составе которых экзогенный холестерин и его эфиры поступают в кровь.

3. Животному ввели меченую по углероду глюкозу. Метка была обнаружена в молекуле холестерина. Покажите схематично основные этапы участия глюкозы в синтезе холестерина.

4. Для чего больному атеросклерозом при выписке из больницы рекомендуют диету, стимулирующую отток желчи и усиление перистальтики кишечника?

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы

- 1. Дайте определение липидов, классифицируйте их.
- 2. Какие функции выполняют жиры?

3. Какие функции выполняют липоиды?
4. Расскажите о строении и функциях триацглицерина.
5. Что такое стерины и стериды? Их строение и свойства.
6. Расскажите о фосфолипидах, их строении и свойствах.
7. Какое строение имеют гликолипиды? Их значение в организме.
8. Как перевариваются жиры в пищеварительном тракте? Что требуется для этого процесса?
9. Что такое холецистокинин? Какое значение в переваривании липидов он имеет?
10. Какое значение имеют желчные кислоты в переваривании жира?
11. Назовите конечные продукты переваривания жира. Как они всасываются?
12. Что такое ресинтез жира? Какое значение он имеет?
13. Что такое хиломикроны? Где и зачем они образуются?
14. Назовите пути метаболизма хиломикронов.
15. Что такое липолиз? Напишите его в формулах. Назовите ключевые ферменты. Как регулируется липолиз, какое значение он имеет?
16. Что такое липогенез? Ход реакций, регуляция, значение.
17. Какие жировые депо в организме вы знаете? Какое значение они имеют?
18. Напишите в формулах окисление жирных кислот. Назовите конечные продукты этого процесса и пути их дальнейшего использования.
19. Как рассчитать энергетический выход при окислении жирных кислот до углекислого газа и воды?
20. Назовите ключевые процессы окисления жирных кислот и пути их регуляции.
21. Напишите в формулах окисление глицерина. Какова энергетическая ценность этого процесса?
22. Где в клетке локализован синтез жирных кислот? Назовите вещества и ферменты, необходимые для этого процесса?
23. Напишите в формулах синтез жирных кислот.
24. Как регулируется синтез жирных кислот?
25. Назовите источники ацетил-КоА и пути его использования. От чего зависит, каким путем будет использоваться этот метаболит?

26. Напишите в формулах синтез кетоновых тел. Какие функции выполняют кетоновые тела, где они образуются?
27. Приведите схему окисления кетоновых тел до углекислого газа и воды на примере ацетоацетата. Сколько АТФ при этом образуется?
28. Что такое кетоз? Чем он характеризуется? Приведите примеры физиологического и патологического кетоза.
29. Как регулируется синтез кетоновых тел?
30. Напишите в формулах синтез холестерина.
31. В каких тканях синтезируется холестерин? Как регулируется этот процесс? Назовите другие источники холестерина в организме.
32. Какое биологическое значение имеет холестерин?
33. Что такое липопротеиды? Приведите их классификацию.
34. Дайте характеристику липопротеидам крови (состав, место образования, функции).
35. Какие липопротеиды крови являются атерогенными? Почему ЛПВП считают антиатерогенными?
36. Что такое НЭЖК? Назовите источники НЭЖК и пути их использования.
37. Дайте понятие об атеросклерозе. Назовите биохимические причины и факторы риска для развития этого заболевания.
38. Что такое ожирение? Назовите причины ожирения.
39. Что такое липидозы? Какие липидозы вы знаете? Чем они характеризуются?
40. Дайте представление о желчно-каменной болезни.

Тесты

1. Липиды — это:

- а) вещества, не растворимые в воде, но растворимые в неполярных органических растворителях;
- б) вещества, состоящие из аминокислот;
- в) продукты, образующиеся при анаэробном окислении глюкозы;
- г) альдегидоспирты.

2. Омыляемые липиды отличаются от неомыляемых тем, что:

- а) подвергаются гидролизу;

- б) содержат сложноэфирную связь;
- в) содержат водородную связь;
- г) содержат тиоэфирную связь.

3. Триацилглицерины — это:

- а) эфиры глицерина и фосфорной кислоты;
- б) эфиры глицерина и высших жирных кислот;
- в) эфиры сфингозина и высших жирных кислот;
- г) эфиры глицерина и аминокислот.

4. Жиры выполняют следующие функции:

- а) энергетическую;
- б) являются резервом эндогенной воды;
- в) входят в состав клеточных мембран;
- г) необходимы для растворения и всасывания жирорастворимых витаминов;
- д) защищают от механических и термических воздействий.

5. Главной функцией липоидов является:

- а) энергетическая;
- б) регуляторная;
- в) мембранная;
- г) механическая.

6. Главным ферментом, переваривающим жиры у взрослых, является:

- а) амилаза;
- б) липаза желудка;
- в) пепсин;
- г) липаза поджелудочной железы;
- д) трипсин.

7. Холецистокинин выполняет следующие функции:

- а) является ферментом;
- б) стимулирует освобождение поджелудочной липазы;
- в) стимулирует освобождение желчных кислот;
- г) является витамином.

8. Желчные кислоты необходимы для:

- а) эмульгирования углеводов;
- б) эмульгирования жира;
- в) активации липазы поджелудочной железы;
- г) всасывания жирных кислот с короткой цепью;

- д) всасывания жирных кислот с длинной цепью;
- е) всасывания моно-, ди- и триацилглицеринов.

9. Синтез жира — это:

- а) синтез фосфолипидов;
- б) синтез триацилглицеринов, свойственных данному организму;
- в) синтез эфиров холестерина;
- г) синтез гликолипидов.

10. Липиды не могут находиться в крови в свободном состоянии, так как:

- а) не растворимы в воде;
- б) токсичны;
- в) связывают биологически активные вещества крови;
- г) препятствуют свертыванию крови.

11. Хиломикроны — это:

- а) гликолипиды;
- б) липопротеиды;
- в) металлолипиды;
- г) гормоны;
- д) ферменты.

12. Расщепление хиломикронов происходит под действием:

- а) каталазы;
- б) липопротеидлипазы;
- в) триглицеридлипазы;
- г) катепсинов;
- д) амилазы.

13. Продуктами распада хиломикронов являются:

- а) НЭЖК;
- б) глицерин;
- в) белок;
- г) остаточный хиломикрон.

14. Расщепление жира называют:

- а) липогенезом;
- б) липолизом;
- в) гликолилизом;
- г) глюконеогенезом.

15. Липолиз является:

- а) является источником энергии;

- б) источником НЭЖК;
- в) источником витаминов;
- г) источником углеводов.

16. Липолиз отличается от переваривания жира в ЖКТ:

- а) регуляцией;
- б) локализацией;
- в) ферментами;
- г) продуктами.

17. Липогенез — это:

- а) синтез глицерина;
- б) синтез жира;
- в) синтез глюкозы;
- г) синтез креатина.

18. Липогенез усиливают:

- а) инсулин;
- б) эстрогены;
- в) соматотропин;
- г) глюкагон;
- д) глюкокортикостероиды.

19. Липогенез:

- а) имеет регуляторное значение;
- б) имеет структурообразовательное значение;
- в) является резервом эндогенной воды;
- г) позволяет запасти энергетический материал впрок.

20. Энергетические субстраты лучше хранить в виде жира, а не в виде гликогена, потому что:

- а) жиры можно накапливать без ограничений;
- б) гликогена нельзя накапливать много.

21. Жиры, синтезированные в печени, поступают в кровь в составе:

- а) хиломикронов;
- б) ЛПОНП;
- в) ЛПНП.

22. Активная форма глицерина образуется путем:

- а) метилирования;
- б) гидроксирования;
- в) фосфорилирования;

- г) гидратации;
- д) декарбоксилирования.

23. Глицерофосфат подвергается следующим превращениям:

- а) дегидрированию с образованием ДОАФ;
- б) ацилированию с образованием фосфатидной кислоты;
- в) метилированию.

24. При окислении глицерина до углекислого газа и воды образуется:

- а) 3 АТФ;
- б) 21 АТФ;
- в) 36 АТФ.

25. Окисление жирных кислот в клетке локализовано:

- а) в лизосомах;
- б) в митохондриях;
- в) в ядре;
- г) в эндоплазматическом ретикулуме.

26. Активная жирная кислота — это:

- а) ее тиоэфир;
- б) фосфорный эфир;
- в) метилированное производное;
- г) аденилированный продукт.

27. Для активации жирной кислоты необходимы:

- а) HSKoA;
- б) глюкоза;
- в) АТФ;
- г) ацил-КоАсинтетаза;
- д) ацетил-КоАкарбоксилаза.

28. β — окисление стеариновой кислоты произойдет за:

- а) 9 витков;
- б) 8 витков;
- в) 3 витка;
- г) 17 витков.

29. Продуктами β-окисления стеариновой кислоты являются:

- а) 9 молекул ацетил-КоА;
- б) 8 НАДН;

- в) 8 ФАДН₂;
г) Н₂О.

30. Ключевым ферментом β-окисления жирных кислот является:

- а) ацетил-КоАкарбоксилаза;
б) карнитинацилтрансфераза-1;
в) ацил-КоАдегидрогеназа;
г) тиолаза.

31. Пути использования ацетил-КоА являются:

- а) цикл Кребса;
б) синтез жирных кислот;
в) ацилирование глицерина;
г) синтез кетонных тел;
д) синтез холестерина;
е) синтез карнитина.

32. Для синтеза жирных кислот требуются:

- а) глюкозо-6-фосфат;
б) ацетил-КоА;
в) АТФ;
г) аммиак;
д) НАДН;
е) НАДФН.

33. Синтез стеариновой кислоты происходит за:

- а) 7 витков;
б) 8 витков;
в) 13 витков.

34. Синтез жирных кислот усиливают:

- а) АДФ;
б) АТФ;
в) мочевины;
г) малат;
д) инсулин;
е) катехоламины.

35. Причиной церебровидоза является:

- а) отсутствие фосфолипазы;
б) отсутствие ферментов, расщепляющих церебровиды;
в) отсутствие липопроотеидлипазы;
г) усиление образования церебровидов.

36. Источниками НЭЖК являются:

- а) липогенез;
б) липолиз;
в) переваривание жира;
г) действие липопроотеидлипазы.

37. НЭЖК используются:

- а) как источники энергии;
б) в липогенезе;
в) в гликолизе;
г) в синтезе холестерина.

38. Кетонными телами называют:

- а) 2-оксоглутарат;
б) пируват;
в) ацетон;
г) ацетил-КоА;
д) ацетоацетат;
е) β-гидроксипутират.

39. Кетонные тела выполняют следующие функции:

- а) являются источником энергии;
б) необходимы для синтеза миелиновых оболочек;
в) необходимы для синтеза церебровидов.

40. Кетонемия опасна тем, что приводит к:

- а) обезвоживанию тканей;
б) метаболическому ацидозу;
в) повышению кровяного давления.

41. Кетонные тела активно извлекают из крови:

- а) печень;
б) головной мозг;
в) сердце;
г) мышцы;

42. Кетонные тела синтезируются в:

- а) почках;
б) печени;
в) ЖКТ;
г) сердце;
д) легких;
е) мышцах.

43. При окислении 1 молекулы ацетоацетата до углекислого газа и воды образуется;

- а) 2 АТФ;
- б) 12 АТФ;
- в) 24 АТФ;
- г) 38 АТФ.

44. Биохимическими причинами атеросклероза являются:

- а) повышение содержания в крови атерогенных липопротеидов;
- б) снижение чувствительности рецепторов к ЛПНП;
- в) снижение активности липопротеидлипазы;
- г) снижение содержания в крови ЛПВП;
- д) повышение содержания кетоновых тел.

45. Развитию атеросклероза препятствуют следующие факторы:

- а) гиподинамия;
- б) физическая работа;
- в) гипотиреоз;
- г) гипертиреоз;
- д) эстрогены;
- е) андрогены.

46. В синтезе холестерина лимитирующим ферментом является:

- а) холестеролредуктаза;
- б) ГМГКоА-редуктаза;
- в) фосфолипаза;
- г) изомераза.

47. Холестерин выполняет следующие функции:

- а) входит в состав клеточных мембран;
- б) необходим для синтеза стероидных гормонов;
- в) необходим для синтеза витамина Д;
- г) необходим для синтеза желчных кислот;
- д) необходим для синтеза простаноидов.

48. Холестерин в основном синтезируется в:

- а) коже;
- б) печени;
- в) ЖКТ;

г) сердце;

д) жировой ткани.

49. Ожирение вызывают:

- а) усиление липолиза;
- б) торможение липолиза;
- в) усиление липогенеза;
- г) гиподинамия;
- д) переедание;
- е) тяжелая мышечная работа.

50. Неактивная липаза становится активной при наличии:

- а) колипазы и желчных кислот;
- б) колипазы;
- в) коэнзима А и желчных кислот.

51. Липопротеидлипаза находится в:

- а) печени;
- б) жировой ткани;
- в) сердечной ткани;
- г) головном мозге;
- д) почках.

52. Холеиновая кислота — это:

- а) моноглицерид и желчные кислоты;
- б) моноглицерид и жирные кислоты;
- в) жирная кислота с длинной цепью и желчные кислоты;
- г) глицерин и желчные кислоты.

53. Белая жировая ткань:

- а) выполняет регуляторную функцию;
- б) является депо жира;
- в) является депо гликогена.

54. Бурая жировая ткань выполняет следующие функции:

- а) амортизационная;
- б) терморегуляторная;
- в) структурообразовательная.

55. Липогенез идет при наличии следующих метаболитов:

- а) жирные кислоты;
- б) глицерин;
- в) HS-KoA;
- г) АТФ;
- д) глюкоза.

56. Карнитин является переносчиком:

- а) жирной кислоты в цитозоль;
- ☒ б) жирной кислоты в митохондрию;
- в) глицерина в митохондрию.

57. Пальмитиновая кислота содержит атомов углерода:

- а) 17;
- б) 18;
- в) 19;
- ☒ г) 16.

58. При окислении пальмитиновой кислоты образуется:

- а) 140 моль АТФ;
- ☒ б) 130 моль АТФ;
- в) 98 моль АТФ;
- г) 148 моль АТФ.

59. Синтез жирных кислот отличается от окисления жирных кислот следующими метаболитами:

- а) еноил-КоА;
- ☒ б) молонил-КоА;
- в) ацетил-КоА;
- г) β -кетоацил-КоА.

60. В окислении жирных кислот принимают участие следующие оксидоредуктазы:

- а) оксидазы;
- ☒ б) дегидрогеназы;
- в) редуктазы;
- г) пероксидазы.

61. В синтезе жирных кислот принимают участие следующие оксидоредуктазы:

- а) дегидрогеназы;
- ☒ б) редуктазы;
- в) гидроксилазы.

62. Ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль переносится в составе:

- ☒ а) цитрата;
- б) оксалоацетата;
- в) 2-оксоглутарата;
- г) сукцината.

63. Ацетил-КоА образуется из:

- а) глицерина;
- б) пирувата;
- в) жирных кислот;
- г) холестерина;
- д) кетоновых тел.

64. Общим метаболитом в синтезе кетоновых тел и холестерина является:

- ☒ а) β -гидрокси, β -метилглутарил-КоА;
- б) сквален;
- в) мевалоновая кислота;
- г) ацил-КоА.

65. Физиологический кетоз бывает:

- ☒ а) у новорожденных;
- б) при длительном голодании;
- в) при напряженной мышечной работе;
- г) у стариков.

66. Холестерин относится к следующему классу органических соединений:

- ☒ а) спирты;
- б) кетоны;
- в) карбоновые кислоты;
- г) сложные эфиры.

67. К атерогенным липопротеидам относятся:

- а) хиломикроны;
- б) ЛПОНП;
- ☒ в) ЛПВП;
- г) ЛПНП.

Раздел 1. Значение изучаемой темы

В количественном отношении белки занимают первое место среди всех содержащихся в живой клетке макромолекул. Велико также их разнообразие; в одной клетке можно обнаружить сотни различных видов белков. Выполняя ряд уникальных функций, белки определяют не только микро- и макроструктуру отдельных субклеточных образований, специфику клеток, органов и целого организма, но и, в значительной степени, динамическое состояние между организмом и окружающей средой.

Белковый обмен строго специфичен, обеспечивая непрерывность воспроизводства и обновления белковых тел в организме. Помимо пластической функции, белки выполняют уникальную каталитическую функцию, белками также являются многие гормоны. Таким образом, именно белковый обмен координирует, регулирует и интегрирует многообразие химических превращений в организме, подчиняя его задачам сохранения вида, обеспечивая тем самым непрерывность жизни.

Состояние белкового обмена определяется множеством факторов, как экзогенных (окружающая среда, характер питания и др.), так и эндогенных (физиологическое состояние организма, включающее нейрогуморальный статус и др.). Любые отклонения от нормального физиологического состояния организма отражаются на азотистом обмене. Знание закономерностей изменений обмена белков при данном конкретном патологическом процессе — необходимая предпосылка для правильного выбора тактики терапевтических мероприятий по устранению нарушенного процесса обмена.

Знания, полученные при изучении данного раздела биохимии, будут востребованы на всех кафедрах и в будущей врачебной деятельности.

Раздел 2. Сведения о белковом обмене

Функции белков

- ферментативная;
- структурообразовательная;

- защитная (иммунная);
- опорная;
- сократительная;
- регуляторная (гормоны, рецепторы);
- энергетическая
- транспортная (белки плазмы крови, белки мембран, белки плазматических мембран, белки каналов);
- специфические функции.

Переваривание белков

Переваривание белков осуществляется пептидазами. Пептидазы являются ферментами класса гидролаз, расщепляют пептидные связи. Различают эндо- и экзопептидазы. Эндопептидазы расщепляют внутренние пептидные связи, к ним относятся пепсин и гастриксин желудка, трипсин, химотрипсин, коллагеназа и эластаза поджелудочной железы, энтеропептидаза кишечника. Экзопептидазы расщепляют внешние пептидные связи, к ним относятся карбоксипептидаза поджелудочной железы, аминопептидаза и олигопептидазы кишечника.

Все пептидазы образуются в неактивной форме и активируются путем ограниченного протеолиза в тех местах, где они действуют.

Характеристика пептидаз

Пепсин образуется главными клетками желудка в виде препепсина. Перевод препепсина в пепсин происходит путем отщепления 42 аминокислотных остатков. Процесс начинается под воздействием протонов водорода и идет медленно, а затем каждая активная молекула пепсина действует на неактивные молекулы, и этот процесс идет быстро. Таким образом, за короткое время в желудке образуется много активных молекул пепсина, которые расщепляют связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина и триптофана). Пепсин действует в сильно кислой среде при pH 1,5 — 2,5.

Гастринсин образуется в желудке, расщепляет связи, образованные карбоксильными группами дикарбоновых аминокислот (глутамата и аспартата), действует при pH 3,5.

Трипсин образуется в поджелудочной железе в виде преприпсина. Активируется под действием энтеропептидазы кишечника.

ника путем отщепления 6 аминокислот. Трипсин расщепляет связи, образованные карбоксильными группами аргинина или лизина. Под воздействием трипсина переходят в активное состояние другие пептидазы.

Химотрипсин образуется в поджелудочной железе в виде прехимотрипсина. Активируется под действием трипсина. Расщепляет связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот.

Эластаза образуется в поджелудочной железе, расщепляет связи образованные пролином.

Коллагеназа образуется в поджелудочной железе, расщепляет коллаген.

Карбоксипептидаза образуется в поджелудочной железе в неактивной форме, активируется трипсином, отщепляет аминокислоты с С-конца, то есть является экзопептидазой.

Аминопептидаза образуется в кишечнике, отщепляет аминокислоты с N-конца.

Дипептидазы образуются в кишечнике и расщепляют дипептиды.

В результате действия вышеперечисленных пептидаз белки расщепляются до аминокислот, которые всасываются стенкой кишечника путем активного транспорта с использованием специфических переносчиков, витамина B_6 и АТФ. Через воротную вену аминокислоты попадают в печень, которая обладает наибольшей способностью поглощать аминокислоты из крови, весьма активны в этом отношении почки. Головной мозг поглощает аминокислоты избирательно. Часть аминокислот не всасывается и подвергается действию кишечной микрофлоры.

Роль HCl

- необходима для превращения препепсина в пепсин;
- создает оптимум pH для работы пепсина;
- способствует денатурации и набуханию пищевых белков;
- обладает бактерицидным действием, то есть препятствует развитию микрофлоры.

Соляная кислота образуется обкладочными клетками желудка. В добавочных клетках желудка образуется слизь, содержащая гликопротеиды. Слизь препятствует самоперевариванию желудка.

Регуляция выработки пищеварительных соков

Соки желудка:

- **Ацетилхолин**, освобождающийся при раздражении блуждающего нерва, приводит к секреции гистамина, который через H_2 -рецепторы стимулирует секрецию HCl.

- **Гастрин**, пептидный гормон желудка, вызывает выделение желудочного сока.

- **Энтерогастрон**, гормон 12-перстной кишки, тормозит секрецию HCl и препепсина в желудке.

Поджелудочные соки:

- **Секретин**, пептидный гормон 12-перстной кишки, стимулирует выделение поджелудочного сока, содержащего много воды и гидрокарбонатов, но обедненного ферментами.

- **Ацетилхолин** стимулирует секрецию поджелудочного сока, богатого ферментами.

- **Холецистокинин**, пептидный гормон 12-перстной кишки, усиливает секрецию сока поджелудочной железы, обогащенного ферментами.

- **ГКС** усиливают секрецию всех пищеварительных соков (и желудка, и поджелудочной железы), но снижает выделение слизи.

Источники аминокислот

1. Переваривание пищевых белков в ЖКТ.
2. Расщепление клеточных белков лизосомальными пептидазами (катепсинами).
3. Синтез из других аминокислот.
4. Образование из безазотистых соединений (прежде всего из кетокислот).

Пути использования аминокислот

1. Синтез белков (это основной путь использования аминокислот).
2. Синтез биологически важных соединений (пуринов, пиримидинов, гормонов, порфиринов и других).
3. Дезаминирование аминокислот с образованием кетокислот, которые могут:

- окисляться в цикле Кребса,
- использоваться в ГНГ на синтез глюкозы,
- превращаться в кетоновые тела.

Декарбоксилирование аминокислот

Декарбоксилирование аминокислот — это отщепление от аминокислоты карбоксильной группы. Процесс катализируется декарбоксилазами, в состав которых входит витамин B_6 . В большинстве случаев при декарбоксилировании аминокислот образуются амины (исключением является глутамат, при декарбоксилировании которого образуется γ -аминомасляная кислота).

Примеры реакций декарбоксилирования и функции образовавшихся продуктов:

1. При декарбоксилировании орнитина образуется путресцин, лизина — кадаверин (уравнение реакции смотрите в приложении или учебнике). Эти амины образуются при бактериальном брожении из белков и давно известны из-за неприятного запаха. Раньше их считали трупными ядами, хотя это не так. Из них образуются полиамины. Из путресцина образуются спермин и спермидин, которые стабилизируют структуру мембран. Спермидин прочно связан с ДНК и может способствовать стабилизации ее структуры.

2. При декарбоксилировании серина образуется этаноламин, который путем метилирования превращается в холин. Холин и этаноламин входят в состав сложных липидов. Из холина путем ацетилирования образуется ацетилхолин.

3. При декарбоксилировании цистеина образуется меркаптоэтиламин, который входит в состав КоА. Меркаптоэтиламин является радиопротектором.

4. Таурин образуется при декарбоксилировании цистеиновой кислоты и входит в состав таурохолевой кислоты (желчная кислота) и является нейрорегулятором.

5. При декарбоксилировании гистидина образуется гистамин, который:

- а) через H_2 -рецепторы усиливает секрецию HCl в желудке,
- б) через H_1 -рецепторы снижает артериальное давление в результате расширения мелких сосудов и увеличения их проницаемости,

в) участвует в аллергических и анафилактических реакциях.

6. При декарбоксилировании триптофана образуется триптамиин, при декарбоксилировании 5-гидрокситриптофана образуется серотонин. Оба амина являются регуляторами.

Дезаминирование аминокислот

Дезаминирование аминокислот — это процесс отщепления от аминокислоты аминогруппы. Различают несколько типов дезаминирования: окислительное, внутримолекулярное, восстановительное и гидролитическое. В организме человека имеет место окислительное дезаминирование. Для большинства аминокислот (кроме глутамата) оно протекает непрямо, вначале происходит переаминирование с образованием глутаминовой кислоты, которая, на втором этапе подвергается окислительному дезаминированию. Для треонина и лизина дезаминирование происходит другим путем.

Переаминирование (трансаминирование) аминокислот

Этот процесс был открыт Браунштейном и Крицман в 1937 г. Реакция катализируется аминотрансферазами, в состав которых входит витамин B_6 . В переаминировании участвуют аминокислота и кетокислота (чаще 2-оксоглутарат, реже — пируват и оксалоацетат). В результате реакции образуются новая аминокислота и новая кетокислота.

Значение реакции переаминирования

1. Коллекторная функция, то есть аминокислоты от многих аминокислот собираются в одной форме в виде глутамата;

2. Является источником заменимых аминокислот;

3. В ходе этой реакции аминокислоты превращаются в кетокислоты, которые могут окисляться в цикле Кребса, использоваться в ГНГ или превращаться в кетоновые тела. Аминокислоты, которые в ходе метаболизма превращаются в углеводы, называются **гликогенными**. Таких аминокислот 15. Аминокислоты, которые в ходе своего метаболизма превращаются в кетоновые тела, называются **кетогенными**. Такой аминокислотой является лейцин. Аминокислоты, которые в ходе метаболизма дают углеводы и кетоновые тела, называются **смешанными**. Такими аминокислотами являются фенилаланин, тирозин, триптофан, лизин.

4. Аминотрансферазы — это универсальные ферменты, которые имеются в каждой клетке. В крови их очень мало. Увеличение активности аминотрансфераз свидетельствует о разрушении тех клеток, где они находились. Этот факт используется для диагностики некоторых заболеваний. Так, при инфаркте миокарда в крови увеличивается активность аспаратаминотрансферазы, а при вирусном гепатите или циррозе печени увеличивается активность аланинаминотрансферазы.

Аминотрансферазы активируются катехоламинами, глюкокортикоидными, большими дозами йодтиронинов.

Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты

Происходит в митохондриях под влиянием глутаматдегидрогеназы (ГДГ). ГДГ является высокоактивным ферментом, ее тормозит АТФ, активирует АДФ. Продуктами глутаматдегидрогеназной реакции являются 2-оксоглутарат, NH_3 и НАДН.

2-оксоглутарат окисляется в цикле Кребса, НАДН — в дыхательной цепи с выделением 3 АТФ, аммиак обезвреживается.

ГДГ-реакция имеет энергетическое значение. Она особенно важна в головном мозге, так как в аварийных ситуациях поставляет энергию: например, при гипогликемии.

Восстановительное аминирование

Восстановительное аминирование — это реакция присоединения аммиака к 2-оксоглутарату с последующим восстановлением образующегося продукта. Донором водорода в этой реакции является НАДФН. Реакцию катализирует глутаматдегидрогеназа.

Значение восстановительного аминирования:

- является источником заменимых аминокислот;
- служит одним из способов связывания аммиака в клетке.

Источники аммиака и пути его обезвреживания

Аммиак образуется в результате реакций дезаминирования аминокислот, биогенных аминов (гистамина, серотонина, катехоламинов и др.), пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований, амидов аминокислот в тканях организма. Часть аммиака образуется в кишечнике в результате деятельности микрофлоры (гниение белков) и всасывается в кровь воротной вены. Содержание аммиака в крови в норме 25-40 мкмоль/л.

Причины токсичности аммиака

1. Аммиак сдвигает реакцию, катализируемую глутаматдегидрогеназой, в сторону образования глутамата. В результате снижается концентрация α -кетоглутарата, что вызывает угнетение обмена аминокислот (переаминирования) и гипознергетическое состояние (угнетение цикла Кребса).

2. Аммиак усиливает синтез глутамина из глутамата в нервной ткани. Снижение концентрации глутамата нарушает обмен нейромедиаторов, в частности синтез γ -аминомасляной кислоты — основного тормозного модулятора. Это нарушает проведение нервного импульса и вызывает судороги.

3. Аммиак в крови и цитозоле образует ион NH_4^+ , накопление которого нарушает трансмембранный перенос ионов, в частности Na^+ и K^+ , что также влияет на проведение нервного импульса.

4. Накопление аммиака может сдвигать pH в щелочную сторону, вызывая метаболический алкалоз.

Токсичный аммиак в клетках обезвреживается несколькими путями:

- используется на восстановительное аминирование (имеет небольшое значение);
- используется на образование амидов (аспарагина и глутамина), которые поступают в кровь и переносятся в печень и почки, где под действием глутаминазы и аспарагиназы соответственно расщепляются до глутамата или аспартата и аммиака. В печени аммиак используется на образование карбамоилфосфата, из почек аммиак выводится в виде аммонийных солей с мочой.
- в мышцах аммиак используется на образование аланина, который выводится в кровь и переносится в печень, где после переаминирования превращается в пируват, используемый в ГНГ для синтеза глюкозы. Образовавшаяся глюкоза поступает в кровь и переносится в мышцы, где превращается в пируват в ходе гликолиза. Обмен метаболитами (аланином и глюкозой) между печенью и мышцей называется глюкозо-аланиновым циклом.

Синтез мочевины (орнитиновый цикл)

Синтез мочевины протекает в гепатоцитах печени, является процессом циклическим. Для синтеза одной молекулы мочевины

требуется 3 молекулы АТФ, 1 молекула аммиака, 1 молекула аспартата, 1 молекула CO_2 , 1 молекула орнитина. Ход реакций смотрите в лекциях или в учебнике.

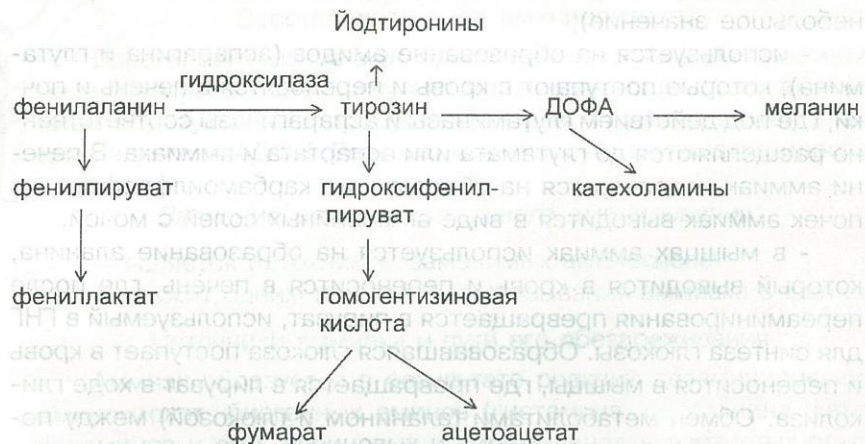
Орнитиновый цикл тесно связан с циклом Кребса:

- а) цикл Кребса поставляет синтезу мочевины CO_2 и АТФ.
- б) фумарат, образованный в орнитиновом цикле, идет в цикл Кребса, превращаясь в оксалоацетат. Оксалоацетат путем переаминирования превращается в аспартат, который опять может использоваться в синтезе мочевины.

В результате орнитинового цикла очень токсичный аммиак превращается в безвредную мочевину — главный конечный продукт азотистого обмена млекопитающих. Мочевина из печени выделяется в кровь и переносится к почкам, где выделяется с мочой. Синтез мочевины усиливают катехоламины и глюкокортикоиды.

Определение активности аргиназы и орнитинкарбамоилфосфаттрансферазы в сыворотке крови используется для диагностики патологий печени.

Обмен ароматических аминокислот



Патологии обмена ароматических аминокислот

1. **Фенилкетонурия** или пировиноградная олигофрения (слабоумие). Причины: отсутствует ген, отвечающий за синтез фе-

нилаланингидроксилазы. В отсутствие этого фермента фенилаланин переаминируется с образованием фенилпирувата и далее фениллактата. При этом не хватает тирозина, из которого образуются катехоламины и йодтиронины, а также пигмент меланин. У больных снижается устойчивость к стрессу, падает артериальное давление, появляются признаки умственной отсталости. В крови накапливаются фенилаланин, фениллактат и фенилпируват, которые в больших концентрациях являются токсичными, особенно для головного мозга ребенка, необратимо повреждая его. Поэтому требуется ранняя диагностика этого заболевания, которая проводится следующим образом: к моче ребенка добавляют хлорное железо; зеленое окрашивание свидетельствует о наличии патологии. В этом случае больного ребенка переводят на диету, обедненную фенилаланином, но богатую тирозином.

2. **Алкаптонурия** возникает при отсутствии гомогентизинаксидазы. В этом случае нарушается окисление гомогентизиновой кислоты в тканях, повышается ее содержание в жидкостях организма и моче. В присутствии кислорода гомогентизиновая кислота полимеризуется с образованием алкаптона (пигмента черного цвета). Поэтому моча таких больных на воздухе темнеет. Алкаптон может откладываться в коже, сухожилиях, хрящах носа, ушей и суставов. При значительных отложениях пигмента в суставах нарушается их подвижность.

3. **Альбинизм** возникает при отсутствии тирозиназы, которая участвует в превращении ДОФА в ДОФА-хинон и далее в меланин. В результате у людей возникает слабая пигментация кожи, волос, красноватый цвет радужной оболочки глаз.

Синтез креатина

Креатин — это небелковое азотсодержащее соединение, в образовании которого участвуют печень и почки. Процесс начинается в почках, где из глицина и аргинина образуются гликоциамин (гуанидиноацетат) и орнитин. Орнитин используется в синтезе мочевины. Гликоциамин поступает в кровь и переносится в печень, где он метилируется при участии S-аденозилметионина, превращаясь в креатин, который поступает в мышцы. Когда мышца находится в состоянии покоя, креатин под действием креатинкиназы и при участии АТФ превращается в креатинфосфат — запасной макроэрг. При мышечном сокращении фосфат с креа-

тинфосфата переносится под действием креатинкиназы на АДФ с образованием АТФ. Конечным продуктом обмена креатина является креатинин, одновременное определение которого в крови и моче проводят для расчета клиренса, показывающего очистительную способность почек. Определение активности креатинкиназы в сыворотке крови используют для диагностики инфаркта миокарда.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1

1. Тема: Переваривание белков, обмен аминокислот по карбоксильной группе.

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Знания об обмене аминокислот и белков будут использованы в других разделах биохимии, а также при изучении таких дисциплин как патофизиология, фармакология, терапия и других. Определение белка в крови и моче используется в диагностике заболеваний печени, ЖКТ, почек и других органов и систем. Определение кислотности желудочного сока необходимо для диагностики заболеваний желудка.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить основные этапы переваривания белков в ЖКТ и обмена аминокислот по карбоксильной группе.

4.1.2. Научиться применять эти знания для анализа патологических состояний, связанных с нарушением переваривания и всасывания белков.

4.1.3. Научиться определять кислотность желудочного сока и содержание белка в сыворотке крови и моче.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Ферменты, участвующие в переваривании белков, условия для их действия, продукты.

2. Патологии переваривания и всасывания белков.

3. Декарбоксилирование аминокислот. Значение этого процесса в организме.

4. Колориметрия.

Уметь:

1. Правильно проводить титрование.
2. Определять кислотность желудочного сока.
3. Определять содержание белка в сыворотке крови и моче.
4. Объяснять полученные результаты в соответствии с диагностическим значением.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

а) по базисным знаниям

1. Определение аминокислот.
2. Строение и классификация аминокислот.
3. Физико-химические свойства аминокислот.
4. Функции аминокислот.
5. Определение белков. Классификация белков.
6. Строение и физико-химические свойства белков.
7. Функции белков в организме.

б) по новой теме

1. Переваривание белков в желудке: пептидазы желудка, их характеристика. Значение ионов водорода в переваривании белков в желудке. Регуляция секреции желудочного сока.
2. Характеристика ферментов сока поджелудочной железы.
3. Регуляция секреции сока поджелудочной железы.
4. Ферменты кишечного сока.
5. Патологии переваривания белков: острый панкреатит, его диагностика и лечение; синдром нарушенного переваривания и всасывания белков.
6. Источники аминокислот в организме.
7. Пути использования аминокислот.
8. Декарбоксилирование аминокислот: ход реакции, продукты и их использование.
9. Декарбоксилирование глутамата, серина, цистеина, лизина, орнитина, триптофана, гистидина.
10. Значение реакции декарбоксилирования в образовании катехоламинов.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение кислотности желудочного сока. Определить содержание белка в сыворотке крови и моче».

2. Сделать выводы по результатам проведенных биохимических анализов.

3. Подготовиться к защите лабораторной работы (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже)

Лабораторная работа

1. Определение кислотности желудочного сока

Оборудование: 1. Стакан на 50 мл.
2. Пипетки на 1 мл и 5 мл.
3. Глазная пипетка.

Реактивы: 1. Желудочный сок.
2. 0,1 N NaOH.
3. 1% раствор фенолфталеина.
4. 0,5% раствор диметиламиноазобензола (метилвый желтый).

Принцип метода. При исследовании кислотности желудочного сока определяют несколько показателей: общую кислотность, свободную HCl, связанную HCl, общую HCl. Под общей кислотностью понимают сумму всех кислореагирующих веществ: свободная HCl, связанная HCl, органические кислоты, кислые фосфорнокислые соли. Под связанной HCl понимают кислоту, связанную с белками, общая HCl определяется как сумма свободной и связанной HCl. Определение всех показателей кислотности проводится титрованием 0,1N раствором едкого натра в присутствии разных индикаторов.

Ход работы. К 5 мл желудочного сока добавляют 1 каплю 1% раствора фенолфталеина и 1 каплю 0,5% раствора диметиламиноазобензола. Перемешивают и титруют 0,1N раствором щелочи. При появлении желто-оранжевой окраски делают первую отметку пошедшей на титрование щелочи и продолжают титровать до первого появления лимонно-желтой окраски (отметка 2). Затем продолжают титровать до перехода окраски в стойкий розовый цвет (отметка 3). Титрование проводят 2-3 раза и для расчета берут средние значения 1, 2 и 3 отметок.

Расчет: Свободная HCl = 1 x 20

Общая кислотность = 3 x 20

Общая HCl = (2+3)/2 x 20

Связанная HCl = (общая HCl — свободная HCl)

Кислотный остаток = (общая кислотность - общая HCl)

1, 2, 3 — количество мл едкого натра, пошедшего на титрование 1, 2 и 3 отметок, 20 — коэффициент пересчета кислотности на 100 мл сока.

Нормальные показатели кислотности желудочного сока (в мл едкого натра, пошедшего на титрование 100 мл сока): общая кислотность — 40-60 (40-60 ммоль/л), свободная HCl — 20-40 (20-40 ммоль/л), связанная HCl — 10-20 (10-20 ммоль/л), общая HCl — 30-60 (30-60 ммоль/л).

Диагностическое значение определения кислотности желудочного сока

Отсутствие соляной кислоты и пепсина (ахилия) часто наблюдается при злокачественных новообразованиях желудка. Понижение кислотности (гипохлоргидрия) встречается при гипoaцидном гастрите, иногда при язвенной болезни желудка. Повышенная кислотность наблюдается при гиперацидном гастрите и часто сопровождается язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. При гипoaцидном гастрите и раке желудка в желудочном соке обычно появляется молочная кислота.

2. Определение белка в сыворотке крови биуретовым методом

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.
2. Пипетки на 0,1 мл и 5 мл.
3. КФК.
4. Кюветы на 1 см.

Реактивы: 1. Биуретовый реактив.
2. Стандартный раствор белка (70 г/л).
3. 0,85% NaCl.
4. Сыворотка крови.

Принцип метода. Белки в щелочной среде образуют с сернокислой медью соединения сине-фиолетового цвета (биуретовая реакция). Интенсивность окраски пропорциональна концентрации.

Ход работы. В три пробирки внести реактивы согласно схеме:

Реактивы (мл)	Опытная проба	Стандартная проба	Контроль
Сыворотка	0,1	-	-
Стандарт. р-р белка (70 г/л)	-	0,1	-
0,85% NaCl	-	-	0,1
Биуретовый реактив	5,0	5,0	5,0

Пробы хорошо перемешать, оставить на 15 мин при комнатной температуре. Колориметрировать опытную и стандартную пробы при зеленом светофильтре в кювете толщиной 1 см против контроля.

Расчет провести по обычной формуле.

Нормальное содержание белка в крови — 65 — 85 г/л.

Диагностическое значение определения белка в сыворотке крови

Увеличение белка в крови (гиперпротеинемия) наблюдается сравнительно редко. Относительная гиперпротеинемия наблюдается при сгущении крови из-за значительных потерь жидкости.

Гипопротеинемия наблюдается при недостаточном поступлении белка с пищей, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, понижении биосинтеза белка при хронических паренхиматозных гепатитах, интоксикации, злокачественных новообразованиях. Гипопротеинемия может наблюдаться также при потерях белка организмом при острых и хронических кровопотерях, увеличенной проницаемости капилляров, кровопусканиях.

3. Качественное определение белка в моче

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 1 мл.

3. Глазная пипетка.

Реактивы: 1. Сульфосалициловая кислота.

2. Моча.

Принцип метода. Метод основан на свойстве сульфосалициловой кислоты денатурировать белок, вызывая помутнение ра-

створа. Интенсивность помутнения пропорциональна содержанию белка в моче.

Ход работы. К 4 мл мочи добавляют 8 капель 20% раствора сульфосалициловой кислоты. Наличие белка определяют по помутнению.

Диагностическое значение

Моча здорового человека содержит минимальные количества белка (около 40 мг в сутки), не обнаруживаемые качественными реакциями. Выделение белка в количестве более 4,5 мг в час, при котором качественные пробы становятся положительными, называют протеинурией. Почечные протеинурии возникают в результате органического поражения почек. Внепочечные протеинурии наблюдаются при патологических процессах мочевыводящих путей. От истинных почечных протеинурий необходимо отличать функциональные протеинурии, при которых отсутствуют органические поражения почек (протеинурия новорожденных, алиментарная протеинурия, холодовая, маршевая и т. д.). Причиной их чаще всего является увеличение размеров пор почечного фильтра при сильных внешних раздражителях.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) вопросы для защиты лабораторной работы

1. Принцип метода определения белка в сыворотке крови.
2. Что такое стандартный раствор белка и зачем он нужен в данном методе?
3. Что такое контрольная проба и зачем она нужна?
4. Почему при определении белка в сыворотке крови используется зеленый светофильтр?
5. По какой формуле рассчитывается концентрация белка?
6. Каково содержание белка в сыворотке здорового человека?
7. На чем основан принцип метода определения белка в моче?
8. Каково содержание белка в суточной моче у здорового человека?
9. Принцип метода определения кислотности желудочного сока.
10. Что понимают под свободной соляной кислотой желудочного сока?

11. Что понимают под связанной соляной кислотой желудочного сока?
12. Что понимают под общей соляной кислотой и общей кислотностью желудочного сока?
13. Как правильно проводить титрование?
14. Назовите норму для всех видов кислотности.
15. Что такое ахилия?
16. Как изменится кислотность желудочного сока при злокачественных новообразованиях желудка?
17. При каких заболеваниях наблюдается понижение кислотности желудочного сока? Как это повлияет на переваривание белков в желудке?
18. При каких заболеваниях наблюдается повышение кислотности желудочного сока? Как это отразится на переваривании белков в желудке?
19. При каких заболеваниях появляется молочная кислота в желудочном соке?
20. Какое значение имеет соляная кислота в переваривании белков в желудке?
21. Как повлияет введение гистамина на сокоотделение в желудке и почему?
22. К каким последствиям может привести длительное и неконтролируемое введение в организм ГКС и почему?
23. Объясните биохимическую сторону возникновения острого панкреатита.
24. Как биохимически можно установить наличие острого панкреатита?
25. Какие биохимические подходы существуют в лечении острого панкреатита?
26. Какова биохимическая основа лечения синдрома нарушенного переваривания и всасывания белков?

б) ситуационные задачи

1. При титровании желудочного сока установлено, что общая кислотность равна 50 ед., свободная соляная кислота равна 30 ед., связанная соляная кислота — 15 ед. Имеются ли отклонения от нормы?
2. У больного плохой аппетит, тошнота, большая потеря веса. При анализе желудочного сока установили: общая кислот-

ность равна 20 ед., свободная соляная кислота отсутствует, проба на кровь и молочную кислоту положительная, резко повышена активность ЛДГ. Дайте заключение по анализу.

3. У пациента установлено отсутствие соляной кислоты в желудочном соке. Как это отразится на пищеварении?
- ✓ 4. При изготовлении сыра для быстрого створаживания молока к нему добавляют очищенный желудочный сок телят. Зачем?
5. Какие биохимические исследования вы провели бы у пациента при заболевании поджелудочной железы? Какие анализы и как изменятся, если известно, что больной обратился в поликлинику на 5-й день после обострения заболевания?
6. В детскую больницу поступил ребенок, которому необходимо исследовать желудочный сок, но введение зонда затруднено. Каким способом можно провести исследование?
- ← 7. Больной с пониженной кислотностью желудочного сока вместо рекомендованной врачом соляной кислоты принимает уксусную. Полноценна ли эта замена?
- ✓ 8. Несколько лыжников совершили большой переход в условиях холодной погоды. У некоторых из них при исследовании мочи обнаружен белок. Почему появился белок в моче у здоровых людей?

Занятие № 2

1. **Тема:** Обмен аминокислот по аминогруппе и радикалу.
2. **Форма учебного процесса:** лабораторно-практическое занятие.

3. **Актуальность:** Аминокислоты, не использованные в синтезе белков и других биологически важных азотсодержащих соединений, могут служить источниками энергии для организма. Это особенно важно в условиях длительного голодания и других стрессовых ситуациях. Использование аминокислот для получения энергии или отложения их углеводородных цепей в запас в виде жира или гликогена невозможно без реакции дезаминирования, которая изучается на данном занятии, а ферменты, участвующие в этом процессе — аминотрансферазы — имеют боль-

шое значение в диагностике патологий печени и инфаркта миокарда. Кроме этого, изучаются молекулярные основы генетически наследуемых заболеваний таких, как фенилкетонурия, алкаптонурия и альбинизм. Этим определяется значение данной темы в плане подготовки врача не только на кафедре биохимии, но и клинических кафедрах.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить обмен аминокислот по аминокруппе и радикалу.

4.1.2. Научиться применять эти знания для анализа патологических состояний, связанных с нарушением обмена аминокислот.

4.1.3. Научиться определять активность аминотрансфераз в сыворотке крови.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Обмен аминокислот по аминокруппе.
2. Судьба безазотистого остатка аминокислот.
3. Обмен ароматических аминокислот.
4. Значение отдельных аминокислот.

Уметь:

1. Работать на КФК.
2. Определять активность аминотрансфераз.
3. Объяснять полученные результаты.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Химические реакции аминокислот по NH_2 — группе.
2. Принцип действия аминотрансфераз.
3. Строение коферментов НАД⁺ и НАДФН. Их роль в организме.
4. Третий этап катаболизма.
5. Энзимопатии.

По новой теме

1. Переаминирование (трансаминирование) аминокислот. Значение. Регуляция.
2. Дезаминирование аминокислот. Виды дезаминирования.
3. Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты. Значение. Регуляция.

4. Непрямое (косвенное) дезаминирование аминокислот. Значение.
5. Восстановительное аминирование. Значение.
6. Обмен фенилаланина и тирозина.
7. Патологии обмена ароматических аминокислот.
8. Судьба безазотистого остатка аминокислот.

Рекомендуемая литература

1. Конспект лекций.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия», 1990, стр. 337-345, 358-360, 364-368.
3. Николаев А.Я., «Биологическая химия», 1989, стр. 309-314, 331-339.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение активности аминотрансфераз в сыворотке крови».
2. Сделать выводы на основе полученных результатов.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

Определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ)

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Пипетки на 0,1 мл, 1 мл и 5 мл.
 3. КФК.
 4. Кюветы на 5 мм.
 5. Термостат.

- Реактивы:
1. Буферно-субстратная смесь для АлАТ.
 2. Буферно-субстратная смесь для АсАТ.
 3. Раствор динитрофенилгидразина.
 4. 0,4 Н NaOH.
 5. Дистиллированная вода.
 6. Сыворотка крови.

Принцип метода. Метод основан на фотометрическом определении динитрофенилгидразонов пирувата, образующегося в результате ферментативной реакции под действием АлАТ. При

действию АсАТ образуется оксалоацетат, переходящий в пируват самопроизвольно. Концентрация динитрофенилгидразонов пирувата служит мерой активности обоих ферментов.

Ход работы.

1. Определение активности АсАТ. Пробирку с 0,25 мл буферно-субстратной смеси для АсАТ помещают в термостат при 37 °С на 5 мин. Затем добавляют 0,05 мл сыворотки и оставляют в термостате на 30 мин. Когда время инкубации подходит к концу, начинают готовить контроль, в котором 0,05 мл сыворотки смешивают с 0,25 мл буферно-субстратной смеси. Сразу же в опытную и контрольную пробы добавляют 0,25 мл раствора динитрофенилгидразина и оставляют пробы на 10 мин при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку добавляют по 2,5 мл 0,4N раствора едкого натра и через 10 мин колориметрируют пробы при синем-зеленом светофильтре в кювете толщиной 0,5 см против воды.

2. Определение активности АлАТ. Проводят точно так же, как и определение активности АсАТ, только берут субстратно-буферную смесь для АлАТ.

Расчет активности АсАТ и АлАТ. Разность между оптическими плотностями контрольной и опытной проб указывает изменение оптической плотности в результате прошедшей ферментативной реакции. По этой разности определяют активность АсАТ и АлАТ по калибровочному графику. Активность ферментов выражают в мкмоль пирувата, образовавшегося за час инкубации на 1 мл сыворотки.

Норма активности АлАТ — 0,1-0,7 мкмоль/мл за 1 час, АсАТ — 0,1-0,5 мкмоль/мл за 1 час.

Диагностическое значение определения активности аминотрансфераз

Повышение активности аминотрансфераз в сыворотке отмечается при поражении органов и тканей, богатых данными ферментами. При инфаркте миокарда наблюдается повышение активности АсАТ (в 2-20 раз). Увеличение активности начинается через 6-12 часов и возвращается к исходному уровню через 4-5 дней. При стенокардии активность АсАТ, как правило, остается в норме. При заболеваниях печени в первую очередь и наиболее значительно по сравнению с АсАТ изменяется активность АлАТ. При инфекционном гепатите максимум повышения отмечается

на 6-10 день заболевания и постепенно возвращается к норме к 15-20 дню. Повышение активности АлАТ отмечается и при безжелтушной форме болезни Боткина. Механические желтухи, холангиты и ряд других заболеваний печени обычно не сопровождаются значительным повышением активности АсАТ и АлАТ и их соотношения (коэффициент де Ритиса). В норме этот коэффициент = $1,33 \pm 0,42$. При паренхиматозных заболеваниях печени происходит снижение коэффициента, а при остром инфаркте миокарда он резко возрастает.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) вопросы для защиты лабораторной работы

1. К каким ферментам (внутри- или внеклеточным) относятся аминотрансферазы?
2. Принцип определения активности аминотрансфераз.
3. При каких заболеваниях увеличивается активность аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови? Активность каких еще ферментов сыворотки крови увеличивается при этих заболеваниях?
4. Что такое коэффициент де Ритиса?
5. При каких патологиях и как изменяется коэффициент де Ритиса?

б) ситуационные задачи

1. Больному с лечебной целью ввели глутаминовую кислоту. Отмечено повышение уровня аланина. Опишите механизм процесса.
2. В приемный покой больницы поступил мужчина с жалобами на острые боли в области сердца. Врач заподозрил инфаркт миокарда и предложил исследовать активность аминотрансфераз в крови. Активность каких аминотрансфераз необходимо определить и почему изменится их активность?
3. В моче пациента обнаружена гомогентизиновая кислота. Объясните:
 - а) каково происхождение гомогентизиновой кислоты;
 - б) содержится ли гомогентизиновая кислота в моче здоровых людей?
4. Альбиносы плохо переносят воздействие солнца — «загар» не развивается, а появляются ожоги. Каковы биохимические причины возникновения альбинизма?

5. При исследовании мочи новорожденного обнаружена фенилпировиноградная кислота. О чем это свидетельствует? Что должен предпринять врач в таком случае?
6. Почему у больных фенилпировиноградной олигофренией могут наблюдаться признаки недостаточности йодтиронинов?
7. Что такое алкаптонурия? Почему у людей с этим заболеванием может наблюдаться темная окраска кожных покровов и мочи?

Занятие № 3

1. Тема: Способы обезвреживания аммиака. Обмен отдельных аминокислот.

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Аммиак — высокотоксичное вещество, накопление которого в организме, приводит к нарушению биохимических реакций и развитию патологических состояний, и даже смерти. Знание данного материала потребуется при изучении соответствующих тем в курсах патофизиологии, терапии и других клинических дисциплин.

4. Цель занятия:

- 4.1.1. Изучить обмен отдельных аминокислот и пути обезвреживания аммиака.
- 4.1.2. Научиться определять содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови.
- 4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Источники аммиака и пути его обезвреживания.
2. Обмен и значение отдельных аминокислот.

Уметь:

1. Определять содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови.
2. Рассчитывать клиренс по креатинину.
3. Объяснять полученные результаты.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень

1. Знать формулы аспартата, глутамата, глицина, аргинина, метионина.

2. Непрямое дезаминирование аминокислот.
3. Источники CO_2 в организме.

По новой теме

1. Источники аммиака в организме.
2. Причины токсичности аммиака.
3. Пути обезвреживания аммиака в клетках.
4. Синтез мочевины. Ход реакций и регуляция.
5. Связь синтеза мочевины с циклом Кребса.
6. Обмен и значение глицина, метионина, глутамата и аспартата.
7. Синтез креатина и его значение.
8. Понятие клиренса, его определение и значение.

Рекомендуемая литература

1. Конспект лекций.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия», 1990, стр. 350-368.
3. Николаев А.Я., «Биологическая химия», 1989, стр. 315-323, 325-327, 458-459.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение мочевины в сыворотке крови, определение креатинина в сыворотке крови и моче».
2. Сделать выводы на основе полученных данных.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы (вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение мочевины в сыворотке крови неферментативным методом с диацетилмоноксидом

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Пипетки на 2 мл и 0,1 мл.
 3. КФК.
 4. Кюветы на 5 мм.
 5. Водяная баня.

- Реактивы:
1. Рабочий раствор для определения мочевины.
 2. Стандартный раствор мочевины (16,7 ммоль/л).

3. Дистиллированная вода.

4. Сыворотка крови.

Принцип метода. Мочевина образует с диацетилмонооксидом в присутствии тиосемикарбазида и солей железа в кислой среде окрашенные соединения, интенсивность окраски которых определяется колориметрически.

Ход работы. В одну пробирку вносят 0,1 мл сыворотки, во вторую — 0,1 мл стандартного раствора мочевины (концентрация — 16,7 ммоль/л). Затем в обе пробирки добавляют по 2,0 мл рабочего раствора для определения мочевины, перемешивают и ставят в кипящую водяную баню на 10 мин. Затем пробирки охлаждают в струе холодной воды и колориметрируют при зеленом светофильтре в кювете толщиной 0,5 см против воды.

Расчет проводят по обычной формуле.

Нормальное содержание мочевины в сыворотке — 2,5-8,3 ммоль/л.

2. **Определение мочевины в сыворотке крови ферментативным методом**

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 0,1 мл, 1 мл и 5 мл.

3. КФК.

4. Кюветы на 1 см.

5. Термостат.

Реактивы:

1. Реагент 1.

2. Реагент 2.

3. Реагент 3.

4. Стандартный раствор мочевины (5 ммоль/л).

5. Дистиллированная вода.

6. Сыворотка.

Принцип метода. Мочевина под действием уреазы разлагается на CO_2 и NH_3 . Образовавшийся аммиак в реакции с салицилатом натрия и гипохлоритом натрия в присутствии нитропрусида натрия образует окрашенное вещество, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации мочевины и измеряется фотометрически.

Ход работы. В три пробирки добавить по 0,5 мл реагента 1

и поставить в термостат при 37°C на 5 минут. Вынуть пробирки и добавить реактивы по схеме:

№ пробирки	1	2	3
Реактивы (мл)	Опыт	Стандарт	Контроль
Сыворотка крови	0,01	-	-
Дистиллированная вода	-	-	0,01
Стандартный раствор мочевины (5 ммоль/л)	-	0,01	-

Содержимое пробирок перемешать и поставить в термостат на 5 минут. Через 5 минут достать пробирки и в каждую добавить по 2 мл реагента 2 и по 2 мл реагента 3. Хорошо перемешать и поставить в термостат на 5 минут.

После инкубации измерить оптическую плотность опытной и стандартной пробы против контрольной пробы при длине волны 640 нм (красный светофильтр) в кювете толщиной 1 см.

Расчет концентрации мочевины проводят по обычной формуле.

Диагностическое значение определения мочевины в сыворотке

Отклонения от нормального содержания мочевины в сыворотке крови зависят от скорости процессов синтеза мочевины и ее выделения.

Увеличение мочевины в сыворотке является одним из главных признаков нарушения функции почек. Из фракций остаточного азота раньше всего повышается уровень мочевины и может достигать более высоких значений по сравнению с другими фракциями остаточного азота. При почечной недостаточности азот мочевины может составлять до 90% всего остаточного азота.

Повышение уровня мочевины сыворотки может носить и непочечный характер: при потере жидкости (обезвоживание, рвота, понос), при усиленном распаде белков (острая желтая атрофия печени, тяжелые заболевания).

Уменьшение содержания мочевины может наблюдаться при

заболеваниях печени (паренхиматозная желтуха, цирроз печени) из-за нарушения синтеза мочевины.

3. Определение креатинина в сыворотке крови

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 1 мл и 5 мл.

3. Мерная пробирка на 10 мл.

3. КФК.

4. Кюветы на 1 см.

5. Центрифуга.

6. Центрифужные пробирки.

Реактивы:

1. Трихлоруксусная кислота (ТХУ).

2. Пикриновая кислота.

3. Едкий натр (NaOH).

4. Стандартный раствор креатинина (177 мкмоль/л).

5. Дистиллированная вода.

6. Сыворотка.

7. Моча, разведенная в 100 раз

Принцип метода. В щелочной среде креатинин реагирует с пикриновой кислотой, образуя оранжево-красные соединения, интенсивность окраски которых определяют колориметрически.

Ход работы. В четырех пробирках смешать реактивы по схеме:

№ пробирки	1	2	3	4
Реактивы (мл)	Опытная	Опытная	Стандарт	Контроль
Сыворотка	0,5	-	-	-
Разведенная моча	-	0,5	-	-
Дистиллированная вода	1,0	0,25	0,5	0,75
ТХУ	0,5	0,25	0,25	0,25
Стандартный раствор креатинина (177 мкмоль/л).	-	-	0,25	-

Через 5 минут содержимое пробирки №1 перенести в центрифужную пробирку и центрифугировать при 3000 об/мин в течение 5 минут. 1мл надосадочной жидкости внести в чистую

пробирку (будет №1). В каждую пробу (пробирки № 1, 2, 3, 4) добавить по 0,5 мл пикриновой кислоты и по 0,5 мл едкого натра. Перемешать и оставить на 20 минут при комнатной температуре. Колориметрирование проводить против контрольной пробы при зеленом светофильтре в кюветах толщиной 0,5см.

Расчет концентрации креатинина проводят по обычной формуле. Для мочи полученный результат умножают на 50 (коэффициент пересчета).

Содержание креатинина в суточной моче определяют по формуле:

$$C \times 1,5/1000 = \text{ммоль/сутки, где}$$

C — концентрация креатинина в моче в мкмоль/л, 1,5 — суточный диурез в литрах, 1000 — коэффициент перевода мкмоль в ммоль.

Норма креатинина в сыворотке крови — 53-106 мкмоль/л, в суточной моче — 4,4-17,6 ммоль/сутки.

Клиренс (коэффициент очищения) по креатинину рассчитывают по формуле:

$$(\text{креатинин в моче/креатинин в крови}) \times 1,07, \text{ где}$$

1,07 — минутный диурез.

В норме клиренс по креатинину — 80-120 мл/мин.

Диагностическое значение определения креатинина

Определение креатинина проводят для исследования функции почек. Содержание его в сыворотке крови увеличивается при значительном ухудшении функции почек. Креатининемия наблюдается также при закупорке мочевых путей, кишечной непроходимости, тяжелом диабете, механической желтухе, гиперфункции надпочечников, голодании. Увеличение креатинина в моче наблюдается при усиленной мышечной работе, лихорадочных состояниях, пневмонии, выраженной недостаточной функции печени.

Понижение креатинина в моче — при мышечной атрофии, голодании, дегенерации почек, лейкемии.

Расчет клиренса креатинина позволяет получить информацию об интенсивности основных функций нефрофильтрации, реабсорбции, секреции и почечном кровообращении.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. Принцип определения мочевины крови.
2. В каких случаях повышается концентрация мочевины в крови?
3. В каких случаях снижается концентрация мочевины в крови?
4. Какие ферменты синтеза мочевины могут быть использованы для диагностики патологий печени и почему?
5. Принцип метода определения креатинина в сыворотке крови.
6. Что такое клиренс и как он рассчитывается?
7. Почему расчет клиренса по креатинину является хорошим тестом фильтрационной способности почек?
8. Для диагностики каких заболеваний используется определение активности креатинкиназы и почему?

б) Ситуационные задачи

1. В крови больного отмечено увеличение концентрации креатина и креатинкиназы. С заболеванием какой ткани это связано?
2. Сколько АТФ образуется при окислении серина до CO_2 и H_2O ? 15
3. При обследовании больного обнаружено резкое увеличение отношения АсАТ/АлАТ. Какое заболевание у данного больного вы предполагаете? Активность какого фермента следует определить дополнительно для уточнения диагноза?

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы

1. Перечислите функции белков в организме. Какова потребность в белках в зависимости от возраста?
2. Что такое полноценный белок? Приведите примеры таких белков.
3. Что такое пептидазы? На какие группы делятся пептидазы и по какому признаку?
4. Расскажите о пептидазах желудка.

5. Какое значение имеет HCl в желудке?
6. Как регулируется секреция желудочного сока?
7. Какие патологии переваривания белков в желудке вы знаете?
8. Назовите пептидазы поджелудочной железы. Как и где они активируются? На какие связи в белках они действуют?
9. Перечислите пептидазы кишечника. Дайте им характеристику.
10. Как регулируется секреция поджелудочного и кишечного соков?
11. Дайте понятие об остром панкреатите и его биохимической диагностике. Каковы биохимические подходы в лечении этой патологии?
12. Что такое синдром нарушенного переваривания и всасывания белков? Какова биохимическая основа лечения этого состояния?
13. Назовите продукты переваривания белков. Какова их дальнейшая судьба?
14. Назовите источники аминокислот в организме и пути их обмена.
15. Что понимают под декарбоксилированием аминокислот. Какие продукты получатся при декарбоксилировании орнитина, лизина, серина, глутамата, гистидина, цистеина, тирозина? Какое они имеют значение?
16. Что понимают под переаминированием аминокислот. Какое значение для организма имеет этот процесс?
17. Какое диагностическое значение имеют аминотрансферазы?
18. Что такое дезаминирование аминокислот? Какие виды дезаминирования имеют место в организме человека?
19. Напишите в формулах окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты. Назовите продукты этой реакции, укажите их дальнейшую судьбу.
20. Какое значение имеет окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты? Где оно локализовано? Как регулируется?
21. Что понимают под непрямым дезаминированием аминокислот. Назовите продукты этого процесса. Какое значение он имеет?

22. Напишите в формулах восстановительное аминирование аминокислот. Какое значение оно имеет?
23. Почему аммиак токсичен? Назовите источники аммиака.
24. Как происходит предварительное обезвреживание аммиака? В каком виде аммиак выводится из большинства клеток? В каком виде он выводится из мышечных клеток? Напишите в формулах эти реакции.
25. Какова судьба глутамина и аспарагина?
26. Напишите в формулах синтез мочевины.
27. Где происходит синтез мочевины? Каковы энергозатраты этого процесса? Как он регулируется? Как он связан с циклом Кребса?
28. Какое значение в организме имеют метионин и глицин?
29. Напишите в формулах синтез креатина. Какое значение в организме он имеет?
30. Что такое креатинин? Какое значение он имеет?
31. Что такое клиренс? Как он определяется? Какое значение имеет?
32. Какое значение в диагностике имеет креатинкиназа?
33. Напишите схему превращения фенилаланина и тирозина.
34. Что такое фенилкетонурия? Какие вещества накапливаются в крови и тканях при этой патологии? Почему? Как диагностировать это заболевание? Как лечить?
35. Назовите причины возникновения алкаптонурии, симптомы этой патологии.
36. Дайте характеристику альбинизму. Причины. Следствия.
37. Дайте понятие о гликогенных аминокислотах. Приведите примеры.
38. Какие аминокислоты называются кетогенными? Какие — смешанными? Приведите примеры этих аминокислот.

Тесты

1. Белки в организме выполняют следующие функции:

- а) каталитическая;
- б) регуляторная;
- в) энергетическая;
- г) сократительная;
- д) защитная;

- е) структурообразовательная;
- ж) транспортная;
- з) мембранная.

2. Является ли правильным следующее утверждение:

Активация пептидаз сопровождается формированием активного центра ферментов, потому что изменение их конформации вызвано фосфорилированием:

- а) да;
- б) нет.

3. Соляная кислота необходима для:

- а) активации пепсина;
- б) обезвреживания бактерий;
- в) поддержания необходимого pH;
- г) нормального функционирования клеток слизистой желудка.

4. Секрецию поджелудочного сока усиливают:

- а) ацетилхолин;
- б) секретин;
- в) гастрин;
- г) холецистокинин;
- д) глюкокортикостероиды.

5. В состав панкреатического сока входят:

- а) трипсиноген;
- б) прокарбоксипептидаза;
- в) амилаза;
- г) дипептидаза.

6. Пептидазы не расщепляют белки слизистой пищеварительного тракта, потому что:

- а) вырабатываются в неактивной форме;
- б) эпителий защищен слизью;
- в) белки слизистой не являются их субстратами.

7. Для активации пептидаз в кишечнике необходимы:

- а) кислая среда;
- б) желчные кислоты;
- в) выделение воды;
- д) действие трипсина.

8. Активация пептидаз пищеварительного тракта вызвана:

- а) присоединением аллостерического активатора;
- б) отщеплением олиго- или полипептида;

- в) присоединением остатков уксусной кислоты;
- г) присоединением остатков фосфорной кислоты.

9. К эндопептидазам относятся:

- ✓ а) трипсин;
- ✓ б) химотрипсин;
- в) амилаза;
- г) аминопептидаза;
- ✓ д) энтеропептидаза.

10. Активация секреции желудочного сока происходит под влиянием:

- а) инсулина;
- ✓ б) ацетилхолина;
- в) секретина;
- ✓ г) гастрина;
- ✓ д) глюкокортикостероидов.

11. Причиной панкреатита является:

- а) чрезмерное выделение трипсина;
- б) активирующее действие секретина;
- ✓ в) преждевременная активация трипсиногена (в самой железе);
- г) разрушение клеток поджелудочной железы.

12. Потребность в пищевых белках выше среднего уровня:

- а) у пожилых людей;
- ✓ б) после тяжелого заболевания;
- ✓ в) у детей;
- г) у человека среднего возраста.

13. При остром панкреатите происходит:

- ✓ а) резкое падение кровяного давления;
- ✓ б) приступы острых болей;
- в) изменение pH в кишечнике;
- г) нарушение переваривания белка в кишечнике.

14. Аминопептидазы относятся к:

- а) синтетазам;
- б) лиазам;
- в) оксидоредуктазам;
- ✓ г) гидролазам;
- д) изомеразам.

15. Тканевые белки пищеварительного тракта не перевариваются протеолитическими ферментами благодаря:

- ✓ а) наличию муцина в составе слизи;

- б) определенному pH секретируемых соков;
- ✓ в) присутствию в клеточных мембранах углеводного компонента;
- г) наличию в секретируемых соках активаторов пептидаз.

16. Биологическая ценность пищевых белков обусловлена:

- ✓ а) наличием полного набора аминокислот;
- ✓ б) незаменимыми аминокислотами;
- ✓ в) хорошей усвояемостью белка;
- г) наличием в молекуле аминокислот атомов серы, кислорода, углерода.

17. При отсутствии соляной кислоты:

- ✓ а) перестанет работать пепсин;
- ✓ б) разовьется язва желудка;
- ✓ в) не будет активироваться пепсиноген;
- ✓ г) размножаются бактерии.

18. Для лечения панкреатита необходимо применять:

- а) препараты пищеварительных ферментов;
- ✓ б) ингибиторы пептидаз;
- в) анальгетики;
- г) антибиотики.

19. В кишечнике всасываются:

- а) олигопептиды;
- ✓ б) аминокислоты;
- в) полипептиды.

20. Следствием нарушения декарбоксилирования глутамата будет:

- а) нарушение косвенного дезаминирования других аминокислот;
- ✓ б) развитие судорог;
- в) нарушение регуляции выделения желудочного сока.

21. При белковом голодании организм получает аминокислоты:

- а) синтезируя их из углеводов;
- б) расщепляя альбумины;
- в) расщепляя мышечные белки;
- г) получая их из других аминокислот.

22. В результате декарбоксилирования аминокислот образуются:

- а) пируват;
- ✓ б) этаноламин;

- ✓ в) меркаптоэтиламин;
- г) этанол;
- д) креатинин.

23. Реакции декарбоксилирования:

- ✓ а) служат источником важных регуляторов;
- ✓ б) дают исходные вещества для получения энергии;
- ✓ в) необходимы для синтеза некоторых витаминов;
- г) участвуют в синтезе гликогена.

24. Ребенок не переносит пищу, богатую белками, потому что:

- ✓ а) нарушены процессы всасывания в кишечнике;
- ✓ б) продукты переваривания вызывают аллергическую реакцию;
- в) отсутствуют ферменты синтеза мочевины;
- г) усиливается гниение белка в толстом кишечнике и отравление его продуктами.

25. Чтобы синтез новых белковых молекул протекал без задержек, необходимо:

- ✓ а) достаточное поступление белков с пищей;
- ✓ б) наличие всего набора аминокислот (20);
- ✓ в) достаточное количество энергии;
- г) нормальное функционирование декарбоксилаз.

26. Образование заменимых аминокислот возможно, так как:

- ✓ а) присутствуют углеродные скелеты этих кислот;
- б) для этого достаточно энергии;
- ✓ в) в клетках есть аминотрансферазы;

27. После переваривания пищи пептидазы:

- а) всасываются слизистой тонкого кишечника;
- ✓ б) выделяются с фекалиями;
- ✓ в) расщепляются до аминокислот;
- г) подвергаются гниению в толстом кишечнике.

28. К экзопептидазам относятся:

- а) реннин;
- б) трипсин;
- ✓ в) карбоксипептидаза;
- ✓ г) дипептидаза;
- д) эластаза;
- ✓ е) аминопептидаза.

29. Аминокислоты крови в основном используются для:

- а) синтеза новых белков органов;
- б) обеспечения энергией организма;
- в) синтеза аминов-регуляторов;
- г) синтеза кетоновых тел.

30. У высших животных для аминокислот характерны наиболее важные превращения:

- а) декарбоксилирование;
- б) синтез белковой цепи;
- ✓ в) образование аминокислотных соединений;
- г) переаминирование;
- д) окислительное дезаминирование.

31. Пепсин вырабатывается в:

- а) добавочных клетках желудка;
- ✓ б) главных клетках желудка;
- в) обкладочных клетках желудка.

32. Острый панкреатит биохимически диагностируется путем:

- а) определения активности липазы;
- б) определения креатинкиназы;
- в) определения ЛДГ;
- ✓ г) определения активности амилазы;
- д) определения аланинаминотрансферазы.

33. Для того, чтобы окислить аминокислоту до углекислого газа и воды, необходимо ее сначала:

- а) декарбоксилировать;
- ✓ б) дезаминировать;
- в) изменить радикал;
- г) превратить аминокислоту в аминокислотное соединение.

34. Трансаминирование — важнейший процесс аминокислотного обмена, с участием которого происходят:

- ✓ а) образование субстратов для глюконеогенеза;
- ✓ б) синтез заменимых аминокислот;
- в) начальный этап катаболизма аминокислот;
- г) синтез белков в тканях.

35. Некоторые аминокислоты и их производные декарбоксилируются, при этом образуются вещества, которые могут:

- а) использоваться в глюконеогенезе;

- б) быть источниками энергии;
в) входить в состав структурных компонентов клетки;
г) выполнять роль нейромедиаторов или тканевых гормонов;
д) быть источниками аммиака при синтезе мочевины.
- 36. Большинство аминокислот дезаминируются непрямо, потому что:**
а) отсутствуют соответствующие ферменты;
б) требуется меньше ферментов;
в) энергетически не выгодно.
- 37. Для окисления глутамата до углекислого газа и воды требуются:**
а) реакции цикла Кребса;
б) глутаминсинтезная реакция;
в) реакции дыхательной цепи;
г) глутаматдегидрогеназная реакция;
д) реакции гликолиза.
- 38. Для диагностики инфаркта миокарда в сыворотке крови определяют:**
а) активность ПДГ;
б) мочевины;
в) активность креатинкиназы;
г) активность аспартатаминотрансферазы;
д) креатинин;
е) остаточный азот.
- 39. Пути связывания аммиака в клетках являются:**
а) восстановительное аминирование;
б) образование аланина;
в) образование глутамина;
г) образование аспарагина;
д) дезаминирование глутамата.
- 40. Для переаминирования аминокислот необходимы:**
а) 2-оксоглутарат;
б) аминотрансфераза;
в) липаза;
г) пируват;
д) сукцинат;
е) оксалоацетат.

- 41. Конечными продуктами глутаматдегидрогеназной реакции являются:**
а) ацетил-КоА;
б) НАДФН;
в) 2-оксоглутарат;
г) аммиак;
д) НАДН;
е) вода.
- 42. Умственное недоразвитие при фенилкетонурии объясняется:**
а) недостатком йодтиронинов;
б) накоплением токсических продуктов;
в) образованием избытка гомогентизиновой кислоты.
- 43. Из тирозина образуются:**
а) катехоламины;
б) меланин;
в) гомогентизиновая кислота;
г) гидрокситриптамин;
д) фенилпирuvat.
- 44. Для нормального протекания реакции декарбоксилирования аминокислот необходимы:**
а) глутаматдегидрогеназа;
б) декарбоксилаза;
в) витамин В₆;
г) этаноламин.
- 45. Самое тяжелое наследственное нарушение обмена фенилаланина:**
а) альбинизм;
б) тирозинурия;
в) алкаптонурия;
г) фенилкетонурия.
- 46. Выберите признаки, различающие окислительное дезаминирование и восстановительное аминирование:**
а) различная локализация в клетке;
б) различные коферменты;
в) различные ферменты;
г) различные продукты реакции.

47. Превращение фенилаланина в тирозин катализирует:

- а) фенилаланинтрансфераза;
- ✓ б) фенилаланингидроксилаза;
- в) тирозиназа.

48. Азот выводится с мочой из организма в виде:

- а) аминокислот;
- ✓ б) аммонийных солей;
- ✓ в) мочевины;
- г) азотистых оснований.

49. Синтез мочевины будет невозможен без:

- ✓ а) орнитина;
- ✓ б) аспартата;
- ✓ в) АТФ;
- г) глутамата;
- д) аргинина;
- е) глюкозы.

50. Значение определения уровня креатинина в моче заключается в том, что оно:

- ✓ а) дает представление о фильтрации в почках;
- б) служит показателем интенсивности обмена аммиака;
- в) определяет скорость обновления белков мышц;
- г) определяет качество работы печени.

51. Глутаматдегидрогеназная реакция поставляет в дыхательную цепь:

- а) аммиак;
- б) НАДН;
- ✓ в) 2-оксоглутарат.

52. В головном мозге глутаматдегидрогеназная реакция является:

- ✓ а) дополнительным источником энергии;
- б) источником глюкозы;
- в) источником воды;
- г) источником ацетил-КоА.

53. Определение активности аргиназы в крови используется для диагностики заболеваний:

- а) почек;
- б) печени;
- в) сердца;
- г) селезенки.

54. Витамин В₆ необходим для протекания:

- а) переаминирования;
- б) окислительного дезаминирования глутамата;
- в) полимеризации;
- ✓ г) декарбоксилирования;
- д) рацемизации.

55. Меченная по азоту аминокислота глутаминовой кислоты обнаружится в:

- ✓ а) мочеvine;
- б) аспартате;
- в) орнитине;
- г) аргинине.

56. Прямыми предшественниками азота мочевины при ее синтезе в орнитиновом цикле являются:

- а) аммиак;
- б) амидный азот глутамин;
- ✓ в) аминокислота аспартата;
- г) аминокислота орнитина.

57. Для диагностики инфаркта миокарда используется определение активности креатинкиназы в сыворотке крови, потому что:

- а) она не активна в мышце;
- б) она приводит к освобождению энергии, необходимой для сокращения мышцы;
- ✓ в) она освобождается из мышцы при некрозе ее клеток;
- г) это тканеспецифичный фермент.

58. Основными конечными продуктами белкового обмена в организме являются:

- ✓ а) аммонийные соли;
- б) креатин;
- в) мочевая кислота;
- г) мочевина.

59. В неработающей мышце энергия накапливается в форме:

- а) жира;
- ✓ б) креатинфосфата;
- в) АТФ;
- г) сукцината.

60. Креатинфосфат служит «энергетическим буфером» мышц, так как:

- ✓ а) обратимая креатинкиназа обеспечивает быстрое образование АТФ из АДФ;
- б) может накапливаться в больших количествах;
- в) при распаде дает энергию в большем количестве, чем АТФ.

61. Для синтеза креатина требуются:

- а) аланин;
- ✓ б) S-аденозилметионин;
- ✓ в) глицин;
- г) глюкоза;
- ✓ д) аргинин.

62. Особая роль 2-оксоглутарата и глутамата в обмене аминокислот объясняется тем, что:

- ✓ а) они служат коллектором аминок групп от остальных аминокислот;
- ✓ б) участвуют в обезвреживании аммиака;
- в) необходимы для синтеза креатина;
- г) необходимы для синтеза заменимых аминокислот.

63. В процессе синтеза мочевины энергия АТФ требуется в образовании:

- а) аргинина;
- ✓ б) карбамоилфосфата;
- ✓ в) аргининосукцината;
- г) фумарата.

64. Определение уровня мочевины в моче необходимо для оценки:

- ✓ а) качества работы гепатоцитов;
- ✓ б) качества работы почек;
- в) скорости обновления белков;
- г) уровня мышечной дистрофии.

65. Для синтеза мочевины в орнитинном цикле используется:

- ✓ а) аммиак;
- б) амидная группа глутамина;
- в) амидная группа орнитина;
- г) азот карбамоилфосфата;
- ✓ д) аминок группа аспартата.

66. При алкогольном циррозе печени могут развиваться психические расстройства из-за:

- а) нарушений обезвреживания токсинов в печени;
- ✓ б) нарушений синтеза мочевины;
- в) развития тяжелых гиповитаминозов;
- г) нарушения снабжения мозга энергией.

67. Связь цикла Кребса и орнитинового цикла мочевины осуществляется:

- а) через сукцинатдегидрогеназную реакцию;
- б) через цитратсинтазную реакцию;
- ✓ в) за счет обмена молекулами АТФ и АДФ;
- ✓ г) за счет обмена молекулами оксалоацетата и фумарата.

68. Причинами возникновения гипераммониемии в организме могут быть:

- а) врожденное снижение активности ферментов орнитинового цикла;
- ✓ б) нарушение образования и выделения аммонийных солей при нефритах;
- в) увеличение процесса глюконеогенеза из аминокислот;
- г) усиление катаболизма аминокислот.

69. Глутаматдегидрогеназная реакция для цикла Кребса:

- ✓ а) является источником 2-оксоглутарата;
- б) является источником НАДН;
- в) поставляет ацетил-КоА;
- г) является источником оксалоацетата.

70. Обмен аминокислот связан с витамином:

- а) С;
- ✓ б) B₆;
- в) А;
- г) D;
- д) B₂.

71. Найдите среди перечисленных соединений вещества, образовавшиеся из аминокислот в результате декарбоксилирования:

- ✓ а) глутамин;
- б) ацетил-КоА;
- ✓ в) триптамин;
- г) пируват;

- д) креатинфосфат;
- е) сукцинат;
- ж) оксалоацетат.

72. При отсутствии метионина в пище будут нарушаться процессы:

- а) тканевого дыхания;
- б) образования нейромедиаторов;
- в) синтеза углеводов;
- г) трансаминирования.

73. Азот в мочеvine происходит из азота:

- а) аспартата;
- б) глутамата;
- в) креатина;
- д) пуринов и пиримидинов.

74. Общими метаболитами между циклом Кребса и синтезом мочевины являются:

- а) аспартат;
- б) оксалоацетат;
- в) углекислый газ;
- г) фумарат;
- д) вода;
- е) АТФ.

75. Для оценки фильтрующей способности почек нужно:

- а) определить в моче белок;
- б) определить в моче глюкозу;
- в) определить в моче и сыворотке крови уровень креатинина;
- г) определить в моче уровень индикана.

76. Ахилия связана с отсутствием:

- а) соляной кислоты и пепсина;
- б) соляной кислоты и трипсина;
- в) пепсина и химотрипсина;
- г) пепсина и гастриксина.

77. В основе альбинизма лежит нарушение метаболизма:

- а) аланина;
- б) триптофана;
- в) тирозина;
- г) фенилаланина.

78. Чтобы превратить орнитин в цитруллин необходим:

- а) аргинин;
- б) фумарат;
- в) карбамоилфосфат.

79. В орнитиновом цикле аргининосукцинат расщепляется до:

- а) орнитина;
- б) сукцината;
- в) аргинина;
- г) фумарата;
- д) мочевины.

80. Для получения карбамоилфосфата необходимы:

- а) CO_2 ;
- б) АДФ;
- в) аммиак;
- г) АТФ;
- д) H_3PO_4 .

81. В орнитиновом цикле аргининосукцинат образуется из:

- а) аспартата и фумарата;
- б) аргинина и сукцината;
- в) аргинина и аспартата;
- г) цитруллина и аспартата.

82. В орнитиновом цикле из аргинина образуется:

- а) мочевины;
- б) цитруллин;
- в) сукцинат;
- г) фумарат;
- д) орнитин.

83. Для усиления секреции соляной кислоты нужно ввести:

- а) инсулин;
- б) гистамин;
- в) ренин;
- г) секретин.

84. Для получения глутамата с использованием аланина в аминотрансферазной реакции нужно взять:

- а) оксалоацетат;
- б) 2-оксоглутарат;
- в) пируват;
- г) ацетил-КоА.

85. При взаимодействии глутамата и пирувата в аминотрансферной реакции образуются:

- а) оксалоацетат и аланин;
- б) 2-оксоглутарат и глицин;
- ✓ в) 2-оксоглутарат и аланин;
- г) оксалоацетат и серин.

86. Для получения глутамата с использованием аспартата в аминотрансферной реакции необходим:

- а) оксалоацетат;
- б) пируват;
- ✓ в) 2-оксоглутарат;
- г) ацетил-КоА.

87. Гомогентизиновая кислота появляется в моче при отсутствии витамина:

- а) В₆;
- ✓ б) С;
- в) Д;
- г) В₁;

88. При окислении аланина до CO₂ и H₂O образуется:

- а) 18 АТФ;
- б) 17 АТФ;
- ✓ в) 15 АТФ;
- г) 12 АТФ.

89. Кетогенными называются аминокислоты, из которых в результате их метаболизма образуются:

- а) кетокислоты;
- ✓ б) кетонные тела;
- в) кетоспирты.

90. В моче здорового мужчины присутствуют:

- а) креатин;
- б) креатинин;
- в) белок;
- г) глюкоза.

Глава 7. Азотистый обмен

Раздел 1. Значение изучаемой темы

Данная тема включает обмен разных веществ, но всех их объединяет то, что они в своем составе содержат азот. Нуклеиновые кислоты — это носители генетической информации обо всех белках, работающих в организме. Нарушения в обмене нуклеиновых кислот и их функционировании приводят к серьезным последствиям, которые выражаются в виде первичных энзимопатий, а также таких болезней как подагра и других. Одним из конечных продуктов распада гемоглобина является билирубин, при накоплении которого в организме возникают желтухи. Азотистые вещества крови, в частности ее белки, имеют большое значение для жизнедеятельности. Таким образом, знание данной темы имеет большое значение в плане подготовки врача.

Раздел 2. Сведения об азотистом обмене

Переваривание нуклеопротеидов

Нуклеиновый компонент отделяется от белка в кислой среде желудка. В кишечнике РНК и ДНК гидролизуются под действием панкреатических ферментов — рибонуклеазы (РНК-азы) и дезоксирибонуклеазы (ДНК-азы). Продукты гидролиза полинуклеотидов — моонуклеотиды под действием нуклеотидаз и нуклеозидаз расщепляются на азотистые основания, пентозы (рибоза или дезоксирибоза) и фосфорную кислоту, которые всасываются.

Обмен нуклеотидов

Катаболизм пуриновых нуклеотидов

Катаболизм пуриновых нуклеотидов включает реакции гидролитического отщепления фосфатного остатка, рибозного остатка и аминокетильной группы. В результате этих реакций из АМФ образуется гипоксантин, из ГМФ — ксантин; которые под действием ксантиноксидазы превращаются в мочевую кислоту.

Образование мочевой кислоты происходит главным образом в печени. Мочевая кислота — основной продукт катаболизма пу-

риновых нуклеотидов у человека. В организме ежедневно образуется 0,5 — 1 г мочевой кислоты, которая выводится через почки.

Мочевая кислота плохо растворима в воде и жидких средах организма. В норме ее концентрация на пределе растворимости и составляет 0,1 — 0,4 ммоль/л. Если концентрация мочевой кислоты становится выше нормальной, происходит отложение ее солей (уратов) в суставах и почках. Повышение концентрации мочевой кислоты в крови называется *гиперурикемией*. Хроническое повышение уровня мочевой кислоты приводит к развитию подагры. Классическая подагра обусловлена тремя факторами — увеличенным синтезом мочевой кислоты, снижением содержания в плазме уратсвязывающего белка и замедленным выведением с мочой.

Клинические проявления подагры:

1. Повторяющиеся приступы острого воспаления суставов, чаще всего мелких (подагрический криз); обычно болезнь начинается с воспаления первого плюснефалангового сустава большого пальца ноги. Подагрический криз связан с отложением кристаллов моноводной соли мочевой кислоты в суставе.
2. Подагрические узлы (тофусы), возникают в результате местного отложения и накопления уратов; локализация — мелкие суставы, сухожилия, хрящи, кожа. Иногда кожа над тофусом атрофируется, разрушается и из тофуса выпадает порошок, состоящий из уратов. Ураты могут откладываться и в почечных лоханках, образуя почечные камни.

Для лечения подагры применяют аллопуринол — аналог гипоксантина. Аллопуринол является конкурентным ингибитором ксантиноксидазы. Его прием снижает содержание в крови мочевой кислоты.

Биосинтез пуриновых нуклеотидов

Синтез пуриновых нуклеотидов происходит двумя путями:

1. *de novo*, то есть из низкомолекулярных веществ. Для синтеза пурина необходимы: углекислый газ, глицин, формилтетрагидрофолат, глутамин, аспартат. Сборка пуринового азотистого основания происходит на 5-фосфорибозил-1-пирофosphate, который образуется из рибозо-5-фосфата при участии АТФ. В ре-

зультате синтезируется инозиновая кислота, из которой далее — АМФ и ГМФ. Образование нуклеозиддифосфатов или нуклеозидтрифосфатов происходит под действием киназ с затратой АТФ.

2. Синтез пуриновых нуклеотидов с использованием готовых азотистых оснований. Требуется мало энергии. Однако большого значения не имеет. Если этот путь заторможен, тогда возникает болезнь Леша-Нихана. При этой болезни у детей наблюдаются симптомы подагры, церебральные параличи, нарушение интеллекта, попытки наносить себе раны.

Дезоксирибонуклеотиды — предшественники ДНК — образуются из рибонуклеотидов при участии тиоредоксинредуктазы, белка — тиоредоксина и НАДФН.

Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов

Превращения пиримидиновых оснований в результате дезаминирования и декарбоксилирования идет до β-аланина, углекислого газа, аммиака и β-аминоизомасляной кислоты. β-аланин используется для синтеза дипептидов мышц — карнозина и ансерина — или выделяется с мочой, а также окисляется как обычный аланин.

Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов

Пиримидиновое основание синтезируется из карбамоилфосфата и аспарагиновой кислоты. Первоначальным соединением является дигидрооротовая кислота, из которой в дальнейшем образуются оротовая, оротидиловая и уридилловая кислоты (УМФ). Другие пиримидиновые нуклеотиды образуются из УМФ.

Синтез УМФ регулируется по механизму отрицательной обратной связи: УТФ является аллостерическим ингибитором первого фермента этой метаболической цепи — карбамоилфосфатсинтетазы. Этот механизм предотвращает избыточный синтез не только УМФ, но и всех других пиримидиновых нуклеотидов.

Оротацидурией называется состояние, связанное с выделением с мочой больших количеств оротовой кислоты (до 1,5 г, что в 1000 раз превышает норму). Болезнь связана с недостаточностью фермента, катализирующего синтез УМФ. В результате возникает недостаточность пиримидиновых нуклеотидов, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот, а оротовая кислота накапливается. При отсутствии лечения наследственная оротацидурия

приводит к развитию необратимого резкого отставания умственного и физического развития. Для лечения этого заболевания применяют уридин, что обеспечивает образование УМФ и, следовательно, других нуклеотидов.

Строение гемоглобина

Гемоглобин относится к хромопротеидам. Состоит из белка глобина и простетической группы, представленной 4-мя гемами. Глобин — тетрамер, образованный двумя α - и двумя β -полипептидными цепями. Гем содержит 4 пиррольных кольца, соединенных метиновыми мостиками, 4 метильных группы, 2 винильных радикала, 2 остатка пропионовой кислоты и двухвалентное железо, которое присоединено к азотам пиррольных колец. Гем присоединяется к гистидиновому остатку глобина. Гемоглобин выполняет транспортную функцию, переносит газы.

Распад гемоглобина

За сутки в организме человека распадается около 9 г гемпротеидов, главным образом в результате распада гемоглобина эритроцитов. Эритроциты живут 100-120 дней, распад их происходит либо в кровеносном русле, либо в селезенке. Гемоглобин, освобождающийся из эритроцитов в крови, связывается гаптоглобином и в виде комплекса гемоглобин-гаптоглобин попадает в клетки системы мононуклеарных фагоцитов, главным образом селезенки. Гемоглобин окисляется в метгемоглобин (Fe^{3+}). Гаптоглобин при этом отщепляется и переходит в кровь, а гемоглобин подвергается распаду. Под действием гемоксигеназы происходит окислительное расщепление метинового мостика гема, кольцевая структура гема разрывается и образуется вердоглобин.

Вердоглобин теряет:

- железо, которое связывается белком-переносчиком трансферрином и доставляется с кровью в костный мозг;

- глобин, который гидролизуетс катепсинами селезенки до аминокислот.

Таким образом, вердоглобин превращается в биливердин (пигмент зеленого цвета), при восстановлении которого образуется билирубин — пигмент красно-желтого цвета. Это **свободный** билирубин (непрямой, неконъюгированный). Свободный

билирубин — токсичен и плохо растворим в воде, не проникает через почечный барьер. Непрямым билирубин называется потому, что с реактивом Эрлиха он дает непрямую реакцию (после предварительной обработки сыворотки крови спиртом). Свободный билирубин, поступаая в кровь, связывается белком плазмы альбумином и с током крови поступает в клетки печени, где он легко проникает через мембрану клеток, освобождаясь от альбумина.

В печени билирубин под действием фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы связывается с глюкуроновой кислотой, при этом образуются билирубинглюкурониды или **связанный** (конъюгированный, прямой билирубин). Связанный билирубин — нетоксичен, растворим в воде, проникает через почечный барьер. Прямой билирубин с реактивом Эрлиха дает прямую реакцию. Билирубинглюкурониды могут диффундировать в кровеносные капилляры в незначительных количествах, поэтому в плазме на их долю приходится 25% от общего билирубина, а на долю свободного — 75%.

В желчных протоках происходит отщепление остатков глюкуроновой кислоты от связанного билирубина и в таком виде он поступает в кишечник, где подвергается многократному восстановлению под действием ферментов микрофлоры. В тонком кишечнике билирубин превращается в мезобилирубин, затем мезобилиноген (или уробилиноген), который всасывается в тонком кишечнике и через воротную вену поступает в печень, где уробилиноген необратимо разрушается до моно- и дипирролов. В толстом кишечнике мезобилиноген восстанавливается анаэробными бактериями до стеркобилиногена. Большая часть стеркобилиногена выделяется с фекалиями и быстро окисляется кислородом воздуха до стеркобилина, определяя цвет фекалий.

Небольшие количества стеркобилиногена всасываются в прямой кишке и через систему геморроидальных вен, минуя печень, поступают с током крови в почки, которые выводят его с мочой. Стеркобилиноген мочи окисляется в стеркобилин, частично определяя нормальный соломенно-желтый цвет мочи.

В норме содержание общего билирубина в сыворотке крови составляет 8-20,5 мкмоль/л (из них 75% свободного). Стеркобилиноген выделяется у человека в основном с калом (примерно 300 мг в сутки) и в незначительных количествах с мочой (около 1-4 мг в сутки).



У новорожденных, не имеющих кишечной микрофлоры, выделяющийся билирубин окисляется до биливердина, окрашивающего кал в зеленоватый цвет.

Нарушения пигментного обмена

В организме под влиянием различных факторов может нарушаться образование, превращение и выведение билирубина. Повышение содержания билирубина в крови ведет к отложению его в тканях, в том числе в коже и слизистых, и вызывает их окрашивание в желто-коричневый цвет. Эти состояния называют *желтухами*.

Различают:

- гемолитическую (или надпеченочную) желтуху,
- паренхиматозную (или печеночную) желтуху,
- обтурационную (механическую или подпеченочную желтуху).

Кроме того, выделяют физиологическую желтуху новорожденных и гемолитическую болезнь новорожденных.

Гемолитическая (надпеченочная) желтуха — возникает при массивном внутрисосудистом или тканевом распаде эритроцитов (переливание несовместимой по группе и резус-фактору крови и т.д.). Большое количество свободного билирубина, поступающего из клеток ретикулоэндотелиальной системы в кровоток, не успевает обезвреживаться в печени, поэтому в крови сохраняется высокий уровень этого билирубина. Фекалии из-за избытка выделяемого стеркобилина интенсивно окрашиваются, в моче содержится много стеркобилина, окрашивающего мочу в интенсивный оранжево-желтый цвет.

Паренхиматозная (печеночная) желтуха возникает вследствие повреждения клеток печени (вирусами, токсическими гепатотропными соединениями, при циррозах), приводящего к снижению образования связанного билирубина. Однако, в результате повреждения паренхимы печени желчь, а вместе с ней и связанный билирубин, поступает не только в желчные капилляры, но и в кровь. Таким образом, в крови при печеночной желтухе увеличивается содержание как связанного, так и свободного билирубина. Фекалии из-за небольшого количества выделяющегося стеркобилина слабо окрашены, в моче содержится уробилин, так как поврежденная ткань печени не способна окислить всосавшийся

мезобилиноген. Моча приобретает цвет «крепкозаваренного чая» из-за появления в моче связанного билирубина.

Механическая (подпеченочная) желтуха возникает при нарушении оттока желчи в кишечник (желчно — каменная болезнь, опухоль головки поджелудочной железы). Из-за переполнения желчных путей происходит выход связанного билирубина из клеток печени обратно в кровь. В крови резко повышается содержание связанного билирубина, который, как хорошо растворимое соединение, выделяется в больших количествах с мочой, в результате моча приобретает цвет «крепкозаваренного чая». Кал, в котором отсутствуют желчные пигменты, приобретает серовато-белый, глинистый цвет. В моче уробилиногенов и стеркобилиногенов нет.

Физиологическая желтуха новорожденных. У плода и у новорожденного количество эритроцитов и содержание гемоглобина в эритроцитах в расчете на единицу массы тела больше, чем у взрослых. В течение нескольких недель после рождения количество гемоглобина в крови новорожденного приближается к величине, характерной для взрослых. В этот период относительная скорость распада эритроцитов больше, чем в последующее время. В то же время имеется возрастной недостаток фермента конъюгации билирубина — глюкуронилтрансферазы, что приводит к повышению свободного билирубина в крови. Физиологическая желтуха новорожденных обычно проходит через 2 недели по мере увеличения количества глюкуронилтрансферазы. У недоношенных детей она продолжается дольше. Иногда у детей появляются судороги или необратимые расстройства нервной системы. Чтобы повысить активность глюкуронилтрансферазы, иногда прибегают к введению фенобарбитала, который увеличивает количество фермента и уменьшает проявления желтухи.

Гемолитическая болезнь новорожденных развивается при резус-конflikте или при несовместимости по группе крови матери и плода. Гемолитическая болезнь новорожденных наблюдается у резус-отрицательных матерей, беременных резус-положительным плодом. Резус-фактор плода, попадая в кровь матери, способствует выработке антител на него. Антитела, попадая в кровь плода, взаимодействуют с резус-фактором, вызывая разрушение эритроцитов. Максимальный синтез и выброс антител

происходит перед родами и в момент родов. При повторных беременностях резус-положительным плодом гемолиз эритроцитов может начаться уже внутриутробно. Длительное повышение свободного билирубина в крови оказывает токсическое влияние на развивающийся мозг. В тяжелых случаях гемолитической болезни новорожденных прибегают к заменному переливанию крови.

Биосинтез гемоглобина

Синтез белковой части (глобина) происходит обычным путем на рибосомах. Для образования гема требуются: железо, глицин, сукцинил-КоА, витамины B_6 , B_{12} и фолиевая кислота.

Гем является регулятором синтеза полипептидных цепей глобина. При низком содержании гема в ретикулоцитах активизируется ингибитор инициации синтеза белка и образование глобина замедляется. Накопление гема сопровождается торможением ингибитора и активацией синтеза белка.

Белки плазмы крови

Белки являются важной составной частью крови и выполняют следующие функции:

- 1) определяют онкотическое давление;
- 2) обеспечивают вязкость крови;
- 3) обеспечивают свертываемость крови;
- 4) участвуют в регуляции кислотно-основного равновесия;
- 5) выполняют транспортную функцию (переносят липиды, НЭЖК, металлы, билирубин, гемоглобин, гормоны, лекарственные вещества);
- 6) обеспечивают иммунитет (антитела, интерферон и др.);
- 7) питательная функция (белки являются резервом аминокислот).

Белки плазмы обычно делят на альбумины, глобулины и фибриноген.

Из 9-10% сухого остатка плазмы крови на долю белков приходится примерно 7,4%. Концентрация белков в плазме крови составляет 63-85 г/л. Из них на долю альбуминов приходится 57%, α_1 -глобулинов — 5%, α_2 — глобулинов — 9%, β -глобулинов — 13%, γ -глобулинов — 16%.

Альбумины

Альбумины являются самыми легкими белками плазмы крови (Мол. масса 70000). Это простые, высокогидрофильные бел-

ки. Образуются в гепатоцитах печени. Выполняют следующие функции:

- играют важную роль в поддержании коллоидно-осмотического давления крови (на 3/4 оно создается альбуминами);
- транспортируют многие вещества, в том числе билирубин, катионы металлов и красок, НЭЖК, холестерин и др.;
- служат богатым и быстро реализуемым резервом аминокислот.

Снижение содержания альбуминов в плазме крови приводит к гипопроотеинемии, так как на долю альбуминов приходится больше половины всех белков плазмы.

Причины гипоальбуминемии:

- снижение биосинтеза альбуминов из-за белкового голодания; нарушения переваривания и всасывания белков в ЖКТ; локального повреждения печени (повреждения гепатоцитов);
- потеря белка из кровяного русла из-за патологии почек; увеличения проницаемости сосудов; через ЖКТ;
- увеличение распада белков из-за активации катепсинов.

Снижение концентрации альбуминов до 30 г/л вызывает отеки.

Глобулины

Это целая группа белков, которые могут быть разделены электрофоретически на подгруппы. α и β -глобулины вырабатываются в ретикулоэндотелиальной системе, в том числе купферовскими клетками печени.

α -глобулины состоят из глико- и липопротеидов. α -глобулины участвуют в транспорте различных веществ. Они имеют самую высокую электрофоретическую подвижность. Относительное содержание α -глобулинов обычно увеличивается при острых инфекционных или воспалительных заболеваниях, связанных с раздражением ретикулоэндотелиальной системы (РЭС).

β -глобулины состоят из глико-, липо- и металлопротеидов. Они выполняют транспортную и другие функции.

γ -глобулины представлены разнообразными белками с самой низкой электрофоретической подвижностью. К этой группе относятся большинство защитных веществ крови, многие из которых обладают ферментативной активностью. γ -глобулины синтезируются плазматическими клетками. С глобулинами обычно

связана гиперпротеинемия. Уровень γ -глобулинов увеличивается при хронических заболеваниях. Существуют заболевания, при которых имеется недостаток γ -глобулинов. Это состояние называется *агаммаглобулинемия*. Врожденная агаммаглобулинемия связана с генетическим дефектом, при котором нарушается синтез γ -глобулинов, при этом обычно наблюдается отсутствие плазматических клеток.

Диспротеинемия — это такое состояние, когда изменяется процентное соотношение отдельных белковых фракций, а общее содержание белка при этом не изменяется.

Парапротеинемия — это состояние, когда в сыворотке крови появляются патологические белки. Она связана с инфекционным или токсическим раздражением ретикулоэндотелиальной системы.

Белки — ферменты

1. *Собственные ферменты* плазмы крови, которые участвуют в свертывании крови, растворении внутрисосудистых сгустков и т.д. Эти ферменты синтезируются в печени.

2. *Клеточные ферменты* освобождаются из клеток крови и клеток других тканей в результате естественного распада (лизиса). Активность этих ферментов может быть показателем некоторых патологических состояний. Например, при остром панкреатите возрастает активность (α -амилазы, липазы, трипсина и других ферментов; при раке простаты — активность кислой фосфатазы; при заболеваниях костной ткани — активность щелочной фосфатазы; при инфаркте миокарда — активность ЛДГ₁ и ЛДГ₂, креатинкиназы, аспартатаминотрансферазы; при гепатите — активность аланинаминотрансферазы, аргиназы, ЛДГ₃ и ЛДГ₄ и других печеночных ферментов.

Белки — переносчики.

Трансферрин является β -глобулином. Может взаимодействовать с Cu^{2+} и Zn^{2+} , но главным образом связывает и переносит Fe^{3+} в различные ткани (особенно в ткани РЭС). Участвует, таким образом, в регуляции концентрации свободного железа в плазме, предотвращая избыточное накопление железа в тканях и потерю его с мочой. Значительное накопление трансферрина наблюдается в плазме беременных женщин и пациентов с недостатком железа.

Трансферрин — переносчик железа

Гаптоглобин является α_2 -глобулином, выполняет следующие функции:

- связывает гемоглобин в соотношении 1:1, в результате образуются высокомолекулярные комплексы, которые не могут выводиться почками. Это, с одной стороны, предотвращает потерю железа с мочой, с другой — защищает почки от повреждения гемоглобином. Комплекс «гемоглобин-гаптоглобин» захватывается клетками РЭС, где гемоглобин освобождается и подвергается метаболизму с образованием желчных пигментов, железа и аминокислот;
- транспортирует витамин B_{12} ;
- выполняет неспецифическую защитную функцию, образуя комплексы с различными белками и небелковыми веществами, появляющимися при распаде клеток;
- является естественным ингибитором катепсина В.

Церулоплазмин является α_2 -глобулином, выполняет следующие функции:

- является переносчиком и регулятором концентрации ионов меди в организме, особенно в печени. При его недостатке концентрация меди возрастает и она откладывается в органах, в частности, в печени и гипоталамических ядрах мозга, что вызывает неврологические расстройства (подергивание, тремор, потеря ориентации). Недостаток церулоплазмينا вызывает болезнь Коновалова-Вильсона. Такое же состояние возникает и при потере способности церулоплазмينا связывать медь;
- является антиоксидантом;
- обладает ферроксидазной и полиаминоксидазной активностями.

Белки — ингибиторы ферментов

Они ингибируют действие протеолитических ферментов (протеиназ). В настоящее время хорошо изучены: α_1 -антитрипсин, α_2 -макроглобулин, интер- α -трипсиновый ингибитор. Они ингибируют многие ферменты свертывания крови, а также трипсин и химотрипсин. Считают, что α_1 -антитрипсин может играть защитную роль, ингибируя протеиназы, поступающие в кровь в результате лизиса клеток; он также подавляет подвижность сперматозоидов в половых путях, эластазу нейтрофилов. Недостаток этого ингибитора приводит к развитию воспаления в зоне очага.

Это группа белков плазмы, содержание которых увеличивается в ответ на повреждение ткани, воспаление, опухолевый процесс. Эти белки синтезируются в печени и являются гликопротеинами. К белкам острой фазы относятся:

- **гаптоглобин** (увеличивается в 2-3 раза, особенно при раке, ожогах, хирургических вмешательствах, воспалении);
- **церулоплазмин** (имеет значение как антиоксидант);
- **трансферрин** (содержание снижается);
- **C-реактивный белок**. Отсутствует в сыворотке здорового человека, но обнаруживается при патологических состояниях, сопровождающихся некрозом (острая фаза ревматизма, инфаркт миокарда и др.). Предполагается, что он способствует фагоцитозу.
- **интерферон** — специфический белок, появляющийся в клетках в результате проникновения в них вирусов. Он угнетает размножение вирусов в клетках. Обладает видовой специфичностью, но не абсолютной.
- **фибриноген**, основная функция которого участие в свертывании крови. Синтез фибриногена начинается через несколько часов после травмы с максимумом на конец 1-2 суток.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие №1

1. Тема: Обмен нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

2. Форма учебного процесса: Лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Нуклеиновые кислоты составляют существенную небелковую часть нуклеопротеидов. Помимо важной роли нуклеиновых кислот в хранении и реализации наследственной информации, промежуточные продукты их обмена — нуклеотиды, выполняют регуляторные функции, контролируя биоэнергетику и скорость метаболических процессов. Знание процессов обмена азотистых оснований необходимо для изучения патологии пуринового обмена. Материал данной темы используется в курсах терапии, урологии и гематологии.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить синтез и распад пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

4.1.2. Научиться определять содержание мочевой кислоты в сыворотке крови и моче.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Строение и функции нуклеотидов и нуклеиновых кислот.
2. Обмен нуклеиновых кислот и нуклеотидов.

Уметь:

1. Определять мочевую кислоту в сыворотке крови.
2. Объяснять полученные результаты.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

- 141-142 1. Строение пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований.
2. Строение нуклеозидов и нуклеотидов.
3. Функции нуклеотидов.
4. Строение нуклеиновых кислот.
5. Отличия ДНК и РНК. 146.148
6. Понятие о нуклеопротеидах. Примеры нуклеопротеидов.

По новой теме

1. Виды нуклеиновых кислот, строение и функции.
2. Переваривание нуклеопротеидов.
3. Распад пуриновых оснований. Подагра.
4. Распад пиримидиновых оснований.
5. Синтез пиримидиновых нуклеотидов.
6. Синтез пуриновых нуклеотидов. Болезнь Леша-Нихана.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение мочевой кислоты».
2. Сделать выводы по результатам проведенных опытов. Оформить результаты опытов в виде таблицы и графика.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению задач (ориентировочные задачи и вопросы приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение мочевой кислоты в сыворотке крови

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 1 мл и 2 мл.

3. КФК.

4. Кюветы на 0,5 см.

5. Центрифуга.

Реактивы:

1. 20% раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ).

2. Насыщенный раствор соды.

3. Реактив Фолина (фосфорно-вольфрамовый реактив).

4. Дистиллированная вода.

5. Сыворотка крови.

6. Разведенная в 50 раз моча.

Принцип метода. Мочевая кислота восстанавливает фосфорно-вольфрамовый реактив с получением окрашенных продуктов синего цвета. Интенсивность окраски определяют колориметрически.

Ход работы. В центрифужную пробирку наливают 1 мл сыворотки, 1 мл дистиллированной воды и 1 мл 20% раствора ТХУ. Перемешивают и через 15 мин центрифугируют 5 мин при 3000 об/мин. В чистую пробирку наливают 1,5 мл прозрачного центрифугата, 0,7 мл насыщенного раствора соды и 1 каплю реактива Фолина (фосфорно-вольфрамовый реактив). Через 10 мин пробу колориметрируют при зеленом светофильтре в кювете толщиной 0,5 см против воды.

Концентрацию мочевой кислоты определяют по калибровочному графику.

2. Определение мочевой кислоты в моче

Проводится так же, как в сыворотке, только вместо центрифугата сыворотки в пробу добавляют 1,5 мл мочи, разведенной в 50 раз. Содержание мочевой кислоты в пробе определяют по калибровочному графику и используют для расчета количества мочевой кислоты, выделяемого с мочой за сутки.

Расчет проводят по формуле: $A \times 0,075 = \text{г/сутки}$, где

A — количество мкг мочевой кислоты, определенное в пробе;

0,075 — коэффициент пересчета, переводящий количество кислоты в г с учетом количества суточной мочи.

Нормальное содержание мочевой кислоты в сыворотке крови — 0,12-0,46 ммоль/л. С мочой за сутки выводится 0,4-1 г мочевой кислоты.

Диагностическое значение определения мочевой кислоты

Повышение содержания мочевой кислоты в крови наблюдается при нарушении ее выделения из организма (заболевания почек, ацидоз, токсикоз беременности) и повышенном распаде нуклеопroteидов (некоторые гематологические заболевания, прием пищи, богатой пуринами).

Понижение мочевой кислоты в крови наблюдается при гепатолентикулярной дегенерации, в некоторых случаях акромегалии, у больных анемией после приема пиперазина, атофана, салицилатов, дикумерола и АКТГ.

В моче содержание мочевой кислоты возрастает при лейкемии, истинной полицитемии, терапии кортизолом или АКТГ, а также при гепатолентикулярной дегенерации.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. На чем основан метод определения мочевой кислоты?
2. При каких заболеваниях повышается концентрация мочевой кислоты в сыворотке крови и усиливается ее выделение с мочой?
3. Когда наблюдается понижение мочевой кислоты в крови?
4. Оцените результаты, полученные при проведении лабораторной работы.
5. Какие лекарственные препараты вызывают снижение мочевой кислоты в сыворотке крови?
6. Как пользоваться калибровочным графиком?
7. Каково содержание мочевой кислоты в сыворотке крови и моче здорового человека?
8. Назовите азотистые основания, катаболизм которых приводит к образованию мочевой кислоты?

б) ситуационные задачи

1. Составьте диету для больного подагрой.
2. У больного в крови содержится мочевая кислота в концентрации 1 ммоль/л; содержание креатинина в сыворотке крови 130 мкмоль/л. Какое заболевание можно предположить?
3. Какое наследственное заболевание сопровождается гиперурикемией?
4. Почему при лечении подагры аллопуринолом, наблюдаются ксантиновые камни?
5. Почему при лейкозах, злокачественных новообразованиях, голодании увеличивается содержание мочевой кислоты в крови и моче?
6. Почему подагру называли «болезнью гурманов»?
7. Больному подагрой долгое время вводили аллопуринол. В результате в моче обнаружено большое содержание оротовой кислоты. Объясните это явление.
8. У двух мужчин определяли содержание мочевой кислоты в крови и моче. У одного из них концентрация мочевой кислоты в крови была 80 мг/л, а за сутки выделилось 3 г. У другого кровь содержала 20 мг/л мочевой кислоты, а за сутки выделилось 2 г. Какие выводы можно сделать по этим результатам?

Рекомендуемая литература

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия», 1998, стр. 439 -447, 469-506.
2. Строев Е.А., «Биологическая химия», 1986, стр. 292-297, 297-300.
3. Николаев А.Я., «Биологическая химия», 1989, стр. 339-350, 415-418, 437-439.
4. Лекции.

Занятие №2

1. **Тема:** «Обмен нуклеиновых кислот. Синтез белка и его регуляция»
2. **Форма учебного процесса:** Конференция.
3. **Актуальность:** Нарушение синтеза белка приводит к возникновению наследственных болезней. Знание регуляции био-

синтеза белка в организме и механизмов воздействия на него лекарственных средств имеет большое значение во врачебной деятельности.

4. Цель общая:

- 4.1.1. Изучить синтез ДНК и РНК.
- 4.1.2. Изучить механизмы синтеза белка и его регуляции.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Репликация нуклеиновых кислот.
2. Транскрипция нуклеиновых кислот.
3. Синтез белка и его регуляция.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень

1. Строение нуклеотидов.
2. Строение нуклеиновых кислот.
3. Ферменты.
4. Строение белков.

По новой теме

1. Репликация.
2. Транскрипция.
3. Генетический код. Свойства.
4. Рекогниция.
5. Трансляция.
6. Регуляция биосинтеза белка.

План занятия

1. Преподаватель предлагает провести занятие в форме конференции. Для этого группу делят на подгруппы.
2. В каждой подгруппе назначают лектора, рецензента и оппонентов.
3. Лекторы получают темы докладов. Доклад готовится в течение 20 минут. За это время остальные студенты каждой подгруппы готовят вопросы и ситуационные задачи по теме доклада.
4. Заслушивают и обсуждают все доклады.
5. В конце занятия преподаватель оценивает работу каждого студента.

Занятие № 3

1. Тема: «Азотистые вещества крови. Хромопротеиды. Взаимосвязь обменов»

2. Форма учебного процесса: Лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Материал данной темы имеет медицинское значение, в частности определение остаточного азота и билирубина используется для диагностики.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить белковые и небелковые азотсодержащие вещества крови.

4.1.2. Изучить строение гемоглобина, его функции, синтез и распад.

4.1.3. Изучить взаимосвязь обменов.

4.1.4. Научиться определять остаточный азот и билирубин в сыворотке крови.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Функции белков плазмы крови.

2. Небелковые азотсодержащие вещества крови.

3. Виды гиперазотемий.

4. Обмен билирубина, клиническое значение.

5. Взаимосвязь обменов.

Уметь:

1. Определять остаточный азот в сыворотке крови.

2. Определять билирубин и его фракции в сыворотке крови.

3. Объяснять полученные результаты.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень

1. Строение и свойства простых и сложных белков.

2. Этапы катаболизма веществ.

3. Гликолиз, окисление жирных кислот и глицерина, цикл Кребса, пентозофосфатный путь.

По новой теме

1. Белки плазмы крови, функции, изменения содержания.

2. Остаточный азот крови и его фракции.

3. Гиперазотемии.

4. Хромопротеиды. Классификация. Роль хромопротеидов.

5. Гемоглобин, строение, значение.

6. Синтез и распад гемоглобина.

7. Формы билирубина и их значение для диагностики.

8. Связь углеводного и липидного обменов.

9. Связь липидного и азотистого обменов.

10. Связь углеводного и азотистого обменов.

11. Связь обмена нуклеиновых кислот с другими обменами.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение остаточного азота и билирубина в сыворотке крови».

2. Сделать выводы по результатам проведенных опытов. Оформить результаты опытов.

3. Подготовиться к защите лабораторной работы и решению задач (ориентировочные задачи и вопросы приведены ниже).

Лабораторная работа

1. *Определение остаточного азота в сыворотке крови.*

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 0,1 мл, 1 мл и 5 мл.

3. Колба на 50 или 100 мл.

4. Центрифуга.

5. Центрифужные пробирки.

Реактивы:

1. Реактив А.

2. Реактив В.

3. KI кристаллический.

4. HCl.

5. 1% раствор крахмала.

6. Сыворотка.

7. Дистиллированная вода.

8. 0,005 N раствор тиосульфата натрия.

Принцип метода. Остаточный азот — это небелковый азот биологических жидкостей. Гипобромитный метод его определения основан на свойстве гипобромита разрушаться при взаимодействии с азотистыми веществами безбелкового центрифугата. Остаток непрореагировавшего гипобромита определяют йодометрически — титрованием тиосульфатом натрия. Для расчета коли-

чества остаточного азота определяют количество разрушенного гипобромита, как разность между титром контрольной пробы (не содержащей остаточного азота) и опытной пробы (с остаточным азотом).

Ход работы. Для осаждения белков в пробирку наливают 1 мл дистиллированной воды, 0,1 мл сыворотки и 4,0 мл осаждающего реактива. Через 10 мин смесь центрифугируют 5 мин при 3000 об/мин. За это время готовят рабочий раствор гипобромита, смешивая 9 частей реактива А и 1 часть реактива В. В колбу для титрования отбирают 4 мл центрифугата, добавляют 5 мл рабочего раствора гипобромита, перемешивают и оставляют на 1-2 мин. Затем добавляют несколько кристалликов KI, 3 мл раствора HCl, смесь взбалтывают и титруют 0,005N раствором тиосульфата до слабо-желтого цвета. Добавляют 2-3 капли раствора крахмала и дотитровывают до обесцвечивания. Одновременно с опытной готовят контрольную пробу, содержащую 4 мл осаждающего реактива, 5 мл рабочего раствора гипобромита, несколько кристалликов KI и 3 мл раствора HCl. Контрольную пробу титруют также до обесцвечивания.

Содержание остаточного азота рассчитывают по формуле:

$(K - O) \times 21,4 = \text{ммоль/л}$, где K — количество тиосульфата, пошедшего на титрование контрольной пробы, O — на титрование опытной пробы, 21,4 — коэффициент пересчета.

Нормальное содержание остаточного азота — 14,3 — 28,6 ммоль/л.

Диагностическое значение определения остаточного азота

Ретенционная (связанная с выведением) почечная гиперазотемия наблюдается при различных заболеваниях почек. Ретенционная непочечная гиперазотемия наблюдается при недостаточности кровообращения, травматическом шоке, опухлях мочевого пузыря.

Продукционная гиперазотемия сопровождается процессом усиления распада белка — при туберкулезе, диабете, тяжелом циррозе печени, при инфекционных заболеваниях, сопровождающихся лихорадкой. Понижение остаточного азота наблюдается при недостаточном питании, иногда — при беременности.

2. Определение билирубина в сыворотке крови.

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Пипетки на 1 мл и 2 мл.
 3. КФК.
 4. Кюветы на 0,5 см.

- Реактивы:
1. Кофеиновый реактив.
 2. 0,85% раствор NaCl.
 3. Диазореактив.
 4. Сыворотка крови.

Принцип метода. Связанный билирубин при взаимодействии с диазореактивом (диазофенилсульфоновая кислота) образует розовое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна концентрации билирубина, вступающего в прямую реакцию. Кофеиновый реактив переводит свободный билирубин в растворимое состояние, благодаря чему он также реагирует с диазореактивом, образуя розовое окрашивание. По интенсивности этого суммарного окрашивания определяют концентрацию общего билирубина. А концентрацию свободного билирубина определяют как разность между общим и связанным билирубином.

Ход работы. В 3 пробирки приливают реактивы по схеме:

Реактивы (мл)	Общий билирубин	Связанный билирубин	Контрольная проба
Сыворотка	0,5	0,5	0,5
Кофеиновый реактив	1,75	—	1,75
0,85% раствор NaCl	—	1,75	0,25
Диазореактив	0,25	0,25	—

Через 5-10 мин после прибавления диазореактива колориметрируют пробу на связанный билирубин (при более длительном стоянии пробы в реакцию вступает несвязанный билирубин, что искажает результат). Пробу на общий билирубин колориметрируют через 20 мин после добавления диазореактива. Колориметрирование проводят при зеленом светофильтре в кювете тол-

щиной 0,5 см против контроля. Концентрацию общего и связанного билирубина определяют по калибровочному графику.

Нормальное содержание билирубина в сыворотке: общий — 1,7-20,5 мкмоль/л, связанный — 0,86-4,3 мкмоль/л, свободный — 1,7-17,1 мкмоль/л.

Диагностическое значение определения билирубина сыворотки крови

Причины, вызывающие гипербилирубинемия, различны. Желтуха появляется, когда уровень билирубина в крови превышает 43 мкмоль/л. Заболевания, вызывающие повышение связанного билирубина: вирусный гепатит, цирроз печени, опухоль печени и метастазы, жировая дистрофия.

Заболевания, вызывающие повышение несвязанного билирубина: гемолитическая анемия, пернициозная анемия, желтуха новорожденных.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) Вопросы для защиты лабораторной работы

1. Что понимают под термином «остаточный азот»?
2. Назовите основные компоненты остаточного азота.
3. Что такое гиперазотемия? Какие виды гиперазотемий вы знаете?
4. На чем основан гипобромитный метод определения остаточного азота?
5. Какие индикаторы используются в данном методе?
6. Что такое йодометрическое титрование?
7. По какой формуле рассчитывается содержание остаточного азота?
8. Какова норма остаточного азота в сыворотке крови?
9. При каких заболеваниях снижается остаточный азот?
10. Объясните термины: общий билирубин, свободный билирубин, связанный билирубин, прямой билирубин, непрямой билирубин, конъюгированный билирубин, неконъюгированный билирубин.
11. Как образуется свободный билирубин?
12. Зачем в данном методе используется кофеиновый реактив?

13. Почему пробу на связанный билирубин колориметрируют точно через 5-10 минут?

14. Каков принцип метода определения билирубина в сыворотке крови?

15. Как определяют концентрацию общего и связанного билирубина?

16. Назовите причины гипербилирубинемии.

17. Какова норма свободного, связанного и общего билирубина?

б) ситуационные задачи (УИРС)

1. Ребенок перенес инфекционное заболевание. Какие изменения белковых фракций плазмы крови можно ожидать?
2. У больного появились отеки. С изменением концентрации каких белков плазмы крови это состояние может быть связано и почему?
3. Уровень каких белков плазмы крови повышается при беременности?
4. Какой специфический белок плазмы крови следует использовать для профилактики гриппа?
5. Человека в лесу укусил клещ. Какой лечебный препарат необходимо ему ввести? Как его готовят?
6. В биохимической лаборатории двум однофамильцам определили белок в плазме крови, при этом на бланке не указали инициалы. Содержание белка в одном анализе было 30 г/л, в другом — 100 г/л. У одного больного — обширные отеки, а у другого — пневмония. Укажите, кому принадлежит соответствующий анализ. Вывод обоснуйте.
7. В кардиологическое отделение поступил больной с нарушением кровообращения, понижением артериального давления и признаками интоксикации. Зачем врач назначил больному анализ на остаточный азот?
8. Составьте схему реакций получения холестерина из глюкозы.
9. У новорожденного через 3 дня после рождения появилась желтуха. Общий билирубин крови — 30 мкмоль/л, непрямой — 27 мкмоль/л. Через 2 недели желтуха исчезла. Назовите вид желтухи.
10. У больного 43 лет, через 2 дня после подъема температу-

ры до 38°C появилось желтушное окрашивание кожи и слизистых, моча потемнела, кал обесцветился. В крови уровень общего билирубина — 40 мкмоль/л, прямого — 15 мкмоль/л. В моче обнаруживается уробилин и билирубин. Какой вид желтухи вы предполагаете?

11. Больной жалуется на сильные боли в правом подреберье. Отмечается желтушность кожи и слизистых, зуд кожных покровов. Моча темная, кал обесцвеченный. В крови уровень общего билирубина 55 мкмоль/л, прямого — 40 мкмоль/л. В моче определяется билирубин. Вид желтухи? Активность каких ферментов поможет в диагностике заболевания?
12. Заполните в тетради следующую таблицу:

Показатель	Вид желтухи		
	Механическая	Паренхиматозная	Гемолитическая
I. Кровь: Общий билирубин Прямой билирубин непрямой билирубин			
II. Моча: билирубин уробилиноген			
III. Кал: стеркобилиноген			

Примечание: В пустых графах поставьте обозначения: Н — норма, ↑ — повышено, ↓ — понижено, «+» — определяется, «0» — не определяется.

13. У больного после переливания крови появилось желтушное окрашивание кожи и слизистых. Какой вид желтухи можно заподозрить? Как изменятся показатели пигментного обмена в крови и моче?
14. У новорожденного сразу после рождения обнаружилась желтуха. Общий билирубин в крови — 60 мкмоль/л, прямой — 53 мкмоль/л. Вид желтухи?

15. Как скажется на обмене нуклеиновых кислот в организме ограничение приема нуклеопротеидов с пищей? Возможно ли их полное исключение из пищевого рациона? Назначьте диету больному подагрой. Что такое оротацидурия?
16. Почему при циррозе печени имеет место гипоальбуминемия?
17. Какие биохимические анализы вы бы назначили больному при подозрении на паренхиматозную желтуху и почему? Какие результаты при этом ожидаете получить?
18. Напишите схему превращений аспартата в глюкозу и жир.
19. Приведите схему превращений жира, в результате которых можно получить аланин.

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы

1. Что такое нуклеиновые кислоты?
2. Что такое нуклеопротеиды?
3. Расскажите о переваривании нуклеопротеидов в ЖКТ.
4. Расскажите о катаболизме пуриновых азотистых оснований. Назовите продукты и пути их использования.
5. Что такое подагра? Укажите биохимические пути лечения этой болезни.
6. Как синтезируются пуриновые нуклеотиды?
7. Какие продукты образуются при катаболизме пиримидиновых нуклеотидов?
8. Что требуется для образования пиримидиновых нуклеотидов?
9. Что такое репликация?
10. Перечислите все, что необходимо для репликации.
11. Дайте представление о процессе репликации.
12. Что такое транскрипция? Какое значение она имеет?
13. Назовите соединения, необходимые для транскрипции.
14. Чем транскрипция отличается от репликации?
15. Что такое генетический код? Каковы его свойства?
16. Что такое рекогниция? Какие вещества необходимы для рекогниции.
17. Что такое трансляция? Назовите все, что необходимо для трансляции.

18. Охарактеризуйте процесс трансляции.
19. Расскажите о роли гистонов в регуляции биосинтеза белка.
20. Расскажите о регуляции синтеза белка путем воздействия на оперон на примере лактозного гена.
21. Какие гормоны регулируют синтез белка?
22. Расскажите о негормональных анаболических средствах.
23. Что такое хромопротеиды?
24. Какие сложные белки относятся к хромопротеидам?
25. Расскажите о строении гемоглобина и его функциях.
26. Как происходит распад гемоглобина? Какие вещества при этом образуются? Какова их дальнейшая судьба?
27. Какие формы билирубина вы знаете? Чем они отличаются друг от друга?
28. Что такое желтуха? Какие виды желтухи вы знаете?
29. Как биохимически диагностировать различные формы желтухи?
30. Перечислите функции белков плазмы крови.
31. На какие фракции делятся белки плазмы и по какому признаку?
32. Дайте характеристику альбуминам.
33. Что такое гипоальбуминемия? Каковы ее причины?
34. Дайте характеристику глобулинам. Какие патологические состояния с ними связаны?
35. Что такое трансферрин? Какие функции он выполняет?
36. Дайте характеристику церулоплазмину.
37. Дайте характеристику гаптоглобину, гемопексину.
38. Каковы источники ферментов плазмы крови? Какое значение в диагностике болезней они имеют?
39. Что такое белки острой фазы?
40. Какова взаимосвязь между отдельными видами обмена веществ?
41. Что такое остаточный азот крови?
42. Назовите фракции остаточного азота.
43. Что такое гиперазотемия? Какие виды гиперазотемии вы знаете? Дайте каждой из них характеристику.

Тесты

1. Конечными продуктами катаболизма аденина являются:
 - а) гуанин;
 - б) ксантин;
 - в) гипоксантин;
 - ☒ г) мочевая кислота.
2. Конечными продуктами катаболизма гуанина являются:
 - а) тимин;
 - б) ксантин;
 - в) гипоксантин;
 - ☒ г) мочевая кислота.
3. При распаде пиримидиновых оснований образуются:
 - а) β -аланин;
 - б) углекислый газ;
 - в) γ -аминоизомасляная кислота;
 - ☒ г) аденин;
 - д) аммиак.
4. В синтезе пуриновых нуклеотидов принимают участие следующие аминокислоты:
 - а) аланин;
 - ☒ б) глицин;
 - ☒ в) аспартат;
 - ☒ г) лизин;
 - ☒ д) глутамин.
5. В крови содержание общего билирубина составляет:
 - а) 3,5-5,5 мкмоль/л;
 - б) 5,5-10,5 мкмоль/л;
 - ☒ в) 8,0-20,5 мкмоль/л;
 - г) 10,0-25,5 мкмоль/л;
 - д) 15,5-27,5 мкмоль/л.
6. Содержание связанного билирубина составляет:
 - а) 5%;
 - б) 15%;
 - ☒ в) 25%;
 - г) 50%.
7. Содержание свободного билирубина составляет:
 - а) 5%;
 - б) 15%;

- в) 25%;
- г) 50%;
- ✓ д) 75%.

8. Свойства свободного билирубина:

- ✓ а) токсичен;
- б) нетоксичен;
- ✓ в) плохо растворим в воде;
- г) проникает через почечный фильтр;
- ✓ д) не проникает через почечный фильтр.

9. Свойства связанного билирубина:

- а) токсичен;
- ✓ б) нетоксичен;
- ✓ в) хорошо растворим в воде;
- ✓ г) проникает через почечный фильтр;
- д) не проникает через почечный фильтр.

10. Причины гемолитической желтухи:

- а) серповидно-клеточная анемия;
- б) вирусный гепатит;
- в) желчно — каменная болезнь;
- ✓ г) переливание несовместимой крови.

11. Причины паренхиматозной желтухи:

- ✓ а) хронические гепатиты, циррозы;
- ✓ б) вирусный гепатит;
- в) желчнокаменная болезнь;
- ✓ г) отравление гепатотоксическими ядами;
- д) переливание несовместимой крови.

12. Причины механической желтухи:

- а) серповидно-клеточная анемия;
- б) вирусный гепатит;
- ✓ в) желчнокаменная болезнь;
- ✓ г) опухоль головки поджелудочной железы;
- д) переливание несовместимой крови.

13. Связанный билирубин образуется в печени путем конъюгации с:

- ✓ а) глюкуроновой кислотой;
- б) гиалуроновой кислотой;
- в) глюкозой;
- г) аскорбиновой кислотой;
- д) гепарином.

14. В норме в кале содержится:

- а) прямой билирубин;
- ✓ б) стеркобилин;
- в) уробилин;
- г) мезобилирубин;
- д) непрямой билирубин.

15. При паренхиматозной желтухе в крови повышается:

- ✓ а) прямой билирубин;
- б) стеркобилин;
- в) стеркобилиноген;
- ✓ г) непрямой билирубин.

16. При гемолитической желтухе в крови повышается:

- а) прямой билирубин;
- б) стеркобилин;
- в) уробилин;
- ✓ г) непрямой билирубин.

17. При механической желтухе в крови повышается:

- ✓ а) прямой билирубин;
- б) стеркобилин;
- в) уробилин;
- г) мезобилирубин;
- ✓ д) непрямой билирубин.

18. При физиологической желтухе новорожденных имеется:

- а) резус-конфликт матери и плода;
- б) групповая несовместимость матери и плода;
- ✓ в) отсутствует фермент УДФ-глюкуронилтрансфераза;
- ✓ г) повышен распад эритроцитов в первые дни жизни;
- ✓ д) проходит в течение первых двух недель.

19. При гемолитической болезни новорожденных имеется:

- ✓ а) резус-конфликт матери и плода;
- ✓ б) групповая несовместимость матери и плода;
- в) отсутствует фермент УДФ-глюкуронилтрансфераза;
- г) повышен распад эритроцитов в первые дни жизни;
- д) проходит в течение первых двух недель.

20. Подагра — заболевание, связанное с нарушением:

- ✓ а) распада пуриновых нуклеотидов;
- б) распада пиримидиновых нуклеотидов;
- в) синтеза пуриновых нуклеотидов;

- г) синтеза пиримидиновых нуклеотидов;
- д) синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

21. Оротацидурия — заболевание, связанное с нарушением:

- а) распада пуриновых нуклеотидов;
- б) распада пиримидиновых нуклеотидов;
- в) синтеза пуриновых нуклеотидов;
- ✓г) синтеза пиримидиновых нуклеотидов;
- д) синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

22. Альбумины выполняют следующие функции:

- ✓а) создают коллоидно-осмотическое давление крови;
- ✓б) транспортируют многие вещества;
- ✓в) являются резервом аминокислот;
- г) выполняют защитную функцию.

23. Причины гипоальбуминемии:

- ✓а) потеря из кровяного русла;
- ✓б) снижение синтеза в печени;
- ✓в) увеличение распада;
- г) связывания с другими белками крови.

24. Трансферрин транспортирует:

- а) аминокислоты;
- ✓б) железо;
- в) жирные кислоты;
- г) гемоглобин;
- д) медь;
- е) гем.

25. Гаптоглобин транспортирует:

- а) аминокислоты;
- б) железо;
- в) жирные кислоты;
- ✓г) гемоглобин;
- д) медь;
- е) гем.

26. Церулоплазмин в основном транспортирует:

- а) аминокислоты;
- б) железо;
- в) жирные кислоты;

- ✓г) медь;
- д) гем.

27. К белкам острой фазы относятся:

- ✓а) С-реактивный белок;
- ✓б) гаптоглобин;
- ✓в) церулоплазмин;
- г) трансферрин;
- ✓д) интерферон;
- ✓е) фибриноген.

28. При образовании жира из углеводов общими метаболитами являются:

- а) пируват;
- б) ДООФ;
- в) ацетил-КоА;
- г) глутамат.

29. Накопление мочевой кислоты приводит к:

- а) ревматизму;
- ✓б) подагре;
- в) артрозу;
- г) артриту;
- д) образованию камней в почках.

30. Карбамоилфосфат необходим для синтеза:

- ✓а) мочевины;
- ✓б) пиримидиновых азотистых оснований;
- ✓в) креатина;
- ✓г) пуриновых азотистых оснований.

31. В переваривании нуклеиновых кислот участвуют следующие ферменты:

- ✓а) нуклеазы;
- б) фосфорилаза;
- в) фосфатазы;
- г) гидроксилазы;
- ✓д) нуклеотидазы;
- е) пептидазы.

32. Компонентами остаточного азота являются:

- ✓а) мочевины;
- ✓б) мочевая кислота;
- ✓в) креатинин;

- г) белки;
- д) аминокислоты;
- е) азотная кислота.

33. В синтезе гема участвуют:

- ✓ а) глицин;
- ✓ б) суццинил-КоА;
- в) ацетил-КоА;
- ✓ г) витамин В₆;
- ✓ д) витамин В₁₂;
- е) витамин С.

Глава 8. Витамины

Раздел 1. Значение изучаемой темы

Витамины — важная группа незаменимых пищевых факторов. Концентрация витаминов в тканях и суточная потребность в них невелики, но при недостаточном поступлении витаминов в организм наступают характерные и опасные патологические изменения, так как витамины являются составными частями сложных ферментов или действуют самостоятельно через белки — рецепторы и таким образом участвуют в метаболизме. Знания о витаминах необходимы при обучении на других кафедрах, а также будущей врачебной деятельности.

Раздел 2. Сведения о витаминах

Введение

Витамины — это низкомолекулярные жизненно необходимые биологически активные органические вещества, в основном экзогенного происхождения, действующие в очень малых количествах.

Отсутствие или недостаточность витаминов вызывает болезни — витаминной недостаточности: авитаминозы и гиповитаминозы.

Авитаминоз наступает при длительном или почти полном отсутствии каких-либо витаминов в пище.

Гиповитаминоз бывает при частичной недостаточности витаминов в пище.

Витаминная недостаточность может быть в двух формах:

1. *первичная или экзогенная* — связана с низким содержанием витаминов в пище при однообразном несбалансированном питании.
2. *вторичная или эндогенная* — связана с нарушением всасывания витаминов в ЖКТ, заболеваниях печени, эндокринных патологиях и т.д.

Общие признаки гипо- и авитаминозов

1. Задержка в росте (у детей).
2. Потеря веса.

3. Быстрая утомляемость, сонливость, снижение физической и умственной работоспособности.
4. Раздражительность.
5. Повышенная восприимчивость к инфекциям и неблагоприятным воздействиям окружающей среды.

Основные причины болезней витаминной недостаточности

1. Социальные причины (голодание, однообразное питание).
2. Биологические причины (у детей, стариков, беременных, при неблагоприятных воздействиях, курении и т.д. потребность в витаминах выше).
3. Технология получения и обработки пищевых продуктов.
4. Различные виды патологий:
 - при заболеваниях ЖКТ нарушается всасывание витаминов;
 - при патологии печени нарушается всасывание жирорастворимых витаминов и их превращение в активные формы;
 - инфекционные заболевания резко повышают потребность в витаминах.
5. Курение, алкоголь нарушают использование витаминов, ускоряют их выведение.
6. Напряженная мышечная работа, эмоциональная нагрузка повышают потребность в витаминах.

Причины витаминной недостаточности у детей

1. Недоношенность. В конце беременности создается депо витаминов А, Д, Е, поэтому преждевременные роды лишают ребенка этих запасов. У недоношенных детей хуже всасываются витамины в ЖКТ, хуже превращаются в коферменты.
2. Искусственное вскармливание. В коровьем молоке недостаточно витаминов Д, С, Е. В нем много жирных кислот, для стабилизации которых необходим витамин Е. Кипячение снижает содержание витаминов В₁₂, В₁, В₆, С на 60-70%, фолата — на 30%.
3. Длительное вскармливание одним грудным молоком, без прикорма. В грудном молоке недостаточно витаминов Д, С.
4. В период полового созревания, интенсивного роста ребенка потребность в витаминах повышена.

Классификация витаминов

1. Жирорастворимые: А, Д, Е, К.
2. Водорастворимые: В₁, В₂, В₆, В₁₂, В₉, С, Н, РР, пантотеновая кислота.
3. Витаминоподобные вещества: Q, Р (биофлавоноиды), инозит, карнитин, холин, липоевая, оротовая, пангамовая кислоты, S-аденозилметионин.

Суточная потребность

1. 10-100 мг: С (50-100 мг), РР (14-25 мг), Е (10-20 мг), Р (25-50 мг), пантотеновая кислота (10 мг).
2. 1-3 мг: В₁ (1,4-2, 4 мг), В₂ (1,9-3,0 мг), В₆ (1,5-2,8 мг), А (1,5 мг).
3. < 1 мг: Н (150-200 мкг), фолат (400 мкг), В₁₂ (2 мкг), Д (2,5 мкг), К (200-300 мкг).

Не существует пищевого продукта, содержащего все витамины в нужных количествах. Многие считают, что такими продуктами являются овощи и фрукты, особенно яблоки. Овощи и фрукты — хороший источник аскорбиновой и фолиевой кислот, а также каротина, из которого образуется витамин А. Остальные витамины, а их около 10, мы должны получать из других продуктов.

Витамин С: овощи, фрукты, ягоды, зелень (шиповник, черная смородина, красный сладкий перец, черешня, лимон, апельсин, капуста, картофель и др.)

Витамины В₁, В₂, В₆ и РР: дрожжи, черный хлеб, нежирное мясо, печень, почки, горох, фасоль, молоко, сыр, бананы, рис.

Витамин В₂: молоко или молочная сыворотка, дрожжи, печень, почки, сердце, рыба, пшеничные зерна.

Витамин В₁₂: молоко, молочные продукты, яичный желток, мясо.

Витамин А: жир молока, сливочное масло, окрашенные овощи и фрукты, содержащие каротиноиды.

Витамин Е: черный хлеб, растительные масла, яичный желток.

Витамин К: капуста, шпинат, фрукты, печень, крапива, хвоя.

Различия между водо- и жирорастворимыми витаминами

1. Различие в растворимости.
2. Различие в механизме действия: водорастворимые витамины являются кофакторами сложных ферментов. Жирорастворимые

римые витамины действуют через специальные белки-рецепторы, то есть действуют как стероидные гормоны, влияя на генетический аппарат клетки.

Основные функции витаминов

1. Участие в окислительно-восстановительных реакциях: С, Р, В₁, В₂, РР, пантотеновая кислота, В₉ (фолиевая кислота).
2. Участие в обмене жирных кислот: пантотеновая кислота, В₂, РР.
3. Участие в обмене аминокислот: В₆, РР.
4. Различные биосинтезы: Н, В₁₂, В₉, Д, А.
5. Антиоксидантное действие: Е, С, А, токоферол.
6. Антигеморрагическое действие: К, витамин К.

Функции отдельных витаминов

Витамин С (аскорбиновая кислота)

1. **Необходим для работы гидроксилаз**
 - для превращения пролина и лизина в гидроксипролин и гидроксилизин, при этом проколлаген превращается в зрелый коллаген. При недостатке или отсутствии в продуктах питания аскорбиновой кислоты страдает образование нормальной соединительной ткани. В результате повышается проницаемость и ломкость капилляров;
 - в биосинтезе катехоламинов, стероидных гормонов и серотонина;
 - в биосинтезе карнитина
2. **Необходим для превращения Fe³⁺ в Fe²⁺. Этот переход необходим:**
 - в кишечнике для всасывания железа;
 - для освобождения железа из его транспортных форм (комплекса с трансферрином), что облегчает его поступление в ткани.
3. **Необходим для перехода фолата в коферментные формы.**
4. **Поддерживает SH — группы белков в восстановленном состоянии.**
5. **Увеличивает сопротивление к инфекциям.**
6. **Увеличивает работоспособность.**
7. **Снижает риск развития атеросклероза.**
8. **Снижает потребность организма в витаминах: В₁, В₂, А, Е, фолате и пантотеновой кислоте.**

Витамин В₁ (тиамин, антиневритный витамин)

Активная форма образуется путем фосфорилирования и называется тиаминдифосфатом (кокарбоксилаза).

1. **Входит в состав 2-оксоглутаратдегидрогеназы и пируватдегидрогеназы.**

При недостатке В₁ накапливаются пируват, лактат, возникает метаболический ацидоз.

2. **Входит в состав транскетолазы.**

3. **Необходим для нормальной активности γ-аминомасляной кислоты, ацетилхолина и, особенно, серотонина.**

4. **Участвует в синаптической передаче.**

Витамин В₂ (рибофлавин)

Имеет две активные формы: ФМН и ФАД

1. **ФМН является компонентом дыхательной цепи (входит в состав НАДН-дегидрогеназы);**

2. **ФАД является простетической группой дегидрогеназ (СДГ, ацилкоА-ДГ, глицерофосфат-ДГ).**

Входит в состав 2-оксоглутарат-ДГ, пируват-ДГ, оротат-ДГ.

3. **Необходим для работы оксидаз (моноаминоксидаза, ксантиноксидаза и др).**

4. **Необходим для работы редуктаз (глутатионредуктаза, фолатредуктаза, тиоредоксинредуктаза).**

Витамин РР (никотинамид, антипеллагрический витамин)

Имеет две активные формы: НАД⁺ и НАДФ⁺

1. **В форме НАД⁺ является коферментом дегидрогеназ: ПДГ, изоцитрат-ДГ, малат-ДГ, лактат-ДГ, 3-фосфоглицеральдегид-ДГ, гидроксиацил-ДГ, глутамат-ДГ.**

2. **В форме НАДФ⁺ является коферментом дегидрогеназ пентозофосфатного пути.**

3. **В форме НАДФН используется:**

- редуктазами в биосинтезе жирных кислот, холестерина;
- восстановительном аминировании 2-оксоглутарата;
- для перевода рибозы в дезоксирибозу;
- в образовании активной формы фолиевой кислоты;
- гидроксилазами для образования тирозина из фенилаланина, синтезе катехоламинов, стероидных гормонов, обезвреживании чужеродных веществ;
- в трансгидрогеназной реакции.

Витамин В₆ (пиридоксин)

Активная форма — пиридоксаль-5-фосфат.

Необходим для:

1. всасывания аминокислот из кишечника;
2. транспорта аминокислот в клетки из кровяного русла и реабсорбции почками;
3. обмена отдельных аминокислот;
4. декарбоксилирования аминокислот. Эта реакция имеет большое значение в образовании аминов, среди которых есть регуляторы, медиаторы, гормоны; в образовании порфиринов и, соответственно, гема; образовании пуринов и пиримидинов, образовании витамина РР из триптофана; образовании сфингозина и ацетилхолина.

Витамин Н (биотин)

Необходим для реакций карбоксилирования. Входит в состав пируваткарбоксилазы и ацетил-КоА-карбоксилазы.

Пантотеновая кислота (витамин В₅)

Активная форма образуется путем фосфорилирования. Она входит в состав КоА, который необходим для:

- работы цикла Кребса (ацетил-КоА, сукцинил-КоА);
- окисления жирных кислот;
- синтеза жирных кислот;
- синтеза кетонных тел и холестерина и др.;
- синтеза порфиринов.

В форме ацетил-КоА пантотеновая кислота используется для ацетилирования в синтезе ацетилхолина, ацетилгексозаминов, сиаловых кислот, обезвреживании токсинов.

Фолиевая кислота (фолат, витамин В₉)

Активная форма образуется путем гидрирования (присоединяются 4 атома водорода с помощью фолатредуктазы) и называется тетрагидрофолиевой кислотой (ТГФК).

Основной функцией ТГФК является участие в биосинтезах, так как она нужна для переноса одноуглеродных фрагментов (метильных, оксиметильных, остатков муравьиной кислоты):

- в синтезе пуринов;
- синтезе всех видов нуклеотидов и нуклеиновых кислот;
- синтезе глицина из серина, метионина из гомоцистеина.

Фолат необходим для нормального роста и особенно для

быстро делящихся тканей (кровотворной и лимфоидной тканей, эпителия тонкого кишечника, для роста эмбриона и плода, для процессов заживления и репарации).

Витамин В₁₂ (кобаламин, антианемический витамин)

В структуру витамина входит гемподобная структура, содержащая кобальт. В₁₂ входит в состав кобамидных ферментов.

1. Участвует в переносе метильной группы при образовании метионина из гомоцистеина;
2. Участвует в превращении метилмалонила в сукцинил-КоА;
3. Облегчает депонирование и образование коферментных форм фолиевой кислоты.

Витамин А (ретинол, антиксерофтальмический витамин)

1. Необходим для нормального зрения, так как входит в состав зрительного пурпура родопсина, от количества которого зависит чувствительность глаза к свету (чем выше количество, тем выше чувствительность).

2. Активирует включение сульфатов:

- в протеогликаны, что способствует росту ребенка;

3. - в гепарины, поддерживая этим реологические свойства крови.

3. Способствует синтезу миелина.

4. Необходим для синтеза стероидных гормонов.

5. Обладает проокислительным действием (способствует потреблению кислорода, стимулирует окисление жирных кислот).

6. Необходим для нормального митоза, особенно быстро делящихся тканей, нормальной дифференцировки эпителия, подавляет рост недифференцированных клеток злокачественных опухолей.

7. Поддерживает деление иммунокомпетентных клеток, нормальный синтез иммуноглобулинов; активирует ферменты лизосом, в том числе и фагоцитов.

При авитаминозе А нарушаются функции покровных тканей, появляется сухость кожи и слизистых. Развивается сухость роговицы глаза (ксерофтальмия). При прогрессировании авитаминоза происходит размягчение роговицы и ее распад (кератомалиция). При гиповитаминозе возникает нарушение сумеречного зрения (куриная слепота).

Витамин Е (токоферол)

1. Является биологическим антиоксидантом, защищает ненасыщенные жирные кислоты в липидах мембран от перекисного окисления, а значит и мембраны от повреждения.
2. Стимулирует синтез гема, а, следовательно, синтез гемосодержащих белков (гемоглобина, миоглобина, цитохромов и др.). В результате улучшается дыхание тканей, усиливается синтез белков, удаляются пероксиды, повреждающие мембраны и т.д.
3. Активирует синтез коллагена, сократительных белков, белков слизистых оболочек, плаценты и др.
4. Повышает биологическую активность витамина А, защищая его ненасыщенную боковую цепь от перекисного окисления

Витамин К (антигеморрагический витамин)

1. Участвует в превращении препротромбина в тромбин.
2. Обладает радиопротекторным действием.
3. При недостатке витамина К падает концентрация серотонина, гистамина и ацетилхолина.

Витамин Д (антирахитический витамин, кальциферол)

Образуется в коже из холестерина под действием ультрафиолета. Активируется путем гидроксилирования. В результате образуется 1,25-дигидроксикальци-ферол. Выполняет следующие функции:

1. Усиливает всасывание Са и Р из кишечника.
2. Усиливает реабсорбцию Са и Р почками.
3. Усиливает минерализацию молодой кости.
4. Стимулирует остеокласты и выход Са из старой кости.

При недостатке витамина Д возникает рахит.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие №1

1. Тема: Витамины.

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Витамины — незаменимые для организма вещества, так как без них нарушается обмен веществ, что сопровождается болезнями или даже гибелью организма.

4. Цель общая:

- 4.1.1. Изучить участие витаминов в обмене веществ.
- 4.1.2. Научиться определять аскорбиновую кислоту в биологическом материале.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Источники витаминов.
2. Участие витаминов в обмене веществ.
3. Признаки гипо- и авитаминозов.

Уметь:

1. Определять аскорбиновую кислоту в моче и другом биологическом материале.
2. Объяснять полученные результаты и решать задачи.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень

1. Ферменты.
2. Обмен углеводов.
3. Обмен липидов.
4. Обмен белков.

По новой теме

1. Витамины. Классификация.
2. Причины гипо- и авитаминозов.
3. Признаки гипо-, гипер- и авитаминозов.
4. Жирорастворимые витамины, их строение, биохимические функции, признаки авитаминозов.
5. Водорастворимые витамины, пути образования активных форм, участие в обмене веществ, признаки авитаминозов.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Выполнить лабораторную работу «Определение аскорбиновой кислоты в моче и другом биологическом материале».
2. В зависимости от формы занятия могут быть варианты опроса теоретического материала.

Вариант 1. Конференция.

Преподаватель назначает нескольких докладчиков, референта (ов) и слушателей. В течение 15-20 минут докладчики готовят доклады на заданную тему, слушатели готовят вопросы к докладчикам.

Докладчики рассказывают материал по теме, отвечают на вопросы слушателей. Затем идет обсуждение. Оценку всем участникам работы дает референт или преподаватель.

Вариант 2. Работа группами.

Преподаватель организует несколько равноценных групп студентов; предлагает составить задачи и вопросы по данной теме за 20-30 минут. Затем группы задают эти вопросы друг другу. Оценку работы каждого студента дает преподаватель в конце занятия.

Вариант 3. Фронтальный опрос.

Студенты дают характеристику каждому витамину по вышеприведенной схеме. Решают ситуационные задачи (ориентировочные задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение витамина С в растительном материале.

Оборудование: 1. Колбы на 50 или 100 мл.

2. Пипетки на 1 мл и 2 мл.

3. Ступка.

4. Воронка.

5. Марлевый фильтр.

Реактивы:

1. 1% раствор HCl.

2. 1% раствор щавелевой кислоты.

3. 0,001N раствор дихлорфенолиндофенола.

4. Растительный материал.

5. Дистиллированная вода.

6. Стекланный порошок.

Принцип метода. Метод основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать краситель 2,6-дихлорфенолиндофенол. Окисленная форма красителя обладает окраской (в кислой среде — розовой), восстановленная форма — бесцветна. Количество витамина С определяют, титруя исследуемый подкисленный раствор дихлорфенолиндофенолом до появления розовой окраски. Пока в растворе есть аскорбиновая кислота, краситель обесцвечивается, когда вся аскорбиновая кислота будет окислена, титруемый раствор приобретает розовую окраску из-за появления окисленной формы красителя.

Ход работы. Навеску растительного материала измельчают и тщательно растирают в ступке с небольшим количеством толченого стекла и 5 мл 1% HCl. По мере растирания прибавляют еще 5 мл HCl и смесь переносят в колбу на 150 мл. Остаток в ступке смывают в ту же колбу 1% раствором щавелевой кислоты, доводя объем смеси до метки. Содержимое колбы перемешивают и фильтруют. Отбирают нужное количество мл фильтрата (см. таблицу) в чистую колбу и титруют 0,001N раствором дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски, не исчезающей 30 секунд.

Растительный материал	Навеска (г)	Фильтрат (мл)	Коэффициент пересчета
Картофель	5	10	50
Капуста	5	5	100
Шиповник	1	2	1250

Расчет содержания аскорбиновой кислоты проводят по формуле:

$A \times 0,088 \times K = \text{мг витамина С в 100 г материала}$, где A — количество мл раствора дихлорфенолиндофенола, пошедшего на титрование исследуемого раствора, 0,088 — количество мг аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 N раствора дихлорфенолиндофенола, K — коэффициент пересчета на 100 г растительного материала, учитывающий навеску материала и количество мл фильтрата, взятого для титрования.

2. Определение витамина С в моче

Оборудование: 1. Колба на 50 или 100 мл.

2. Пипетки на 1 мл и 5 мл.

Реактивы:

1. 3% раствор уксусной кислоты.

2. 0,001N раствор дихлорфенолиндофенола.

3. Моча.

4. Дистиллированная вода.

Ход работы. В колбу наливают 1 мл мочи, 7 мл дистиллированной воды, 3 мл 3% раствора уксусной кислоты и титруют смесь

0,001 Н раствором дихлорфенолиндифенола до появления розовой окраски, устойчивой 30 сек.

Для расчета содержания витамина С в суточной моче используют формулу: $A \times 0,088 \times 1500 = \text{мг витамина С в сутки}$, где 1500 — суточный диурез в мл, А и 0,088 — то же, что в предыдущей работе.

В норме с мочой за сутки выделяется от 20 до 40 мг витамина С.

Диагностическое значение

Определение содержания витамина С в моче дает представление о запасах этого витамина в организме. У детей его уровень понижается при цинге, а также острых и хронических инфекционных заболеваниях.

Ситуационные задачи

1. В инфекционное и гастроэнтерологическое отделение БСМП поступили два больных с вирусным гепатитом и циррозом печени, соответственно. Наряду с другими жалобами оба больных отметили появления в последнее время больших синяков на теле при малейших ушибах. Анализ крови показал у обоих увеличение времени свертывания крови и снижение уровня протромбина в 2 раза. Обмен какого витамина нарушен у этих больных?
2. В хирургическое отделение после травмы поступил больной. Проведенный экспресс-анализ обнаружил у него тяжелый декомпенсированный ацидоз и увеличение концентрации лактата и пирувата в крови. Какие витамины должен назначить хирург данному больному для нормализации этих показателей?
3. В последний триместр беременности у женщины появились боли в костях. Биохимический анализ крови показал увеличение кальция, снижение концентрации фосфора и повышенную активность щелочной фосфатазы. С нарушением какого витамина связаны эти клинические признаки? Какое лечение должен назначить женщине гинеколог? Профилактику какой патологии должен проводить (особенно тщательно) педиатр у ребенка этой женщины после родов?
4. При гриппе и ОРЗ врачи часто назначают больным боль-

шие дозы витамина С. Можно ли применять витамин С в больших дозах длительно? К чему это может привести?

5. Почему при интенсивных кровотечениях в клинике вместе с другими препаратами назначают викасол?
6. Почему витамин B_{12} вводят внутримышечно, а не назначают в виде таблеток?
7. Почему тертую морковь рекомендуют есть с растительным маслом?

Рекомендуемая литература

1. Курс лекций.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., «Биологическая химия» 1990, стр. 133-168.
3. Строев Е.А., «Биологическая химия» 1986, стр. 339-370.

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Тесты

1. Авитаминоз — это:

- а) состояние организма, возникающее при отсутствии витамина в питании;
- б) состояние, возникающее при избытке витамина;
- в) состояние, возникающее при частичном отсутствии витамина в питании.

2. В реакциях гидроксирования участвуют:

- а) аскорбиновая кислота;
- б) НАДН;
- в) ФАДН₂;
- г) НАДФН.

3. Для синтеза полноценной соединительной ткани необходим витамин:

- а) С;
- б) А;
- в) РР;
- г) Е.

4. Железодефицитная анемия при цинге связана с:

- а) нарушением всасывания Fe^{2+} в ЖКТ;
- б) невозможностью выхода Fe^{2+} из депо;
- в) усиленной потерей Fe^{2+} с мочой;
- г) усиленной потерей Fe^{2+} через ЖКТ.

5. Активная форма витамина B₁ образуется путем:

- а) метилирования;
- б) гидроксирования;
- в) фосфорилирования;
- г) гидрирования.

6. Витамин B₁ входит в состав:

- а) пируватдегидрогеназы;
- б) 2-оксоглутаратдегидрогеназы;
- в) трансаальдолазы;
- г) малатдегидрогеназы;
- д) транскетолазы;
- е) еноил-КоА-редуктазы.

7. Витамин B₂ в форме ФМН необходим для работы:

- а) цикла Кребса;
- б) пентозофосфатного пути;
- в) дыхательной цепи;
- г) β -окисления жирных кислот.

8. При лечении туберкулеза фтивазидом возможно возникновение гиповитаминоза B₆:

- а) из-за поврежденной микрофлоры кишечника;
- б) из-за модификации B₆;
- в) из-за затруднения всасывания.

9. Витамин PP (в форме НАД⁺) требуется для нормального функционирования:

- а) гликолиза;
- б) цикла Кребса;
- в) синтеза жирных кислот;
- г) β -окисления жирных кислот;
- д) глутаматдегидрогеназы;
- е) синтеза холестерина.

10. В состав HS-КоА входит:

- а) PP;
- б) B₂ (в форме ФМН);
- в) фолиевая кислота;
- г) пантотеновая кислота.

11. Причинами гиповитаминоза является:

- а) напряженная умственная работа;
- б) неполноценное питание;

в) заболевания ЖКТ;

г) заболевания печени.

12. При недостатке аскорбиновой кислоты нарушается синтез:

- а) глюкозы;
- б) карнитина;
- в) коллагена;
- г) жира;
- д) катехоламинов;
- е) глюкокортикостероидов.

13. Для образования полноценного коллагена необходима реакция:

- а) гидрирования;
- б) гидролиз;
- в) гидроксирования;
- г) метилирования;
- д) аминирования.

14. Для синтеза катехоламинов и глюкокортикостероидов необходимы витамины:

- а) PP (в форме НАДФН);
- б) B₂ (в форме ФМН);
- в) C;
- г) H.

15. Естественными антиоксидантами являются витамины:

- а) B₁;
- б) B₂;
- в) C;
- г) A;
- д) E.

16. Активная форма витамина B₂ образуется путем:

- а) фосфорилирования;
- б) гидрирования;
- в) фосфорилирования с последующим присоединением АМФ;
- г) метилирования.

17. Витамин B₂ входит в состав:

- а) ацил-КоА-дегидрогеназы;
- б) β -гидроксиацил-КоАдегидрогеназы;

- в) моноаминоксидазы;
- г) глутатионредуктазы;
- д) енолазы.

18. Пантотеновая кислота активируется путем:

- а) гидрирования;
- ☒ б) фосфорилирования;
- в) метилирования;
- г) аденилирования.

19. Витамин РР (в форме НАДФН) необходим для работы:

- а) гидролаз;
- ☒ б) редуктаз;
- в) гидроксилаз;
- г) трансфераз.

20. В организме человека из триптофана синтезируется витамин

- а) В₁₂;
- б) А;
- ☒ в) РР;
- г) В₁.

21. Для образования нейромедиаторов (ацетилхолина, норадреналина, адреналина) необходим витамин:

- а) Е;
- б) Д;
- ☒ в) В₆;
- г) А.

22. Источниками витамина РР являются:

- ☒ а) синтез из триптофана;
- ☒ б) отруби (пшеничные, рисовые), дрожжи и т.д.
- в) рыбий жир.

23. Жирорастворимые витамины можно употреблять 1- 2 раза в неделю потому, что:

- ☒ а) их избыток накапливается в тканях;
- б) они не выводятся из организма;
- в) синтезируются в организме.

24. Витамин В₆ необходим для:

- а) растворения жира;
- ☒ б) всасывания аминокислот из ЖКТ;
- в) всасывания аскорбиновой кислоты;

- ☒ г) декарбоксилирования аминокислот;
- д) реабсорбции аминокислот в почках;
- е) переаминирования аминокислот;
- ж) реабсорбции мочевины.

25. Для синтеза глюкозы из лактата требуются витамины:

- ☒ а) В₁;
- б) РР;
- ☒ в) Н;
- г) С.

26. Авитаминоз С называется:

- а) рахит;
- б) пеллагра;
- ☒ в) цинга;
- г) бери-бери;
- д) куриная слепота.

27. Переход гемоглобина в метгемоглобин предотвращается витамином

- а) Д;
- ☒ б) С;
- в) РР (В форме НАДН);
- г) В₆.

28. Для синтеза жирных кислот требуются витамины:

- а) В₂;
- ☒ б) РР (в форме НАДФН);
- в) РР (в форме НАД⁺);
- ☒ г) Н;
- д) А.

29. Активными формами витамина РР являются:

- а) ФМН;
- ☒ б) НАД⁺;
- в) родопсин;
- ☒ г) НАДФ;
- д) ФАД.

30. Облегчает депонирование и образование коферментных форм фолата витамин:

- а) Д;
- б) Е;
- ☒ в) В₁₂;

31. Участвует в переносе одноуглеродных фрагментов витамин:
 а) фолиевая кислота;
 б) пантотеновая кислота;
 в) B₁₂;
 г) E.
32. Биотин является составной частью:
 а) ПДГ;
 б) ЛДГ;
 в) пируваткарбоксилазы;
 г) тиолазы;
 д) ацетил-КоАкарбоксилазы.
33. При повышенной кровоточивости следует употреблять витамин:
 а) C;
 б) K;
 в) D;
 г) B₉.
34. Антискерофталмическим называется витамин:
 а) B₁;
 б) A;
 в) PP;
 г) C.
35. Из холестерина в организме образуется витамин:
 а) A;
 б) D;
 в) K;
 г) B₉;
 д) E.
36. Кокарбоксилаза — это активированная форма витамина:
 а) PP;
 б) B₁;
 в) B₂;
 г) B₆.

37. Фолиевая кислота активируется путем:
 а) гидрирования;
 б) фосфорилирования;
 в) аденилирования.
38. Употребление с пищей большого количества сырых яиц может вызвать гиповитаминоз:
 а) B₁₂;
 б) H;
 в) D;
 г) K.
39. Дерматит при пеллагре характеризуется:
 а) симметричностью;
 б) возникает на открытых участках кожи;
 в) несимметричностью.
40. Для нормального митоза требуется витамин:
 а) A;
 б) C;
 в) D;
 г) PP.
41. Причиной рахита является:
 а) недостаточность витамина D в пище;
 б) снижение синтеза витамина D из-за недостаточного пребывания ребенка на солнце;
 в) недостаточное энергообразование в клетках;
 г) снижение чувствительности рецепторов к витамину D.
42. Антигеморрагическим называется витамин:
 а) K;
 б) C;
 в) A;
 г) B₁.
43. Для перехода Fe³⁺ в Fe²⁺ необходим витамин:
 а) H;
 б) C;
 в) D;
 г) K;
 д) E.
44. Наиболее эффективным является:
 а) α-токоферол;

б) β -токоферол;

в) γ -токоферол.

45. Витамин B_{12} необходим для метаболизма метилмалонил-КоА, который образуется:

☒ а) при окислении жирных кислот с нечетным числом атомов углерода;

☒ б) при окислении боковой цепи холестерина;

☒ в) при окислении радикалов некоторых аминокислот;

☒ г) при окислении тимина;

д) при окислении глюкозы.

46. Фактор Кастла необходим для всасывания витамина:

а) С;

б) Е;

☒ в) B_{12} ;

г) К.

47. Для образования метионина из гомоцистеина требуется витамин

а) С

б) РР;

☒ в) B_{12} ;

г) B_6 ;

д) Е.

48. Витамин Д активируется путем:

а) аденилирования;

б) метилирования;

☒ в) гидроксилирования;

г) фосфорилирования;

д) гидрирования.

49. Фосфорно-кальцевый обмен регулирует витамин:

а) А;

☒ б) Д;

в) С;

г) Е.

50. Викасол отличается от витамина К:

☒ а) растворимостью в воде;

☒ б) механизмом действия;

в) влиянием на синтез белка.

51. Злокачественную анемию вызывает недостаток витами-
на:

а) С;

б) Е;

☒ в) B_{12} ;

г) B_9 .

52. В состав родопсина входит витамин:

а) РР;

☒ б) А;

в) Д;

г) С.

53. Куриную слепоту вызывает недостаток витамина:

☒ а) пантотеновая кислота;

☒ б) А;

в) фолат;

г) Д.

54. Для включения сульфатов в глюкозаминогликаны требуется витамин:

☒ а) Д;

☒ б) А;

в) Н;

г) С.

Глава 9. Биохимия регуляций

Раздел 1. Значение изучаемой темы

Регуляция и регулируемость являются фундаментальным свойством всего живого. Организм человека — это нечто бесконечно более сложное, чем совокупность различного типа клеток. Клетки, дифференцированные для осуществления специфических физиологических функций, взаимодействуют друг с другом, образуя ткани, которые в свою очередь структурно организованы в виде органов. Такая организация обеспечивает рациональное разделение функциональной активности, но требует участия контролирующих систем, согласующих и координирующих работу различных органов и тканей, с тем, чтобы она гармонично соответствовала потребностям организма как целого.

Сообщение между клетками обеспечивают сигнальные молекулы (межклеточные регуляторы). Они выделяются из одних клеток и переносятся к другим, доставляя сигналы к тем из них, которые снабжены рецепторами, способными воспринимать эти сигналы. Связывание сигнальной молекулы со своим рецептором приводит к биохимическому ответу клетки, а впоследствии — к ответу органа или ткани.

Биохимическая регуляция может быть срочной и долговременной. Срочная регуляция связана с быстрой перестройкой обмена веществ. Эти изменения в обмене веществ обусловлены включением срочных механизмов регуляции клеточного метаболизма, а именно действием регуляторов на проницаемость клеточных мембран и активность ферментов. Долговременная регуляция выражена в стойкой перестройке обмена веществ, развивающейся вследствие длительного действия межклеточных регуляторов. При этом включаются долговременные механизмы регуляции, направленные на синтез ферментов и других функциональных белков. Если по каким-то причинам не формируется требуемый биохимический ответ на действие межклеточных регуляторов, то ткани, да и организм в целом, не могут приспособиться к сложившимся условиям среды, что проявляется в виде болезней.

В данной теме будет рассмотрена эндокринная регуляция

организма, а именно, ее биохимическая сторона. Материал данной темы закладывает биохимическую основу для изучения курса эндокринологии.

Раздел 2. Сведения о биохимии регуляций

Введение в биохимию регуляций

Задача регуляторных систем — сохранение гомеостаза. Обязательным для регуляции является наличие прямых и обратных связей между регулятором и регулируемым объектом. С помощью этих связей осуществляется интеграция и координация. Интеграция — это объединение элементов системы в единое целое.

Координация (соподчинение) — это подчинение менее важных элементов системы более важным элементам. Интеграция и координация — это две стороны процесса регуляции.

Различают:

1. Внутриклеточную регуляцию (ауторегуляцию).
2. Дистантную регуляцию (межклеточную).

Механизмы клеточной ауторегуляции

1. Компартиментализация (мембранный механизм).

Роль мембран состоит в следующем:

- а) мембраны делят клетки на отсеки и в каждом из них осуществляются свои процессы;
- б) мембраны обеспечивают активный транспорт и регулируют потоки молекул в клетке и из клетки;
- в) в мембраны встроены ферменты;
- г) мембраны защищают клетку от внешних воздействий.

Воздействием на функции мембран клетка может регулировать тот или иной процесс.

2. Изменение активности ферментов. *индукция*
3. Изменение количества ферментов. *перенос*

4. *Секреция*

Классификация межклеточных регуляторов

1. Анатомо-физиологическая:

а) Гормоны — межклеточные регуляторы, доставляемые к клеткам-мишеням током крови. Вырабатываются в эндокринных железах или рассеянных железистых клетках.

б) Нейрогормоны вырабатываются нервными клетками и вы-

деляются в синаптическую щель, то есть в непосредственной близости от клетки-мишени. Нейрогормоны делятся на медиаторы и модуляторы. Медиаторы обладают непосредственным пусковым эффектом. Модуляторы изменяют эффект медиаторов. Примерами медиаторов являются ацетилхолин и норадреналин; модуляторов — γ -аминомасляная кислота, дофамин.

в) Локальные гормоны — это межклеточные регуляторы, действующие на близлежащие к месту их синтеза клетки. Пример: гормоны, производные жирных кислот.

2. Классификация по широте действия:

а) Гормоны универсального действия действуют на все ткани организма (например, катехоламины, глюкокортикостероиды).

б) Гормоны направленного действия действуют на определенные органы-мишени (например, АКТГ действует на кору надпочечников).

3. Классификация по химическому строению:

а) Белково-пептидные гормоны:

- Олигопептиды (кинины, АДГ).
- Полипептиды (АКТГ, глюкагон).
- Белки (СТГ, ТТГ, ГТГ).

б) Производные аминокислот:

- Катехоламины и йодтиронины — образуются из тирозина;
- Ацетилхолин — образуется из серина.
- Серотонин, триптамин, мелатонин — образуются из триптофана.

в) Липидные гормоны:

- стероидные гормоны (гормоны коры надпочечников и половые гормоны);
- производные полиненасыщенных жирных кислот (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены).

Механизмы действия межклеточных регуляторов

Все межклеточные регуляторы (в дальнейшем, гормоны) управляют только путем вмешательства в ауторегуляцию клетки. Обязательным участником гормонального влияния является рецептор.

Рецепторы — это белковые молекулы, специфически связывающие данный гормон, в результате чего возникает какой-либо эффект.

Гормон начинает свое действие с соединения с рецептором, образуя гормон-рецепторный комплекс.

Гормон и рецептор имеют одинаковое значение. Эффект зависит от каждого из них в равной степени.

Рецепторы могут находиться внутри клетки, а также на клеточной мембране.

Механизм действия гормонов через внутриклеточные рецепторы

Гормон проникает в клетку, связывается с рецептором. Образованный таким образом гормон-рецепторный комплекс перемещается в ядро и действует на генетический аппарат клетки. В результате меняется процесс транскрипции, а в дальнейшем, синтез белков. Таким образом, данные гормоны влияют на количество ферментов в клетке.

Механизм действия гормонов через рецепторы плазматических мембран

В этом случае гормон не проникает в клетку, а взаимодействует с рецептором на поверхности мембраны. Далее возможны два варианта событий:

1. Первый вариант — с рецептором связан фермент, который из специфического субстрата образует второй посредник. Второй посредник далее связывается со своим рецептором в клетке. Чаще всего рецептором посредника является протеинкиназа, которая за счет фосфата АТФ, фосфорилирует белки. В результате изменяются их свойства, возникает биохимический и физиологический эффект.
2. Второй вариант — рецептор связан не с ферментом мембраны, а с ионным каналом. При связывании гормона с рецептором, канал открывается, ион поступает в клетку и выполняет функции второго посредника.

Хорошо изученными вторыми посредниками являются циклические нуклеотиды (цАМФ, цГМФ) и Ca^{2+} .

Механизм действия гормонов через цАМФ

Когда соответствующий гормон связывается с рецептором, в мембране активируется фермент аденилатциклаза, который из АТФ образует цАМФ. цАМФ является аллостерическим активатором протеинкиназы, которая фосфорилирует белки и изменяет

их свойства. Например, фосфорилирование фосфорилазы приводит к повышению ее активности, а фосфорилирование гликогенсинтетазы — к снижению. цАМФ расщепляется до АМФ фосфодиэстеразой.

Содержание цАМФ в клетке увеличивают: глюкагон, катехоламины (через β -рецепторы), антидиуретический гормон, гистамин (H_2 -рецепторы), простагландин-Е, простаглицлин, тиреотропный гормон, АКГГ, холерный токсин.

Содержание цАМФ в клетке снижают: ацетилхолин (М-холинорецепторы), катехоламины (α_2 -рецепторы), соматостатин, ангиотензин-II, опиаты, коклюшный токсин.

Функции цАМФ

Как второй посредник участвует в регуляции:

- проницаемости мембран;
- синтеза макромолекул;
- активности ферментов;
- процессов деления;
- в нейронах — увеличения возбудимости;
- в сердце — стимуляции;
- в гладких мышцах — расслабления;
- в железах — увеличения секреции;
- изменения иммунных реакций;
- дезагрегации тромбоцитов.

Механизм действия гормонов через Ca^{2+}

В невозбужденной клетке концентрация кальция $10^{-7}M$. При возбуждении концентрация кальция возрастает до 10^{-6} - $10^{-5}M$. Источниками кальция для этого являются: межклеточная жидкость (содержание кальция — $10^{-3}M$), эндоплазматический ретикулум (тоже содержание кальция — $10^{-3}M$).

Когда гормон связывается с рецептором, в мембране открывается кальциевый канал. В результате содержание кальция в клетке возрастает. Кальций связывается с белком клеток — кальмодулином, образуется комплекс, который может действовать непосредственно на белки, вызывая эффекты, или действовать на кальмодулин-зависимую протеинкиназу. Эта протеинкиназа фосфорилирует белки, в результате изменяются их свойства.

Ca^{2+} в качестве второго посредника выполняет те же функ-

ции, что и цАМФ, за исключением того, что в гладких мышцах вызывает сокращение, тромбоцитах — агрегацию.

Содержание кальция в клетке повышают: катехоламины через α_1 -рецепторы, ацетилхолин через М-холинорецепторы, гистамин через H_1 -рецепторы, тромбоксан, ангиотензин-II.

Механизм регуляции эндокринных желез через гипоталамус-гипофиз

Когда концентрация периферического гормона в крови снижается, тогда из гипоталамуса выделяются либерины, которые действуют на гипофиз и стимулируют освобождение тропинов. Тропины действуют на периферические железы и усиливают освобождение из них гормонов, концентрация которых возрастает. Это фиксируется рецепторами гипоталамуса. Он прекращает освобождение либеринов, но усиливает выброс статинов, которые тормозят гипофиз.

Белково — пептидные гормоны

1. Либерины, статины, антидиуретический гормон, окситоцин — гормоны гипоталамуса.
2. Тропины (соматотропин, тиреотропин, кортикотропин, фолликулостимулирующий, лютеинизирующий, пролактин) — гормоны гипофиза.
3. Тиреокальцитонин — гормон щитовидной железы.
4. Паратгормон — гормон паращитовидной железы.
5. Тимозин — гормон тимуса.
6. Инсулин — гормон В-клеток поджелудочной железы.
7. Глюкагон — гормон А-клеток поджелудочной железы.
8. Гастрин, секретин, холецистокинин, энтерогастрон — гормоны ЖКТ.
9. Гормоны предсердий.
10. Факторы роста клеток, нервов, сосудов.
11. Ангиотензин-II, кинины — гормоны крови.

Соматотропный гормон (СТГ, гормон роста)

СТГ — простой белок (молекулярная масса 21000). Обладает высокой видовой специфичностью.

СТГ выполняет следующие функции:

1. Стимулирует синтез белка на уровне транскрипции и трансляции;

2. Активирует триглицеридлипазу, окисление жирных кислот;
3. Стимулирует освобождение глюкагона, что приводит к гипергликемии.

Выработку СТГ усиливает соматолиберин, снижает — соматостатин.

Действие СТГ на клетки осуществляется через цАМФ и ростстимулирующие факторы (соматомедины).

Патология, вызванная нарушением образования СТГ.

1. Акромегалия возникает при избыточном образовании СТГ у взрослого человека. Признаки: чрезмерный рост костей рук, ног и лица, мягких тканей носа, губ, подбородка, волос на теле.

Акромегалия обычно обусловлена наличием опухоли аденогипофиза или снижением выработки статинов.

2. Гигантизм развивается при гиперсекреции СТГ у людей до завершения окостенения. Происходит общий чрезмерный рост скелета.
3. Гипофизарная карликовость (нанизм) наблюдается при гипосекреции СТГ в детском возрасте. Карлики обычно не имеют признаков деформации скелета, не страдают умственным недоразвитием. Рост взрослого человека 110-130 сантиметров.

Глюкагон

Глюкагон относится к белково-пептидным гормонам. Образуется в А-клетках поджелудочной железы. Состоит из 29 аминокислот, имеет молекулярную массу 3485. Образуется из проглюкагона путем отщепления 8 аминокислот. Секреция глюкагона усиливается при повышении содержания в крови Ca^{2+} , аргинина; тормозится глюкозой и соматостатином. Рецепторы для глюкагона находятся на мембране клеток. Он действует путем увеличения концентрации цАМФ в клетке. Мишенями глюкагона являются печень, жировая ткань и, в меньшей степени, мышцы.

Эффекты глюкагона:

1. Усиливает распад гликогена в печени и мышцах.
2. Усиливает глюконеогенез.
3. Усиливает липолиз, что приводит к повышению жирных кислот и глицерина в крови.
4. Усиливает окисление жирных кислот в печени, образование ацетил-КоА и образование из него кетонных тел.

5. Увеличивает катаболизм белков и использование образовавшихся аминокислот в глюконеогенезе.
6. Усиливает синтез мочевины.

Инсулин

Инсулин является белково-пептидным гормоном с молекулярной массой 5700. Синтезируется в В-клетках поджелудочной железы из проинсулина. Превращение проинсулина в инсулин происходит путем удаления внутреннего пептидного сегмента (С-пептида). Скорость секреции инсулина зависит от концентрации глюкозы в крови: при повышении концентрации секреция инсулина увеличивается, а при снижении — уменьшается.

Секрецию инсулина также усиливают: глюкагон, секретин, холецистокинин, СТГ и пища, богатая белками.

Рецепторы для инсулина находятся на клеточной мембране, поэтому свои эффекты он осуществляет, не проникая в клетку. Главными мишенями для инсулина являются мышцы, печень, жировая ткань, фибробласты и лимфоциты. Головной мозг не зависит от инсулина.

Инсулиновая недостаточность приводит к сахарному диабету. Может быть 2 причины сахарного диабета:

1. *Абсолютная недостаточность инсулина.* В этом случае концентрация инсулина в крови ниже нормы. Это может быть связано либо с повреждением островковой ткани железы, либо с истощением запасов инсулина, либо с ускоренным его разрушением.
2. *Относительная недостаточность* возникает в результате снижения числа рецепторов к инсулину, или снижения их чувствительности.

Различают *инсулинзависимый* (юношеский, ювенильный) и *инсулиннезависимый* (стабильный) сахарный диабет.

При инсулинзависимом диабете наблюдается абсолютная недостаточность инсулина, и жизнь больных зависит от инъекции инсулина.

При инсулиннезависимом диабете наблюдается относительная недостаточность инсулина, поддержание глюкозы на нормальном уровне достигается сахаропонижающими средствами, инъекции инсулина не требуются.

Сахарный диабет приводит к нарушению всех видов обмена.

Нарушения обмена углеводов

1. Гипергликемия, которая возникает в результате:

- а) снижения проницаемости клеточных мембран для глюкозы. Глюкоза накапливается в крови.
- б) усиления процессов, поставляющих глюкозу в кровь (распад гликогена печени, глюконеогенез).
- в) торможение процессов, потребляющих глюкозу (синтез гликогена, гликолиз, пентозофосфатный путь).

В норме концентрация глюкозы в крови составляет 3,3-5,5 ммоль/л, при сахарном диабете — 6,7 ммоль/л и выше, при 8,9 ммоль/л возникает глюкозурия.

2. Заторможен пентозофосфатный путь. В результате этого снижено образование НАДФН, что приводит к катаракте.

3. Гипергликемия вызывает неферментативное гликозилирование белков, в том числе белков клеточных мембран всех органов и систем, в первую очередь, сосудов. Возникают микроангиопатии (ранний признак сахарного диабета).

Нарушения обмена липидов

Нарушения обмена липидов характерны для инсулинзависимого диабета.

1. Усиливается липолиз, в крови повышается концентрация НЭЖК. Больные в этом случае худеют.
2. Усиливается окисление жирных кислот и образование ацетил-КоА.
3. Возрастает синтез кетоновых тел, накопление которых опасно, так как приводит к метаболическому ацидозу.
4. Возрастает синтез холестерина, что является фактором риска для развития атеросклероза.
5. Увеличивается содержание атерогенных липопротеидов, снижается содержание антиатерогенных.
6. Усиливается перекисное окисление липидов.

Нарушения обмена белков

1. Увеличивается синтез гликопротеидов.
2. Усиливается распад белков, синтез мочевины, возрастает остаточный азот.

Осложнения при сахарном диабете

1. Полиурия и полидипсия.

2. Диабетическая кома. Признаки: гипергликемия (14-16 ммоль/л), резкое увеличение содержания кетоновых тел, повышение уровня холестерина, ЛПНП, рН крови сдвигается до 6,8. Это приводит к снижению связанности инсулина с рецептором.

3. Ангиопатии (микро- и макро-). Микроангиопатия сосудов сетчатки глаза снижает остроту зрения, микроангиопатия сосудов почек приводит к тяжелой почечной недостаточности. Макроангиопатия — нарушение крупных сосудов — характеризуется атеросклерозом, поражением сосудов нижних конечностей.

4. Гиперосмолярная кома возникает при концентрации глюкозы в крови 50-60 ммоль/л. В результате повышается осмотическое давление крови, что приводит к обезвоживанию организма.

5. Гипогликемическая кома может возникнуть при передозировке инсулина.

Диагностика сахарного диабета

Различают: преддиабет, латентный диабет и явный диабет (легкий и тяжелый).

Наличие диабета определяют по содержанию глюкозы в крови. Для диагностики сопутствующих заболеваний определяют содержание холестерина, ЛПНП (наличие атеросклероза), сиаловых кислот (наличие воспаления), кетоновых тел (диабетическая кома).

При латентном диабете проводят пробу с сахарной нагрузкой.

Йодтиронины (трийодтиронин и тетраiodтиронин)

Вырабатываются в фолликулах щитовидной железы. Для синтеза йодтиронинов (ЙТ) необходимы: тирозин, йод и тиреоидпероксидаза. Йод нужен для йодирования остатков тирозина, входящего в состав специфического белка — тиреоглобулина. Вначале в остатки тирозина включается по одному атому йода, при этом образуется моноiodтирозин. Затем включается второй атом йода с образованием дийодтирозина. Взаимодействие йодированного тирозина приводит к образованию триiodтиронина (Т3)

или тетраiodтирони́на (тироксина, Т4). Образовавшиеся молекулы ИТ освобождаются из тиреоглобулина путем ограниченного протеолиза и поступают в кровь. В крови ИТ связываются со специальным глобулином или альбуминами и в таком виде транспортируются.

Когда концентрация ИТ в крови снижается, тогда из гипоталамуса в кровь выделяется тиреолиберин, который действует на гипофиз и приводит к секреции тиреотропина, стимулирующего освобождение ИТ. Когда содержание ИТ повышается, прекращается освобождение тиреолиберина, соответственно тиреотропина и ИТ. Йодтиронины действуют на функции клеток через внутриклеточные рецепторы, а также через цАМФ.

Эффекты йодтиронинов

1. Увеличивают потребление кислорода организмом:
 - а) в малых дозах повышают синтез АТФ;
 - б) в больших дозах стимулируют процессы, потребляющие АТФ, что приводит к повышению теплообразования.
2. Активируют синтез хондроитинсульфата.
3. Снижают синтез гиалуроновой кислоты.
4. Тормозят синтез холестерина.
5. Стимулируют липолиз.
6. Изменяют синтез белка (в малых дозах усиливают, в больших — тормозят, но усиливают распад).
7. Влияют на рост клеток и их дифференцировку.
8. Обладают сенсibiliзирующим действием к катехоламинам, то есть увеличивают реакцию тканей на них.
9. Обладают гипергликемическим действием.

Изменение функции щитовидной железы приводит к патологиям.

1. При гипосекреции ИТ в детском возрасте возникает кретинизм. Признаки кретинизма: карликовый рост, деформация скелета, задержка умственного развития, пониженный основной обмен.
2. При гипосекреции ИТ у взрослых возникает микседема. Признаки микседемы: пониженный основной обмен, пассивность, отеки, ожирение, гиперхолестеринемия.

3. При гиперсекреции ИТ возникает гипертиреоз (базедовая болезнь). Признаки: повышенный основной обмен, потеря веса, пучеглазие, высокая подвижность.

Катехоламины

Образуются из тирозина в клетках хромаффинной ткани. Для синтеза требуются: тирозин, S-аденозилметионин (активный метионин), витамины PP, C и B₆. К катехоламинам относятся: ДО-Фамин (диоксифениламин), норадреналин и адреналин.

В центральном отделе симпато-адреналовой системы (головной мозг) образуются дофамин (ДА) и норадреналин (НА).

В медиаторном отделе (окончания симпатических нервов) образуется норадреналин.

В гормональном отделе симпато-адреналовой системы (мозговое вещество надпочечников) образуется адреналин (А).

Дофамин выполняет следующие функции:

1. Является тормозным модулятором головного мозга. Тормозит эффекты ацетилхолина. При недостатке дофамина возникает паркинсонизм. Симптомы паркинсонизма: скованная походка, маскообразное лицо, дрожание конечностей;
 2. При избытке дофамина возникают некоторые формы шизофрении;
 3. Дофамин тормозит выделение гормонов аденогипофиза.
- #### *Функции норадреналина:*

1. Тормозной модулятор.
2. Участвует в центральной регуляции кровяного давления и дыхания.
3. Тормозит мозговое вещество надпочечников и изменяет деятельность коры надпочечников, регулирует эндокринные железы.
4. Стимулирует умственную работоспособность и запоминание.
5. Стимулирует высшие чувства: эмоции, поведение, мышление.

На периферии катехоламины выполняют:

1. Адаптационно-трофическую функцию, то есть способствуют приспособлению организма к наиболее продуктивной работе.

2. Гомеостатическую (восстанавливают нарушенный гомеостаз).

3. Аварийную функцию, которая включается при тяжелых стрессах и жизненно опасных ситуациях.

Депонирование катехоламинов, то есть сбережение в неактивном, но неактивном виде, происходит в специальных гранулах. Хромаффинные гранулы — это высокоспециализированные, сложно устроенные органеллы. Их содержимое окружено мембраной, которая содержит разнообразные белки, включая H^+ -АТФазу, белки-переносчики катехоламинов, актин, дофамин-гидроксилазу и другие. Транспорт катехоламинов в гранулы требует АТФ. АТФ связывается с катехоламинами и, возможно, белками гранул. Это препятствует выходу запасенных гормонов.

Мобилизация (освобождение) катехоламинов происходит под влиянием нервного импульса.

Метаболизм (инактивация) катехоламинов происходит двумя путями:

1. Путем метилирования катехол-О-метилтрансферазой (КОМТ) за счет метильной группы S-аденозилметионина.

2. Путем окислительного дезаминирования моноаминоксидазой.

Влияние катехоламинов на обмен веществ

1. Увеличивают потребление кислорода (калоригенный эффект).

2. Повышают концентрацию глюкозы в крови за счет усиления распада гликогена в печени и глюконеогенеза.

3. Адреналин усиливает гликогенолиз в мышцах, что приводит к гиперлактатемии.

4. Усиливают липолиз, окисление жирных кислот, синтез кетоновых тел и холестерина.

5. Способствуют распаду белка, усиливают дезаминирование аминокислот, синтез мочевины, повышают остаточный азот.

Механизм действия катехоламинов

Эффекты катехоламинов реализуются через адренорецепторы плазматических мембран. При связывании катехоламинов с α_1 -адренорецепторами в клетке повышается содержание Ca^{2+} и

инозитол-3-фосфата, при связывании с α_2 -рецепторами — снижается содержание цАМФ, при связывании катехоламинов с β -рецепторами повышается содержание цАМФ.

Через α_1 -адренорецепторы катехоламины вызывают сокращение мышц, в том числе сердца, сосудов, матки, ЖКТ, расширение зрачка, повышают артериальное давление.

Через α_2 -рецепторы катехоламины повышают агрегацию тромбоцитов, снижают освобождение норадреналина и ацетилхолина.

Через β_1 -рецепторы катехоламины стимулируют липолиз, окислительно-восстановительные процессы, работу сердца, расслабляют гладкие мышцы ЖКТ.

Через β_2 -рецепторы катехоламины расслабляют гладкие мышцы сосудов, бронхов, матки, усиливают распад гликогена в мышцах.

Стероидные гормоны

Являются производными холестерина. Различают половые стероидные гормоны и гормоны коры надпочечников.

Синтез стероидных гормонов происходит путем укорочения боковой цепи холестерина и окисления кольца под действием гидроксилаз с использованием кислорода, витаминов PP и C.

В **клубочковой зоне** коры надпочечников синтезируется альдостерон, который усиливает реабсорбцию натрия, хлора и воды. Освобождение альдостерона происходит под влиянием ангиотензина-II, который образуется из белка крови ангиотензиногена под влиянием фермента ренина из юкстагломерулярных клеток почек.

В **пучковой зоне** коры надпочечников образуются глюкокортикостероиды (ГКС).

В **сетчатой зоне** коры образуются слабые андрогены и некоторые эстрогены.

Когда концентрация ГКС снижается, из гипоталамуса освобождаются кортиколиберины, которые приводят к освобождению из гипофиза кортикотропина (АКТГ). АКТГ действует на пучковую и сетчатую зоны коры надпочечников, в результате освобождаются ГКС. Концентрация последних в крови повышается, что прекращает выход кортиколиберина. В случае, когда гипоталамус не реагирует на высокий уровень ГКС, то есть продолжает выб-

рос кортиколиберина, возникает болезнь Иценко-Кушинга. В этом случае вся система гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников работает чрезмерно. Концентрация ГКС увеличивается. Болезнь Иценко-Кушинга возникает также при опухоли аденогипофиза. АКТГ на клубочковую зону коры влияет мало.

Транспорт ГКС в крови осуществляет белок плазмы транскортин.

Инактивация ГКС происходит в печени путем связывания с глюкуроновой кислотой, а также путем восстановления в неактивные тетрагидропроизводные.

Эффекты ГКС

1. Индуцируют ферменты глюконеогенеза и репрессируют гексокиназу, что приводит к гипергликемии.
2. Усиливают распад белков в мышечной и лимфоидной тканях, тормозят в них синтез.
3. Индуцируют синтез ферментов обмена аминокислот.
4. Усиливают синтез мочевины.
5. Усиливают липолиз, окисление жирных кислот, синтез кетонных тел и холестерина.
6. Увеличивают прочность сосудов, снижают их проницаемость (снижают активность гиалуронидазы).
7. Увеличивают работоспособность мышц.
8. Усиливают секрецию пищеварительных соков (особенно желудка), но снижают выработку слизи.
9. ГКС необходимы для проявления эффектов катехоламинов.
10. Обладают противоаллергическим действием.
11. Обладают противовоспалительным действием.

Осложнения при стероидной терапии: сахарный диабет, атеросклероз, язвенная болезнь желудка, гипотрофия надпочечников.

Гормоны — производные полиненасыщенных жирных кислот

Являются производными арахидоновой кислоты. Под действием фосфолипазы происходит расщепление фосфолипидов и освобождение арахидоновой кислоты. Фосфолипазу ингибируют ГКС.

Под действием липоксигеназы в лейкоцитах из арахидоно-

вой кислоты образуются лейкотриены. Это нециклические, окисленные производные арахидоновой кислоты. Лейкотриены действуют через цАМФ.

Эффекты лейкотриенов:

1. Провоспалительное действие.
2. Развитие медленных анафилактических реакций.
3. Освобождение ферментов лизосом.
4. Хемотаксис лейкоцитов.
5. Сокращение гладких мышц.

Под действием циклооксигеназы из арахидоновой кислоты образуются промежуточные биологически активные эндопериксин PGG_2 и PGH_2 . В большинстве тканей из них образуются простагландины Е и F (ПГЕ и PGF). В стенке сосудов из PGG_2 образуется простациклин (ПЦ), в тромбоцитах — тромбоксаны (ТХ). ПГЕ, PGF, ПЦ и ТХ являются циклическими, окисленными производными арахидоновой кислоты.

Эффекты ПГЕ и простациклинов:

1. Расслабление гладких мышц.
2. Освобождение гормонов (стероидных, катехоламинов, йодтиронинов, инсулина).
3. Развитие воспаления (провоспалительное действие).
4. Вызывают дезагрегацию тромбоцитов.
5. Вызывают расширение сосудов.

Эффекты PGF и тромбоксанов:

1. Сокращение гладких мышц.
2. Освобождение гормонов (стероидных, катехоламинов, йодтиронинов, инсулина).
3. Развитие воспаления (провоспалительное действие).
4. Рассасывание желтого тела.
5. Агрегация тромбоцитов.
6. Сужение сосудов.

Рекомендуемая литература

1. Лекции
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., Биологическая химия, 1990, стр. 170-177, 179-180, 186-202.
3. Строев Е.А., Биологическая химия, 1986, стр. 370 — 407.

4. Николаев А.Я., Биологическая химия, 1989, стр. 351-356, 369-379, 392 — 395.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1

1. **Тема:** Введение в биохимию регуляций. Механизм действия гормонов. Пептидные гормоны.

2. **Форма учебного процесса:** Лабораторно-практическое занятие.

3. **Актуальность:** Дает теоретическую основу для курса эндокринологии.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить основные принципы биохимии регуляции.

4.1.2. Ознакомиться с отдельными представителями пептидных гормонов.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Основные задачи системы регуляции.
2. Механизмы внутриклеточной регуляции.
3. Механизмы действия межклеточных регуляторов.
4. Отдельные представители белково-пептидных гормонов.

Уметь:

1. Проводить качественные реакции на гормоны.
2. Объяснять полученные результаты.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Механизмы изменения активности ферментов.
2. Строение мембран.
3. Индукция и репрессия белков.
4. Строение циклических нуклеотидов.
5. Понятие о гормональных рецепторах.

По новой теме

- ✓ 1. Основные задачи системы регуляции.
- ✓ 2. Механизмы клеточной ауторегуляции.
- ✓ 3. Межклеточные регуляторы, их классификация.
- ✓ 4. Механизм действия гормонов через внутриклеточные рецепторы.

- ✓ 5. Механизм действия гормонов через посредников.
- ✓ 6. цАМФ. Образование, метаболизм и функции. Медицинское значение.
- ✓ 7. цГМФ. Образование, метаболизм и функции.
- ✓ 8. Источники Ca^{2+} в клетке. Механизм действия Ca^{2+} .
- ✓ 9. Регуляция периферических эндокринных желез через гипоталамус-гипофиз.
- ✓ 10. Соматотропин. Регуляция синтеза, механизм действия.
- ✓ 11. Эффекты соматотропина, возможные патологии.
- ✓ 12. Глюкагон. Строение. Регуляция секреции. Механизм действия. Эффекты.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Качественные реакции на гормоны».
2. Сделать выводы по результатам проведенных опытов. Оформить протокол.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Качественные реакции на гормоны.

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 1 мл.

3. Глазная пипетка.

Реактивы:

1. Раствор инсулина.

2. Биуретовый реактив.

3. Гидролизат тиреоидина.

4. Раствор KIO_3 .

5. 1% раствор крахмала.

6. 30% раствор NaOH .

7. 2% раствор динитробензола.

8. Моча.

Ход работы:

1) *Подтверждение пептидной природы инсулина.*

К 0,5 мл раствора инсулина приливают 0,5 мл биуретового реактива. Через 10 мин развивается сине-фиолетовая окраска, характерная для реакции на белок.

2) Открытие йода в тироксине

К гидролизату добавляют 20 капель раствора KIO_3 и 3 капли 1% раствора крахмала. Появляется синее окрашивание, обусловленное реакцией йода с крахмалом.

3) Качественное определение 17-кетостероидов в моче.

В пробирку наливают 5 капель мочи, 5 капель 30% раствора едкого натра и 5 капель 2% спиртового раствора м-динитробензола. Перемешивают и через 2-3 минуты наблюдают вишнево-красное окрашивание.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) вопросы к защите лабораторной работы

1. Почему с помощью биуретовой реакции можно обнаружить инсулин?
2. Какие еще гормоны можно открыть с помощью биуретовой реакции?
3. Почему при обнаружении тироксина используют крахмал?
4. Какой качественной реакцией можно обнаружить 17-кетостероиды?
5. К какой группе гормонов по химической классификации относятся стероидные гормоны?
6. К какой группе гормонов по химической классификации относится тироксин?
7. Почему для количественного определения гормонов требуются методы высокой чувствительности?
8. Почему качественные реакции редко используются для обнаружения гормонов в моче?

б) ситуационные задачи

1. Почему снижение выработки соматостатина приводит к акромегалии?
2. Объясните, почему но-шпу используют для расслабления гладких мышц?
3. Одним из осложнений при акромегалии является сахарный диабет. Почему он возникает?
4. Какое биологическое значение имеет тот факт, что гормоны синтезируются в виде прогормонов и препрогормонов?
5. Больным бронхиальной астмой назначают теofilлин. Зачем?

Занятие № 2

1. Тема: Биохимическая диагностика сахарного диабета и его осложнений.

2. Форма учебного процесса: лабораторное занятие.

3. Актуальность: Сахарный диабет — одна из самых распространенных болезней в мире. В основе этой болезни лежит инсулиновая недостаточность, результатом которой является нарушение обмена веществ и многочисленные осложнения. Знания, полученные на этом занятии, будут использоваться в дальнейшем обучении, а также во врачебной деятельности.

4. Цель общая:

- 4.1.1. Изучить влияние инсулина на обмен веществ.
- 4.1.2. Изучить изменение обмена веществ при сахарном диабете.
- 4.1.3. Научиться интерпретировать результаты биохимических анализов.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Регуляцию обмена веществ инсулином.
2. Этиологию и патогенез сахарного диабета.
3. Осложнения при сахарном диабете и их биохимические причины.

Уметь:

1. Определять глюкозу в крови и моче, холестерин, ЛПНП, серогликоиды в сыворотке крови, кетоновые тела в моче.
2. На основании полученных результатов делать обобщающий вывод.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний:

1. Обмен углеводов, липидов и белков.
2. Глюкоза крови: источники, пути использования, регуляция гормонами.

По новой теме:

1. Строение инсулина, место синтеза, образование активной формы, мишени инсулина, механизм действия.
2. Влияние инсулина на углеводный обмен.
3. Влияние инсулина на липидный обмен.

4. Влияние инсулина на белковый обмен.
5. Патогенез инсулинзависимого и инсулиннезависимого сахарного диабета.
6. Нарушение обмена веществ при сахарном диабете.
7. Биохимическая диагностика сахарного диабета и его осложнений.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Студенты организуются в группы. Каждая группа получает задание, конечной целью которого является установление наличия или отсутствия сахарного диабета. Для этого группа получает биологический материал (кровь, мочу), в котором определяют глюкозу, холестерин, серогликоиды, кетоновые тела и ЛПНП.
2. По результатам проведенных исследований студенты делают заключение, оформляют протоколы.
3. Готовятся к защите лабораторной работы.
4. Решают ситуационные задачи.

Лабораторная работа

В полученной задаче выполнить:

1. Определение глюкозы в крови и в моче.
2. Определение серогликоидов в сыворотке крови.
3. Определение общего холестерина в сыворотке крови.
4. Определение β -липопротеидов в сыворотке крови.
5. Определение кетоновых тел в моче.

На основании полученных результатов сделать вывод о наличии или отсутствии сахарного диабета.

Проверка качества усвоения знаний (конечный уровень)

а) вопросы для защиты лабораторной работы

1. Принцип метода колориметрии.
2. Принцип метода центрифугирования.
3. Что такое стандартный раствор?
4. Чем различаются контрольная и опытная пробы?
5. Как строится сахарная кривая? Что она дает для диагностики?
6. Что такое сахарная нагрузка?
7. Какой вид имеют сахарные кривые в норме и патологии?

8. Почему у больных сахарным диабетом периодически измеряют содержание холестерина в сыворотке крови?

9. Почему у больных сахарным диабетом периодически измеряют содержание серогликоидов в сыворотке крови?

10. Почему у больных сахарным диабетом периодически измеряют содержание кетоновых тел в моче?

11. Чем опасна длительная гипергликемия?

12. Почему у больных сахарным диабетом повышается содержание мочевины в сыворотке крови?

13. Почему повышение кетоновых тел в крови опасно для жизни?

14. Почему у больных сахарным диабетом часто возникает катаракта?

15. Почему у больных сахарным диабетом pH крови сдвигается в кислую сторону?

б) ситуационные задачи

1. В клинику поступил больной с запахом ацетона изо рта. Какую патологию можно предположить?

2. Два больных диабетом в бессознательном состоянии доставлены в клинику. После инъекции глюкозы один из них пришел в сознание, состояние другого осталось без изменений. Назовите причины, которые привели к потере сознания у этих больных.

3. Почему инсулин назначают больным сахарным диабетом в виде инъекций, а не в виде таблеток?

4. На приеме у врача больные сахарным диабетом. Один пациент пожилого возраста страдает ожирением, у другого — молодого, вес тела существенно ниже нормы. Объясните, чем отличается направленность липидного обмена у этих больных?

5. У пациента в крови и моче резко повышено содержание ацетоацетата и β -гидроксипропионата. Что может быть причиной этого повышения? Какие дополнительные биохимические исследования необходимо назначить для уточнения диагноза?

6. У пациента опухоль поджелудочной железы. При этом повышен синтез инсулина и наблюдаются симптомы: дрожь, слабость и утомляемость, потливость, постоянное чувство голода. Как влияет избыток инсулина на обмен веществ? Почему развиваются вышеперечисленные симптомы? Почему это может привести к нарушению мозговой деятельности?

Занятие № 3

1. Тема: Липидные гормоны. Гормоны, производные аминокислот.

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Изменение секреции данных гормонов приводит к серьезным нарушениям в организме, в частности кретинизму, микседеме, гипертиреозу, болезни Иценко-Кушинга и другим. Знание данной темы необходимо при обучении на клинических кафедрах и будущей врачебной деятельности.

4. Цель общая:

4.1.1. Изучить строение и функции липидных гормонов, а также гормонов, производных аминокислот.

4.1.1. Научиться определять содержание адреналина в моче.

4.1.3. Научиться объяснять полученные результаты и решать задачи.

4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Йодтиронины: строение, механизм действия, эффекты, патологии.

2. Катехоламины: синтез, депонирование и мобилизация, механизм действия, эффекты.

3. Глюкокортикостероиды: строение, механизм действия, эффекты, патологии.

4. Эйкозаноиды: строение, механизм действия, эффекты.

Уметь:

1. Определять адреналин в моче.

2. Решать ситуационные задачи.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Энергетический обмен.

2. Обмен углеводов, жиров и белков.

3. Введение в биохимию регуляции.

4. Механизм действия гормонов.

По новой теме

1. Классификация, строение и места образования стероидных гормонов.

2. Глюкокортикостероиды, регуляция синтеза, эффекты, возможные патологии.

3. Гормоны, производные полиненасыщенных жирных кислот. Биосинтез и механизм действия. Эффекты.

4. Йодтиронины, синтез и его регуляция.

5. Основные эффекты йодтиронинов, возможные патологии.

6. Синтез, депонирование и метаболизм катехоламинов.

7. Роль катехоламинов в норме и при патологиях.

8. Основные эффекты катехоламинов.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Разбор теоретического материала может быть проведен (по выбору преподавателя):

- в форме конференции;

- в форме работы группами;

- в форме фронтального опроса.

2. Прodelать лабораторную работу «Определение содержания адреналина в моче».

3. Сделать выводы по результатам лабораторной работы, оформить протокол.

Лабораторная работа

✓ **Количественное определение адреналина в моче.**

Оборудование: 1. Штатив с пробирками.

2. Пипетки на 1 мл и 2 мл.

3. Мерная пробирка на 10 мл.

4. КФК.

5. Кюветы на 1 см.

Реактивы: 1. Стандартный раствор адреналина (0,004 мкг/мл).

2. 10% раствор карбоната натрия.

3. Реактив Фолина.

4. Дистиллированная вода.

5. Моча.

Принцип метода. Метод основан на колориметрическом измерении окраски, образующейся в результате реакции адреналина с фосфорновольфрамовым реактивом (реактив Фолина).

Ход работы. В две пробирки с меткой на 5 мл наливают: в

одну — 0,5 мл стандартного раствора адреналина (концентрации — 0,004 мкг/мл), в другую — 0,5 мл мочи. Затем в обе пробирки добавляют по 2 мл 10% свежеприготовленного раствора карбоната натрия и по 0,25 мл реактива Фолина. Встряхивают и оставляют на 10 мин. Потом объем в пробирках доводят до 5 мл раствором карбоната натрия и колориметрируют обе пробы при красном светофильтре в кювете толщиной 1 см против воды.

Расчет количества адреналина, выделяемого с мочой за сутки, проводят по формуле: $(E_{оп}/E_{ст}) \times C_{ст} \times 2 \times 1000 = \text{мкг/сутки}$, где

$E_{оп}$ — оптическая плотность опытной пробы,

$E_{ст}$ — стандартной пробы,

$C_{ст}$ — концентрация стандарта,

2 — коэффициент пересчета на 1 мл,

1000 — суточный диурез в мл.

За сутки у здоровых людей с мочой выделяется в среднем до 15 мкг адреналина.

Диагностическое значение определения адреналина в моче

Экскреция адреналина с мочой увеличивается при феохромоцитоме (гормонально активная опухоль мозгового вещества надпочечников), при маниакально-депрессивном психозе в депрессивной фазе. Курение, физическая нагрузка, эмоциональный стресс вызывают повышение экскреции катехоламинов с мочой. Высокая экскреция катехоламинов наблюдается также при гепатитах и циррозе печени.

Ситуационные задачи:

1. Почему гипертиреоз, как правило, не сопровождается такими заболеваниями как атеросклероз и гипертония?
2. Исходя из знаний гормональной регуляции тонуса гладких мышц сосудов перечислите гормоны или их синтетические аналоги, которые можно использовать: а) для лечения гипертонической болезни; б) при шоковых состояниях.
3. Почему при приступах бронхиальной астмы нельзя часто использовать препараты, стимулирующие β -адренорецепторы? Что необходимо назначить, если прием этих средств не предупреждает развития астматического статуса?

4. Что мешает использовать для лечения атеросклероза тироксин или трийодтиронин?
5. При обследовании ребенка отмечено значительное отставание умственного развития и роста. Ребенок малоактивен. В крови повышено содержание холестерина. Основной обмен снижен. С нарушением каких гормонов можно связать вышеназванные изменения?
6. Изменится ли интенсивность синтеза АКГГ и кортикостероидов у больного, которому с лечебной целью вводят глюкокортикостероиды?

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы

1. Что такое интеграция и координация? 247
2. Дайте понятие об обратных связях и их значении для регуляции. 547
3. Дайте характеристику механизмам клеточной ауторегуляции. 247
4. На какие классы делятся гормоны по анатомо-физиологической классификации? 247-248
5. Чем отличаются универсальные гормоны и гормоны направленного действия? 248
6. Дайте химическую классификацию гормонов. 248
7. Что такое гормональный рецептор? 248-249
8. Расскажите о механизме действия гормонов через внутриклеточные рецепторы. 249
9. Расскажите о механизме действия гормонов через рецепторы плазматических мембран. 249-250
10. Перечислите эффекты цАМФ, как второго посредника. 250
11. Назовите источники Ca^{2+} . 250
12. Перечислите эффекты Ca^{2+} , как второго посредника.
13. Как регулируется выработка и освобождение периферических гормонов через гипоталамус-гипофиз? 251
14. Перечислите белково-пептидные гормоны. 251
15. Дайте характеристику СТГ. 251-252
16. Глюкагон: образование активной формы, мишени, механизм действия, эффекты. 252-253

17. Инсулин: образование активной формы, ткани-мишени, влияние на обмен веществ. **253**
18. Сахарный диабет: причины, нарушение обмена веществ, осложнения, диагностика. **254-255**
19. Что необходимо для синтеза катехоламинов? **257-259**
20. Назовите отделы симпатно-адреналовой системы. Какие катехоламины в них образуются?
21. Перечислите эффекты дофамина.
22. Перечислите эффекты норадреналина.
23. Расскажите о влиянии катехоламинов на обмен веществ.
24. Через какие рецепторы действуют катехоламины?
25. Как осуществляется депонирование и метаболизм катехоламинов?
26. Что необходимо для синтеза йодтиронинов? Какие йодтиронины вы знаете? **259**
27. Расскажите о регуляции выработки йодтиронинов.
28. Перечислите эффекты йодтиронинов.
29. Что такое гипотиреоз? Какие симптомы для него характерны?
30. Расскажите о базедовой болезни.
31. Из чего синтезируются стероидные гормоны?
32. На какие классы делятся стероидные гормоны?
33. Какие стероидные гормоны образуются в коре надпочечников?
34. Как регулируется выработка ГКС?
35. Перечислите эффекты ГКС.
36. Почему ГКС считают хорошими противовоспалительными средствами?
37. Какие осложнения могут возникнуть при лечении ГКС?
38. Расскажите о синтезе гормонов, производных арахидоновой кислоты.
39. Перечислите эффекты простаглицлина.
40. Перечислите эффекты тромбоксана.

Тесты

1. Истинными гормонами являются:

- ☒ а) инсулин;
- ☒ б) глюкагон;
- в) норадреналин;

- ☒ г) адреналин;
- ☒ д) йодтиронины;
- ☒ е) соматотропин;
- ☒ ж) глюкокортикостероиды;
- з) гистамин;
- и) ацетилхолин;
- к) ГАМК;
- л) серотонин.

2. Нейрогормонами являются:

- а) инсулин;
- б) глюкагон;
- ☒ в) норадреналин;
- г) адреналин;
- д) йодтиронины;
- е) соматотропин;
- ж) глюкокортикостероиды;
- з) гистамин;
- ☒ и) ацетилхолин;
- ☒ к) ГАМК;
- л) серотонин.

3. Локальными гормонами являются:

- а) инсулин;
- б) глюкагон;
- в) норадреналин;
- г) адреналин;
- д) йодтиронины;
- е) соматотропин;
- ж) глюкокортикостероиды;
- ☒ з) гистамин;
- и) ацетилхолин;
- к) ГАМК;
- ☒ л) серотонин.

4. Медиаторами являются:

- ☒ а) норадреналин;
- б) дофамин;
- ☒ в) ацетилхолин;
- г) ГАМК;
- д) адреналин.

5. К белково-пептидным гормонам относятся:

- а) глюкокортикостероиды;
- ☒ б) соматотропин;
- в) тироксин;
- г) серотонин;
- д) ацетилхолин;
- е) адреналин;
- ж) тромбоксаны;
- ☒ з) тиреолиберин.

6. К липидным гормонам относятся:

- ☒ а) глюкокортикостероиды;
- б) соматотропин;
- в) тироксин;
- г) серотонин;
- д) ацетилхолин;
- е) адреналин;
- ☒ ж) тромбоксаны;
- з) тиреолиберин.

7. К гормонам, производным аминокислот относятся:

- а) глюкокортикостероиды;
- б) соматотропин;
- ☒ в) тироксин;
- ☒ г) серотонин;
- ☒ д) ацетилхолин;
- ☒ е) адреналин;
- ж) тромбоксаны;
- з) тиреолиберин.

8. Продуктом аденилатциклазной реакции является:

- ☒ а) цАМФ;
- б) цГМФ;
- в) цУМФ;
- г) цТМФ.

9. Проникают внутрь клетки следующие гормоны:

- ☒ а) йодтиронины;
- б) катехоламины;
- в) инсулин;
- г) простагландины;
- д) соматотропин;

е) АКТГ;

☒ ж) глюкокортикостероиды.

10. Связываются с рецепторами плазматических мембран:

- ☒ а) йодтиронины;
- ☒ б) катехоламины;
- ☒ в) инсулин;
- ☒ г) простагландины;
- ☒ д) соматотропин;
- ☒ е) АКТГ;
- ☒ ж) глюкокортикостероиды.

11. Производными тирозина являются:

- а) ацетилхолин;
- ☒ б) адреналин;
- ☒ в) норадреналин;
- г) гистамин;
- ☒ д) йодтиронины;
- ☒ е) дофамин.

12. В щитовидной железе образуются:

- а) адреналин;
- ☒ б) йодтиронины;
- в) антидиуретический гормон;
- г) глюкокортикостероиды;
- д) тестостерон;
- е) инсулин;
- ☒ ж) тиреокальцитонин;
- з) глюкагон;
- и) СТГ;
- к) альдостерон.

13. Повышение секреции йодтиронинов вызывает:

- ☒ а) базедову болезнь;
- б) кретинизм;
- г) микседему;
- г) сахарный диабет.

14. Для больных сахарным диабетом характерны следующие биохимические показатели:

- ☒ а) повышение концентрации глюкозы в крови;
- б) снижение концентрации глюкозы в крови;
- ☒ в) повышение уровня холестерина;

- г) снижение уровня холестерина;
- ☒ д) повышение уровня ЛПНП;
- е) снижение уровня ЛПНП;
- ж) повышение остаточного азота;
- з) снижение концентрации мочевины;
- ☒ и) повышение концентрации НЭЖК.

15. Инсулин на углеводный обмен оказывает следующие эффекты:

- ☒ а) повышение проницаемости клеточных мембран для глюкозы;
- ☒ б) активация гликолиза;
- ☒ в) активация синтеза гликогена;
- г) активация распада гликогена;
- ☒ д) активация пентозофосфатного пути;
- е) торможение пентозофосфатного пути;
- ж) активация глюконеогенеза.

16. Инсулин:

- а) активирует липолиз;
- ☒ б) активирует липогенез;
- в) активирует синтез холестерина;
- г) повышает ЛПНП в крови;
- д) активирует кетогенез;
- ☒ е) активирует синтез жирных кислот.

17. Для диабетической комы характерны следующие признаки:

- ☒ а) бессознательное состояние;
- ☒ б) запах ацетона изо рта;
- ☒ в) глюкозурия;
- ☒ г) резко снижено артериальное давление;
- д) артериальное давление не меняется;
- е) кетоновые тела в моче отсутствуют;
- ж) развивается постепенно;
- ☒ з) возникает внезапно.

18. Снижение уровня инсулина сопровождается развитием гипергликемии, так как:

- ☒ а) активируется гликолиз;
- б) активируется глюконеогенез;
- в) активируется пентозо-фосфатный путь;

- г) активируется синтез гликогена;

- ☒ д) активируется распад гликогена.

19. Снижение уровня инсулина при сахарном диабете сопровождается накоплением НЭЖК, так как:

- ☒ а) активируется липолиз;
- б) активируется липогенез;
- в) активируется β -окисление жирных кислот;
- г) активируется биосинтез жирных кислот;

20. К развитию атеросклероза у больных сахарным диабетом приводят:

- а) активация липолиза;
- б) активация липогенеза;
- ☒ в) активация синтеза холестерина;
- ☒ г) накопление ЛПНП в крови;
- д) накопление ЛПВП в крови;
- е) усиленный кетогенез.

21. Причинами повышения остаточного азота крови при сахарном диабете являются:

- а) активация синтеза белка;
- б) активация гликолиза;
- ☒ в) активация синтеза мочевины;
- г) снижение синтеза мочевины;
- ☒ д) активация дезаминирования аминокислот.

22. Катехоламины активируют:

- а) синтез гликогена;
- ☒ б) распад гликогена;
- ☒ в) глюконеогенез;
- г) пентозофосфатный путь;
- д) гликолиз;
- ☒ е) гликогенолиз.

23. Катехоламины активируют:

- ☒ а) липолиз;
- б) липогенез;
- ☒ в) β -окисление жирных кислот;
- г) синтез жирных кислот;
- ☒ д) кетогенез.

24. Катехоламины активируют:

- а) синтез белка;

- ☒ б) распад белка;
☒ в) синтез мочевины;
☒ г) дезаминирование аминокислот.
- 25. Глюкокортикостероиды активируют следующие процессы липидного обмена:**
- ☒ а) липолиз;
☒ б) липогенез;
☒ в) β -окисление жирных кислот;
☒ г) синтез жирных кислот;
☒ д) синтез кетоновых тел;
☒ е) синтез холестерина.
- 26. Глюкокортикостероиды активируют следующие процессы белкового обмена:**
- ☒ а) синтез белков;
☒ б) распад белков;
☒ в) синтез мочевины;
☒ г) дезаминирование аминокислот.
- 27. Под действием глюкокортикостероидов происходят следующие изменения:**
- ☒ а) активация гликолиза;
☒ б) активация синтеза гликогена;
☒ в) активация распада гликогена;
☒ г) активация глюконеогенеза;
☒ д) активация пентозофосфатного пути.
- 28. Повышение уровня глюкокортикостероидов является фактором риска развития атеросклероза, потому что:**
- ☒ а) активируется липолиз;
☒ б) активируется кетогенез;
☒ в) активируется синтез холестерина;
☒ г) повышается уровень ЛПВП;
☒ д) повышается уровень ЛПНП.
- 29. К гормонам стресса относятся:**
- ☒ а) йодтиронины;
☒ б) глюкокортикостероиды;
☒ в) инсулин;
☒ г) катехоламины;
☒ д) глюкагон.

30. Среди перечисленных гормонов, производных арахидоновой кислоты, выберите работающие через цАМФ:

- ☒ а) ПГЕ;
☒ б) ПГФ;
☒ в) простаглицлины;
☒ г) тромбоксаны;
☒ д) лейкотриены.

31. Развитию ишемической болезни сердца способствуют:

- ☒ а) ПГЕ;
☒ б) ПГФ;
☒ в) тромбоксаны;
☒ г) простаглицлины;
☒ д) лейкотриены.

32. Осложнения, возможные при приеме глюкокортикоидов:

- ☒ а) отеки;
☒ б) стероидный диабет;
☒ в) стероидные язвы в желудке;
☒ г) остеопороз и переломы костей;
☒ д) иммунодефицит.

33. При сахарном диабете ацетил-КоА преимущественно используется в:

- ☒ а) цикле Кребса;
☒ б) синтезе холестерина;
☒ в) синтезе кетоновых тел;
☒ г) синтезе жирных кислот.

34. Внутриклеточным рецептором для ионов кальция являются:

- ☒ а) белок кальмодулин;
☒ б) белок альбумин;
☒ в) белок ферритин;
☒ г) белок глобулин.

35. Из тирозина в синтезе катехоламинов первым метаболитом является:

- ☒ а) норадреналин;
☒ б) адреналин;
☒ в) дофамин;
☒ г) диоксифенилаланин.

36. Для синтеза катехоламинов необходимы витамины:

- а) B_1 ;
- ☒ б) B_6 ;
- в) PP;
- г) C.

37. В мозговом веществе надпочечников вырабатываются:

- ☒ а) адреналин;
- б) глюкокортикостероиды;
- в) половые гормоны.

38. Субстратом для аденилатциклазы в клетке является:

- ☒ а) АТФ;
- б) ГТФ;
- в) АДФ;
- г) УТФ.

39. Через α_1 -адренорецепторы катехоламины вызывают:

- ☒ а) сокращение гладкой мускулатуры;
- б) расслабление гладкой мускулатуры;
- в) активацию липолиза;
- г) увеличение кровяного давления.

40. Для лечения бронхиальной астмы можно использовать:

- ☒ а) адреналин;
- б) цАМФ;
- в) норадреналин;
- г) теofilлин.

41. Через α_2 -адренорецепторы катехоламины вызывают:

- а) калоригенный эффект;
- ☒ б) снижение высвобождения норадреналина из нервных окончаний;
- в) повышение частоты сердечных сокращений;
- г) распад гликогена.

42. В центральном отделе симпато-адреналовой системы вырабатываются:

- а) адреналин;
- ☒ б) дофамин;
- в) соматотропин.

43. Симпатическими нервными окончаниями выделяются:

- а) адреналин;
- ☒ б) норадреналин;

- в) дофамин;
- г) ацетилхолин.

44. Концентрацию цАМФ в клетке можно увеличить:

- ☒ а) активируя аденилатциклазу;
- ☒ б) ингибируя фосфодиэстеразу;
- в) активируя фосфодиэстеразу;
- г) активируя протеинкиназу.

45. Через β_2 -адренорецепторы катехоламины вызывают:

- а) сокращение гладкой мускулатуры;
- ☒ б) расслабление гладкой мускулатуры;
- в) активация липолиза;
- г) увеличение артериального давления.

46. Через β_1 -адренорецепторы катехоламины вызывают:

- ☒ а) активацию липолиза;
- б) распад гликогена;
- в) калоригенный эффект;
- г) стимуляцию работы сердца.

47. Соматотропный гормон вызывает гипергликемию, так как:

- ☒ а) способствует высвобождению глюкагона;
- б) усиливает работу фосфорилазы;
- в) стимулирует ГНГ;
- г) изменяет проницаемость клеточной мембраны для глюкозы.

48. Резкая отмена глюкокортикостероидов опасна, так как они:

- ☒ а) обладают широким спектром действия на все виды обмена;
- б) снижают синтез собственных глюкокортикостероидов;
- в) вызывают аллергические реакции.

49. Посредником в действии гормонов, не проникающих через клеточные мембраны, являются:

- а) цТМФ;
- б) цГМФ;
- в) цУМФ;
- ☒ г) цАМФ;
- д) Ca^{2+} .

50. Недостаток всех кортикостероидов приводит к:

- ☒ а) аддисоновой болезни;
- б) карликовости;
- в) кретинизму;
- г) акромегалии.

51. цАМФ обладает следующими эффектами:

- ☒ а) изменяет проницаемость клеточных мембран;
- б) вызывает агрегацию тромбоцитов;
- ☒ в) расслабляет гладкую мускулатуру;
- г) сокращает гладкую мускулатуру;
- д) снижает секрецию в железах;
- ☒ е) вызывает дезагрегацию тромбоцитов.

52. Ионы кальция обладают следующими эффектами:

- ☒ а) сокращают гладкую мускулатуру;
- б) вызывает дезагрегацию тромбоцитов;
- ☒ в) изменяют иммунный ответ;
- г) снижают возбудимость в нейронах;
- ☒ д) вызывает агрегацию тромбоцитов.

53. Люди пожилого возраста чаще болеют следующей формой сахарного диабета:

- а) инсулинзависимый;
- ☒ б) инсулиннезависимый;
- в) латентный.

54. Глюкокортикостероиды применяют при лечении:

- а) шока различной этиологии;
- б) сахарного диабета;
- в) гипергликемии;
- ☒ г) аллергических заболеваний;
- д) лейкозов.

55. При лечении глюкокортикостероидами возможны осложнения:

- а) тяжелая форма вирусного гепатита;
- ☒ б) сахарный диабет;
- ☒ в) язва желудка;
- г) гипотония;
- д) гипогликемия.

56. Под действием циклооксигеназы образуются:

- а) лейкотриены;

☒ б) ПГЕ;

☒ в) ПГФ;

г) тромбоксаны.

57. цГМФ вызывает следующие эффекты:

- ☒ а) расслабляет гладкую мускулатуру кишечника;
- б) изменяет проницаемость клеточных мембран;
- в) увеличивает секрецию кишечного сока;
- г) снижает иммунные реакции.

58. В гипоталамусе вырабатываются:

- ☒ а) тиреолиберины;
- б) вазопрессин;
- в) соматотропин;
- ☒ г) соматостатин;
- д) кортикотропин.

59. Под действием липооксигеназы образуются:

- а) простагландины;
- б) тромбоксаны;
- ☒ в) лейкотриены;
- г) ПГЕ.

60. Арахидоновая кислота образуется при действии:

- а) аденилатциклазы;
- ☒ б) фосфолипазы A₂;
- в) липооксигеназы;
- г) циклооксигеназы.

61. Тромбоксаны вызывают:

- ☒ а) агрегацию тромбоцитов;
- б) дезагрегацию тромбоцитов;
- в) расслабление гладкой мускулатуры;
- ☒ г) сокращение гладкой мускулатуры.

62. Аспирин вызывает «разжижение» крови и назначается больным, перенесшим инфаркт миокарда, так как он:

- ☒ а) тормозит действие циклооксигеназы;
- б) тормозит действие фосфолипазы A₂;
- в) тормозит действие липооксигеназы.

Раздел 1. Значение изучаемой темы

Вода — одно из самых замечательных веществ по своим физико-химическим свойствам. Вода обязательный спутник жизни: нет ни одного известного нам организма, который мог бы обходиться без нее.

Большое количество воды внутри и вне клеток указывает на необходимость ее для процессов жизнедеятельности организма. Функции клеток зависят от общего количества внутриклеточной и внеклеточной воды, от обводнения субклеточных структур, от водного микроокружения макромолекул. Содержание воды в теле человека и распределение ее внутри и вне клеток зависит от возраста. Нарушение водного баланса клеток организма приводит к тяжелым последствиям, вплоть до его гибели.

С обменом воды тесно связан минеральный обмен. Живые организмы содержат чуть ли не все элементы периодической системы. Минеральные вещества вместе с водой создают среду, в которой протекают все обменные процессы в клетках. С минеральными веществами связаны все биоэлектрические и электрофизиологические явления в организме. Минеральные вещества обеспечивают осмотическое давление. Они выполняют многие другие функции. Нарушение минерального обмена также приводит к тяжелой патологии.

Все вышеизложенное указывает на необходимость изучения данной темы студентами медицинских вузов.

Раздел 2. Сведения о водно-минеральном обмене

Значение воды

Вода играет важную роль не только как обязательная составная часть всех клеток, но и как среда для протекания химических реакций. Масса воды убывает в зависимости от возраста: у трехмесячного эмбриона содержание воды составляет 96%, к моменту рождения — 76%, у взрослых мужчин воды 60%, у женщин — 50%. Больше всего воды в плазме крови, спинномозговой жидкости, моче, поте, где на ее долю приходится 90%. В сердце, мышцах, легких воды 80%, в костях — 25%, в эмали зуба — 2%.

Функции воды

1. Участие в образовании внутриклеточных структур:
 - а) гидратная оболочка ионов;
 - б) гидратная оболочка вокруг белков;
 - в) вода внутри третичной структуры белков.
2. Участие в транспорте различных веществ. Реализации этой функции способствуют:
 - а) низкая вязкость;
 - б) высокая подвижность;
 - в) высокая растворяющая способность воды.
3. Среда для химических реакций.
4. Вода является участницей химических реакций:
 - а) гидролиз веществ;
 - б) реакция гидратации.
5. Вода необходима для выведения продуктов обмена веществ.
6. Участие в терморегуляции.
7. Входит в состав смазки, то есть облегчает скольжение трущихся поверхностей.

Водный баланс

Водный баланс — это соотношение между водой поступившей и выведенной из организма. Суточная потребность взрослого человека в воде 40 г/кг веса. У грудных детей потребность в воде в 3-4 раза выше.

В организм человека вода поступает:

1. С питьем (0,5-1,7 л).
2. С пищей (0,8 — 1,0 л);
3. Эндогенная вода (это вода, образующаяся в организме в результате окисления веществ, она составляет 0,2 — 0,3 л).

Таким образом, всего в организм поступает 1,5-3,0 л воды. Это количество воды должно полностью компенсировать постоянные потери воды.

Организм теряет воду:

1. С мочой (0,6-1,6 л).
2. С поверхности кожи, с потом (0,5-0,9 л).
3. При дыхании с поверхности легких (0,3-0,5 л).
4. С калом (0,1-0,2 л).

Всего выводится из организма 1,5-3,0 л воды. Если воды поступает больше, чем выводится, говорят о положительном водном балансе. Если выводится больше воды, чем поступает, то говорят об отрицательном водном балансе.

Регуляция воды антидиуретическим гормоном (АДГ)

АДГ (вазопрессин) - это олигопептид (9 аминокислот) с молекулярной массой 1000. Вырабатывается в гипоталамусе, хранится в задней доле гипофиза. Когда осмотическое давление крови увеличивается (например, при обезвоживании или повышенном поступлении соли), выделяется АДГ, который действует на дистальные каналы и собирательные трубочки почек. Этот эффект АДГ реализуется через цАМФ, который активирует протеинкиназу. Последняя, за счет фосфата АТФ, фосфорилирует белки мембран. В результате проницаемость для воды и ионов калия увеличивается, они возвращаются в кровоток. Диурез уменьшается, что приводит к уменьшению осмотического давления, поступление АДГ в кровь прекращается. Если выработка АДГ нарушается, воды из организма выделяется много. Возникает несахарный диабет, который характеризуется полиурией до 4-10 л в сутки. Для лечения используют препараты, изготовленные из высушенного гипофиза (адиурекрин, адиуретин-сд).

Минеральные вещества

Минеральные вещества представлены чрезвычайно широко. Из 92 элементов у человека обнаружен 81 элемент. По содержанию в организме их делят на макроэлементы (от 10^{-2} М и более) и микроэлементы (от 10^{-3} до 10^{-5} М).

Макроэлементы — это основные структурные элементы. К ним относятся калий, натрий, кальций, магний, хлор и фосфор.

Среди микроэлементов выделяют жизненно необходимые, к которым относятся железо, йод, медь, цинк, кобальт, хром, молибден, марганец, ванадий, никель, селен, мышьяк, фтор, кремний, литий. Основное значение этих элементов — участие в работе ферментов.

Функции минеральных веществ

1. Обеспечивают осмотическое давление.
2. Поддерживают кислотно-основное равновесие.
3. Регулируют активность ферментов:

- а) Mg^{2+} и Mn^{2+} необходимы для работы дегидрогеназ (ИЦДГ, ПДГ, и др.);
- б) K^+ , Na^+ повышают активность АТФ-азы;
- в) Fe^{3+} необходимо для работы цитохромов дыхательной цепи;
- г) Cu^+ играет важную роль в процессах тканевого дыхания.

4. Участвуют в процессах возбуждения и генерации биотоков.

5. Являются составной частью биологически важных веществ:

а) I_2 входит в состав йодтиронинов;

б) Zn входит в состав инсулина;

в) Co входит в состав витамина B_{12} ;

г) Fe^{2+} входит в состав гема.

6. Формирование твердых тканей организма (кальций, фосфор и другие участвуют в минерализации костной ткани).

Натрий

Натрий — главный катион внеклеточной жидкости. Содержание натрия в сыворотке крови составляет 135-147 ммоль/л. Находится в виде хлоридов, фосфатов, бикарбонатов. Суточная потребность 4 — 6 г.

Биологическая роль натрия:

- поддержание осмотического давления (на долю натрия приходится 92% всех компонентов плазмы);
- сохранение кислотно-щелочного равновесия;
- активация транспортной АТФ-азы;
- участие в процессах возбуждения и генерации биотоков;
- увеличение эффектов норадреналина.

Калий

Калий — главный внутриклеточный катион. В клетке содержится 98% калия всего организма. В плазме крови содержится не более 2% от общего количества калия и его концентрация составляет 3,6-5,3 ммоль/л. Суточная потребность у взрослых людей 2 -3 г. В плазме калий находится в ионизированной форме, в тканях одна часть калия свободная, а другая — связана с белками, глюкозой, креатинином и фосфатом.

Калий необходим для:

- поддержания осмотического давления в клетках;
- поддержания кислотно-основного равновесия;

- возникновения и проведения нервного импульса, сокращения клеток;
- усвоения глюкозы и синтеза гликогена;
- синтеза белка;
- образования и освобождения некоторых регуляторов, прежде всего ацетилхолина и цАМФ;
- регуляции освобождения альдостерона из коры надпочечников;
- переноса кислорода гемоглобином в эритроцитах.

Хлор

Хлор — является основным одновалентным анионом, составляет 32% от всех анионов. Суточная потребность у новорожденных составляет 1 г, у детей — 2-4 г, у взрослых — 6-15 г. В плазме крови содержится 100 — 106 ммоль/л хлора.

Очень много хлора выделяется с потом.

Биологическая роль хлора:

- участвует в поддержании осмотического равновесия;
- проникая через мембрану эритроцитов, способствует перемещению ионов между плазмой и эритроцитами. При участии карбоангидразы происходит связывание CO_2 в форме бикарбонатов и высвобождение его в капиллярах легких.
- является электростатическим противовесом для катионов водорода и натрия;
- необходим для работы некоторых ферментов (например, амилазы слюны и поджелудочной железы, а также миелопероксидазы фагоцитов).

Регуляция минерального обмена альдостероном

Содержание натрия и калия в организме очень тщательно контролируется. Основную роль в этом контроле выполняет альдостерон. Его выделение регулируется юкстагломерулярным аппаратом почек. В его клетках присутствуют барорецепторы и Na-рецепторы, которые реагируют на уменьшение объема плазмы и снижение концентрации Na^+ . В результате возбуждения рецепторов в кровь выделяется фермент ренин (специфическая пептидаза), который действует на белок крови — ангиотензиноген, отщепляя от него ангиотензин-I (содержит 10 аминокислот). Ан-

гиотензин-I под действием конвертирующего фермента крови превращается в ангиотензин-II (содержит 8 аминокислот). Ангиотензин-II действует на клубочковую зону коры надпочечников и стимулирует выработку и освобождение альдостерона. Альдостерон действует на дистальные каналы почек, увеличивает реабсорбцию натрия и снижает реабсорбцию калия. В результате в крови повышается концентрация натрия и снижается концентрация калия. Это первичное действие альдостерона. По электростатическим законам за натрием реабсорбируется хлор, а по осмотическим законам — вода. В результате всего этого падает выделение с мочой натрия, хлора и воды. Объем плазмы и содержание в ней этих ионов возрастает, кровенаполнение капилляров увеличивается, юкстагломерулярные клетки сдавливаются и выброс ренина прекращается. Таким образом, замыкается отрицательная обратная связь на кору надпочечников и альдостерон не выделяется.

Регуляция минерального обмена гормонами предсердий

В предсердиях вырабатываются гормоны, названные предсердным натрийуретическим фактором (ПНФ). Это группа белково-пептидных гормонов, которая образуется из одного белкового предшественника путем ограниченного протеолиза. Секрецию ПНФ усиливают ацетилхолин (через М-рецепторы), адреналин (через α_1 -адренорецепторы), вазопрессин (через V-рецепторы). Посредником в действии ПНФ является цГМФ.

Предсердный натрийуретический фактор:

а) увеличивает экскрецию и снижает реабсорбцию натрия и хлора, мало влияет на транспорт калия;

б) тормозит выработку альдостерона и кортикостерона, снижает чувствительность клубочковой зоны коры надпочечников к ангиотензину-II и АКТГ;

в) расслабляет гладкую мускулатуру, расширяет сосуды. Обладает гипотензивным действием.

Кальций

Кальций один из пяти (кислород, углерод, водород, хлор, кальций) наиболее распространенных элементов, встречающихся в организме животных и человека (в организме человека содержится 1,5 — 2 кг). Суточная потребность кальция для взрослых

мужчин равна 1,1 г/сут, для женщин — 0,9 г/сут, потребность для детей колеблется в пределах 0,36-0,9 г/сутки в зависимости от возраста. 99% кальция находится в костях и зубах.

Всасывание кальция в ЖКТ в кровь составляет 0,3 г/сут. При повышении потребления кальция, всасывание его уменьшается. Наиболее интенсивно кальций всасывается в двенадцатиперстной и тонкой кишках; низкожировая диета приводит к снижению усвоения элемента, а увеличение уровня холестерина сопровождается усилением поглощения кальция.

Содержание кальция в плазме крови составляет 2,2-2,74 ммоль/л. В плазме кальций находится в трех состояниях: 1) ионизированный кальций (40-50%); 2) кальций, связанный с белками (35-40%), 3) в виде комплексных соединений (12-20%). Физиологической активностью обладает только ион кальция, при щелочных значениях pH его количество уменьшается. Сдвиг реакции крови в кислую сторону ведет к нарастанию уровня Ca^{2+} .

Биологическая роль кальция:

- участвует в свертывании крови;
- необходим для мышечного сокращения, в том числе и миокарда;
- необходим для минерализации костей;
- притормаживает нервную систему;
- является посредником в действии гормонов и в этом качестве участвует:
 - а) в регуляции внутриклеточного метаболизма: увеличивает потребление кислорода, стимулирует распад гликогена, активирует липолиз и другие процессы;
 - б) стимуляции деления клеток;
 - в) стимуляции секреции желез как экзокринных (слюнные, поджелудочная), так и эндокринных (гипофиз, надпочечники, поджелудочная);
 - г) агрегации тромбоцитов.

С действием кальция на проницаемость клеточных мембран связаны противовоспалительный, дегидратационный, десенсибилизирующий, дезинтоксикационный, вяжущий, гемостатический и тонизирующий эффекты.

В регуляции кальциевого обмена принимают участие паратгормон (гормон паращитовидных желез), тиреокальцитонин (гормон щитовидной железы) и витамин D.

Паратгормон (паратирин) является белково-пептидным гормоном, состоит из одной полипептидной цепи (84 аминокислоты), имеет молекулярную массу 9500. Паратгормон в почках усиливает реабсорбцию Ca^{2+} и Mg^{2+} , но снижает реабсорбцию фосфата. В костях паратгормон стимулирует остеокласты и способствует выведению кальция из костей. В ЖКТ паратгормон усиливает всасывание кальция и фосфора. Таким образом, паратгормон увеличивает концентрацию кальция в крови. Аналогичным образом концентрацию кальция регулирует витамин D. В почках витамин D стимулирует реабсорбцию кальция и фосфора. Этим действие витамина D отличается от действия паратгормона.

Тиреокальцитонин является белково-пептидным гормоном, с молекулярной массой 3600. Усиливает отложение фосфорно-кальциевых солей на коллагеновую матрицу костей. Тиреокальцитонин, как и паратгормон, усиливает фосфатурию.

Гиперкальциемия проявляется полиурией, рвотой, астенией, адинамией, нарушением сердечного ритма. В тяжелых случаях может наступить гибель организма от почечной недостаточности в связи с нефросклерозом или остановкой сердца.

Фосфор

В организме взрослого человека содержится 500-800 г фосфора, что составляет 1% от массы тела. 80-88% его находится в скелете, 10-15% — в соединительной ткани и только около 1% или менее — во внеклеточной жидкости. В организме человека фосфор существует в органической и неорганической формах.

У взрослых нормальная концентрация неорганического фосфора составляет 0,87-1,45 ммоль/л, у новорожденных — 1,13-2,78 ммоль/л. В пожилом и старческом возрасте эти показатели снижены (0,74-1,20 ммоль/л у мужчин и 0,90-1,32 ммоль/л у женщин).

Биологическая роль.

Фосфаты участвуют:

- в метаболизме углеводов;
- в хранении и переносе энергии, необходимой для синтетических и метаболических процессов;
- регуляции транспорта кислорода;
- являются составной частью нуклеиновых кислот, фосфопротеинов, фосфолипидов клеточных мембран;

- регулируют активность большого количества ферментов;
- фосфат важен для структурной целостности клеток;
- соединяясь с кальцием, фосфат образует нерастворимые соли, необходимые для образования костей;
- является частью буферных систем крови;
- участвуют в процессах иммунитета и свертывании крови.

Магний

В среднем в организме человека содержится 21-28 г магния, более половины (53%) — в костях и тканях с высокой метаболической активностью, таких как мышцы, мозг, сердце, печень, почки. Во внеклеточном пространстве находится около 1% от общего количества магния; 0,5% сосредоточено в эритроцитах и 0,3% — в плазме. Средняя суточная потребность организма для поддержания нормального баланса магния составляет от 6 до 8 мг/кг. Источники магния — орехи, овес, зелень, мясо.

Концентрация общего магния крови составляет 0,7-1,0 ммоль/л. Нормальные значения ионизированного магния варьируют от 0,3 до 0,45 ммоль/л.

Биологическая роль:

- магний является кофактором более 300 ферментативных реакций;
- комплекс Mg^{2+} -АТФ обеспечивает работу K^+ - Na^+ -насоса клеточных мембран, активирует аденилат- и гуанилатциклазу, гексо-, креатин-, фосфофрукто- и протеинкиназу, участвуя, таким образом, практически во всех обменных процессах организма, таких как окислительное фосфорилирование, изменение проницаемости плазматических мембран за счет регуляции работы калиевых и кальциевых каналов, поддержание устойчивости митохондрий, нуклеиновых кислот и рибосомальных комплексов, сосудистого тонуса, нормального функционирования центральной и периферической нервной системы, нервно-мышечной проводимости и сократимости миокарда;
- магний оказывает выраженное ингибиторное действие на образование тромба.

Цинк

Потребность в цинке составляет 10-15 мг, беременным и кор-

млящим требуется на 5 мг больше. Источники — продукты животного происхождения (мясо, печень, почки, яйца, молоко), много цинка в морских продуктах; практически не содержится в огурцах и фруктах.

Биологическая роль:

- цинку принадлежит важная роль в процессах биосинтеза белка;
- входит в состав ферментов (алкогольдегидрогеназа, РНК-полимераза);
- необходим для активации более двухсот различных процессов.

Марганец

Потребность в марганце точно не установлена. Содержание этого элемента в продуктах питания достаточно для удовлетворения потребностей организма. Много марганца в печени и почках. Содержание в крови составляет 0,03-0,05 мкмоль/л.

Биологическая роль

Марганец необходим:

- для развития скелета;
- в реакциях иммунитета;
- в кроветворении;
- в репродуктивной функции;
- в активации многих ферментативных процессов (реакциях гликолиза, цикла Кребса);
- как антиоксидант;
- для гликозилирования белков.

Медь

Источники — мясо, морские продукты, грецкие орехи. Не содержат медь молочные продукты. Суточная потребность 2,5-5 мг.

Содержание в крови составляет 11-24 мкмоль/л. Наибольшее количество меди в крови находится в белке церулоплазмине, который синтезируется в печени.

Биологическая роль:

- входит в состав оксидаз (аскорбатоксидаза, цитохромоксидаза);
- участвует в процессах окислительного фосфорилирования, метаболизме жирных кислот;

- необходима для развития соединительной ткани (синтезе коллагена, эластина), кровеносных сосудов;
- обладает антиоксидантным действием;
- необходима для кроветворения. Поэтому, если ребенок долго находится на грудном вскармливании, у него может развиться анемия.

Селен

Селен — один из микроэлементов, особенно важный для функционирования сердца, почек, печени.

Источники селена: растения (зерновые культуры, лук, чеснок), грибы, рыба и другие. Суточная потребность от 40 до 400 мкг. Потребление менее 11 мкг в сутки может привести к патологии. В организме человека содержится 3-20 мг.

Биологическая роль селена:

- Необходим для работы глутатионпероксидазы, которая замедляет перекисные процессы.
- Регулирует метаболизм витаминов А и Е, замедляя их распад и, тем самым, снижая потребность в них. Вместе с витамином Е участвует в процессах тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.
- Необходим для работы оксидаз, обладающих смешанной микросомальной функцией.

При дефиците селена в организме наблюдается усиление перекисного окисления липидов и развитие дистрофических процессов в клетках, создаются благоприятные условия для развития таких заболеваний, как миокардиодистрофия, атеросклероз, стенокардия, инфаркт миокарда. Эти заболевания чаще наблюдаются в географических районах с низким содержанием селена в питьевой воде и почве и поддерживаются дефицитом природных антиоксидантов (токоферолов, витаминов С, А, РР, К и лимонной кислоты), серусодержащих аминокислот.

Железо

Железо — необходимо для нормального функционирования любых биологических систем. В организме человека содержится 4-4,5 г железа. Весь пул железа можно разделить на клеточное и внеклеточное. Запасной формой железа является белок ферритин, транспортной — трансферрин.

Биологическая роль:

- участвует в процессах тканевого дыхания — входит в состав цитохромов;
- входит в состав гема гемоглобина и миоглобина, каталазы и пероксидазы;
- принимает участие в процессах митоза, клеточного и неспецифического иммунитета, в процессах биосинтеза коллагена и ДНК;
- обладает антиоксидантным действием.

Содержание железа в плазме здорового человека составляет 12,5-30,4 мкмоль/л.

Рекомендуемая литература

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., Биологическая химия, 1990, стр. 449-452, 475-478.
2. Строев Е.А., Биологическая химия, 1986, стр. 386-387, 394-395, 404.
3. Николаев А.Я., Биологическая химия, 1989, стр. 358-365.
4. Лекции.

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие №1

1. Тема: Водно-минеральный обмен.

2. Форма учебного процесса: лабораторно-практическое занятие.

3. Актуальность: Вода в организме имеет большое значение. Длительное отсутствие поступления воды в организм вызывает смерть. То же самое можно сказать и о минеральных веществах. Поэтому знания о роли воды и минеральных веществ являются обязательными в плане подготовки врача.

4. Цель общая:

- 4.1.1. Изучить функции воды, регуляцию водного обмена.
- 4.1.2. Изучить функции минеральных веществ и регуляцию минерального обмена.
- 4.1.3. Научиться определять содержание кальция и фосфора, активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови.
- 4.2. Конкретные цели:

Знать:

1. Источники воды. Содержание воды в зависимости от возраста.
2. Функции воды.
3. Регуляция водного обмена вазопрессином.
4. Функции минеральных веществ.
5. Регуляцию уровня натрия, калия, хлора и кальция гормонами.

Вопросы для самостоятельной подготовки к занятию

Исходный уровень знаний

1. Ферменты.
2. Обмен углеводов, жиров и белков.
3. Понятие об осмотическом давлении.

По новой теме

1. Функции воды.
2. Баланс воды в организме.
3. Роль антидиуретического гормона в регуляции водного обмена.
4. Функции минеральных веществ, роль отдельных ионов в организме.
5. Роль коры надпочечников в регуляции минерального обмена, механизм действия альдостерона.
6. Значение гормонов предсердий в регуляции минерального обмена.
7. Функции Ca^{2+} в организме, регуляция его обмена.
8. Функции фосфора, регуляция его уровня в плазме.
9. Значение отдельных микроэлементов.

Учебно-исследовательская работа студентов на занятии

1. Прodelать лабораторную работу «Определение содержания кальция, фосфора и активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови».
2. Сделать выводы по результатам проведенных опытов.
3. Подготовиться к защите лабораторной работы (ориентировочные вопросы и задачи приведены ниже).

Лабораторная работа

1. Определение кальция в сыворотке крови

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Пипетки на 0,1 мл, 1 мл и 5 мл.

3. КФК.
4. Кюветы на 0,5 см.

Реактивы:

1. Мурексидглицериновый реактив.
2. Дистиллированная вода.
3. Сыворотка крови.

Принцип метода. Кальций образует с мурексидом в щелочной среде окрашенный комплекс, концентрацию которого определяют колориметрически.

Ход работы. В пробирку вносят 0,3 мл воды, 0,1 мл сыворотки и 3 мл мурексидглицеринового реактива. Через 5 мин пробу колориметрируют в кювете толщиной 0,5 см при синем светофильтре (490 нм) против контроля, который готовят так же, как опытную пробу, внося в него вместо сыворотки 0,1 мл воды. Расчет содержания кальция проводят по калибровочному графику.

Нормальное содержания кальция в сыворотке крови у детей — 2,74-3,24 ммоль/л, у взрослых — 2,24-2,64 ммоль/л

✓ 2. **Определение содержания кальция по реакции с комплексом Арсеназо-III в сыворотке крови**

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Пипетки на 0,1 мл и 5 мл.
 3. КФК.
 4. Кюветы на 0,5 см.

Реактивы:

1. Рабочий реактив.
2. Стандартный раствор кальция (2,5 ммоль/л).
3. Сыворотка крови.

Принцип метода. Ионы кальция в кислой среде образуют с комплексом Арсеназо-III комплекс синего цвета. Интенсивность окраски, пропорциональную содержанию кальция, определяют колориметрически.

Ход работы. В две пробирки вносят по 3 мл рабочего реактива (буферный раствор с Арсеназо-III). В одну пробирку (опытная проба) добавляют 0,1 мл сыворотки, во вторую пробирку (стандартная проба) — 0,1 мл стандартного раствора кальция. Пробы перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 2

минуты. Затем их колориметрируют при красном светофилтре в кювете толщиной 0,5 см против рабочего реактива.

Расчет содержания кальция проводят по формуле:

$$C(\text{ммоль/л}) = E_{\text{оп}} \times C_{\text{ст}} / E_{\text{ст}}$$

Нормальное содержания кальция в сыворотке крови у детей — 2,74-3,24 ммоль/л, у взрослых — 2,24-2,64 ммоль/л.

3. Определения неорганического фосфора в сыворотке крови

Оборудование:

1. Штатив с пробирками.
2. Пипетки на 1 мл и 5 мл.
3. КФК.
4. Кюветы на 1,0 см.
5. Центрифуга

Реактивы:

1. 10% раствор ТХУ.
2. 5% раствор молибдата аммония.
3. 1% раствор аскорбиновой кислоты.
4. Дистиллированная вода.
5. Сыворотка крови.

Принцип метода. При взаимодействии неорганических фосфатов с молибдатом аммония образуется фосфомолибдат аммония, который восстанавливается аскорбиновой кислотой в окислы синего цвета. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации фосфора.

Ход работы. Для осаждения белков в пробирку наливают 0,5 мл сыворотки, 2 мл дист. воды и 2,5 мл 10% ТХУ. Через 5 мин смесь центрифугируют 10 мин при 3000 об/мин. К 3 мл центрифугата добавляют 0,5 мл 5% раствора молибдата аммония и 0,5 мл 1% раствора аскорбиновой кислоты. Пробу оставляют на 20 мин при комнатной температуре, затем колориметрируют при красном светофилтре в кювете толщиной 1 см против воды. Концентрацию фосфора определяют по калибровочному графику.

Норма содержания фосфора в сыворотке крови у детей — 1,29-2,26 ммоль/л, у взрослых — 0,64-1,29 ммоль/л.

Диагностическое значение определения кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови.

Гипокальциемия может быть при некоторых заболеваниях

почек, особенно хронических; при гипофункции паращитовидной железы; у детей чаще всего встречается при рахите.

Гиперкальциемия бывает физиологическая и патологическая. Физиологическая может быть у новорожденных после четвертого дня жизни, у недоношенных детей, при избытке поступления кальция с пищей (алиментарная). Патологическая гиперкальциемия наблюдается при гиперфункции паращитовидной железы, гипервитаминозе Д, акромегалии, лейкозах, перитонитах, желтухе, аддисоновой болезни и гангрене.

Гипофосфатемия наблюдается при гиперпаратиреозе, гиперинсулинизме, остеомалации, Д-авитаминозном рахите, гипофосфатаземии.

Гиперфосфатемия наблюдается при гипопаратиреозе, акромегалии, гипервитаминозе Д, костных заболеваниях, заболеваниях почек, желтой атрофии печени, а также в периоды роста и при молочной диете.

Обмен кальция тесно связан с обменом фосфора. Изучение фосфорно-кальциевого обмена особенно важно у детей для своевременного выявления рахита и других нарушений формирования скелета. *Гипокальциемия*, вызванная недостаточностью витамина Д, сопровождается еще более выраженным снижением концентрации фосфора и повышением активности щелочной фосфатазы сыворотки.

4. Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови по гидролизу 4-нитрофенилфосфата

Оборудование:

1. Штатив с пробирками.
2. Пипетки на 0,1 мл и 5 мл.
3. КФК.
4. Кюветы на 0,5 см.

Реактивы:

1. 20% раствор HCl.
2. Буфер pH 10,5.
3. Субстрат (4-нитрофенилфосфат).
4. Раствор ингибитора.
5. Дистиллированная вода.
6. Сыворотка крови.

Принцип метода. Щелочная фосфатаза в буферном растворе расщепляет 4-нитрофенилфосфат на 4-нитрофенол и ортофос-

фат. Мерой активности фермента является количество освобожденного 4-нитрофенола, которое определяется колориметрически в щелочной среде.

Ход работы. В 2 пробирки наливают реактивы по схеме (см. таблицу). После добавления раствора ингибитора измеряют оптическую плотность опытной пробы (E_1) против контроля при фиолетовом светофильтре в кювете толщиной 0,5 см. Затем в обе кюветы добавляют по 1 капле 20% раствора HCl и снова измеряют оптическую плотность (E_2) пробы против контроля.

Реактивы (мл)	Опытная проба	Контроль
Раствор буфера pH 10,5	0,2	0,2
Сыворотка	0,02	—
Дистиллированная вода	—	0,02
Обе пробирки прогревают 3 мин при 30°C		
Раствор субстрата (4-нитрофенилфосфат)	0,05	0,05
Обе пробирки инкубируют 15 мин при 30°C		
Раствор ингибитора	2,0	2,0

Для расчета активности щелочной фосфатазы определяют разность оптических плотностей ($E_1 - E_2$) и с помощью калибровочного графика определяют соответствующую этой разности активность фермента. Активность выражают в международных единицах (Е/л), которые означают количество микромолей 4-нитрофенола, освобожденных 1 л сыворотки за 1 мин.

Норма активности щелочной фосфатазы у новорожденных — 50 -110 Е/л, у детей до 15 лет — 89 -180 Е/л, у взрослых — 38 — 85 Е/л.

5. Определение активности щелочной фосфатазы по фосфору.

- Оборудование:
1. Штатив с пробирками.
 2. Пипетки на 1 мл и 5 мл.
 3. КФК.
 4. Кюветы на 1,0 см.

- Реактивы:
1. Глицерофосфатный буфер pH 8,6.
 2. 10% ТХУ.
 3. 5% раствор молибдата аммония.
 4. 1% раствор аскорбиновой кислоты.
 3. Сыворотка крови.

Принцип метода. Фосфатаза крови расщепляет β -глицерофосфат натрия с освобождением неорганического фосфора. Мерой активности фермента служит количество освободившегося фосфора.

Ход работы. В пробирку с 2,5 мл глицерофосфатного буфера pH 8,6 добавляют 0,5 мл сыворотки и помещают ее в термостат при 37°C на 30 мин (опытная проба). В конце инкубации готовят контрольную пробу, в которой смешивают 2,5 мл буфера и 0,5 мл сыворотки. Затем в обе пробирки добавляют по 3 мл 10% раствора ТХУ и центрифугируют 5 мин при 3000 об/мин. Центрифугат осторожно сливают в чистые пробирки и добавляют к нему по 1 мл 5% раствора молибдата аммония и 1мл 1% раствора аскорбиновой кислоты. Через 15 мин колориметрируют опытную пробу против контроля при красном светофильтре в кювете толщиной 1 см.

Количество неорганического фосфора определяют по калибровочному графику.

Активность фосфатазы выражают в мг неорганического фосфора, образующегося под действием фермента в 100 мл сыворотки (единицы Боданского).

Для этого используют формулу: $A = C \times 200$, где А — активность фосфатазы в единицах Боданского, С — концентрация фосфора, определенная по графику, 200 — коэффициент пересчета на 100 мл сыворотки.

Норма активности щелочной фосфатазы у детей — 5-15 единиц, у взрослых — 2-5 единиц.

Диагностическое значение определения активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови

Увеличение активности щелочной фосфатазы является одним из признаков рахита, причем степень гиперфосфатаземии зависит от тяжести заболевания. Значительное увеличение активности щелочной фосфатазы наблюдается при остеомаляции,

при деформирующей остеодистрофии и при первичном гиперпаратиреозе. При механических желтухах активность фермента превышает нормальное значение в 5-10 раз; умеренная гиперфосфатаземия является одним из ранних признаков метастазов злокачественных новообразований. Резкая гиперфосфатаземия наблюдается при злокачественных костных новообразованиях остеобластического типа, но отсутствует при доброкачественных опухолях и новообразованиях остеолитического типа.

Проверка качества усвоенных знаний (конечный уровень)

а) вопросы к защите лабораторной работы

1. На чем основано определение содержания кальция в сыворотке крови?
2. Зачем нужно определять содержание кальция в крови?
3. Почему диапазон колебаний концентрации кальция в крови очень мал?
4. Каково содержание кальция в крови при рахите?
5. Как изменится содержание кальция в крови при снижении секреции паратгормона?
6. Какие функции в организме выполняет фосфор?
7. Принцип метода определения концентрации фосфора в сыворотке крови.
8. Как регулируется содержание фосфора в организме?
9. Что такое щелочная фосфатаза?
10. Принцип метода определения щелочной фосфатазы.
11. Каково диагностическое значение определения щелочной фосфатазы?

б) ситуационные задачи

1. У ребенка, недавно оперированного по поводу зоба, уровень Ca^{2+} в крови — 1,25 ммоль/л, судороги. В чем вероятная причина снижения уровня Ca^{2+} в крови и появления судорог?
2. В клинику поступил ребенок с гипертонией и отеками. Содержание Na^+ в крови — 170 ммоль/л, K^+ — 2 ммоль/л. За сутки выделяется натрия 0,5 г, калия — 4 г. Назовите причины данных симптомов и вероятные методы лечения.
3. О недостаточности каких гормонов может свидетельствовать обнаружение у больного устойчивого повышения экскреции ионов натрия и хлора?

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Тесты

1. Вода в организме выполняет следующие функции, кроме:

- а) участвует в формировании внутриклеточных структур;
- б) является средой для большинства реакций;
- ✓ в) выполняет энергетическую функцию;
- г) является непосредственным участником некоторых реакций;
- д) выводит продукты обмена;
- е) участвует в терморегуляции.

2. Эндогенная вода — это:

- а) вода, поступающая с пищей;
- ✓ б) вода, образующаяся в дыхательной цепи;
- в) вода, входящая в состав третичной структуры;
- г) вода, находящаяся в крови.

3. За сутки с мочой выделяется:

- ✓ а) 0,5 — 1,0 л воды;
- б) 6,0 — 8,0 л;
- в) 1,5 — 3,0 л.

4. Выработка антидиуретического гормона повышается при:

- а) повышении осмотического давления крови;
- б) снижении осмотического давления крови;
- ✓ в) сухоедении;
- г) употреблении большого количества питьевой воды;
- д) употреблении жирной пищи.

5. Ионы Na^+ выполняют следующие функции, кроме:

- а) регуляция осмотического давления;
- б) участие в процессах возбуждения;
- в) участие в поддержании кислотно-основного равновесия;
- ✓ г) являются основными внутриклеточными катионами;
- д) повышает эффекты норадреналина.

6. Ионы K^+ выполняют следующие функции, кроме:

- а) являются основными внутриклеточными катионами;
- ✓ б) являются основными внеклеточными катионами;
- в) участвуют в процессах возбуждения;

- г) необходимы для усвоения глюкозы;
- д) участвуют в поддержании кислотно-основного равновесия;
- е) регулируют работу клубочковой зоны коры надпочечников.

7. Ионы Cl^- выполняют следующие функции, кроме:

- а) участвуют в регуляции осмотического давления;
- б) активируют некоторые ферменты;
- в) являются основными внеклеточными анионами;
- ✓ г) являются основными внутриклеточными анионами.

8. Повышение выработки альдостерона происходит при:

- а) повышении концентрации калия в крови;
- ✓ б) снижении концентрации Na^+ в крови;
- в) повышении осмотического давления;
- г) снижении концентрации ангиотензина.

9. При некоторых инфекциях у детей происходит резкое поражение клубочковой зоны коры надпочечников, следствием которого является:

- ✓ а) снижение уровня альдостерона;
- ✗ б) потеря Na^+ и Cl^- из кровяного русла;
- в) резкое обезвоживание;
- г) резкое падение кровяного давления;
- ✗ д) резкое снижение концентрации K^+ в крови.

10. Ионы Ca^{2+} выполняют следующие функции:

- ✓ а) участвуют в свертывании крови;
- ✓ б) участвуют в минерализации костей;
- ✓ в) участвуют в мышечном сокращении;
- г) участвуют в расслаблении гладкой мускулатуры;
- д) регулируют кислотно-основное равновесие.

11. Недостаточное поступление Ca^{2+} с пищей вызывает:

- ✓ а) активацию синтеза паратгормона;
- б) активацию синтеза тиреокальцитонина;
- ✓ в) мобилизацию Ca^{2+} из кости;
- г) повышение минерализации костей;
- ✓ д) остеопороз.

12. Гиперпаратиреоз сопровождается:

- ✓ а) повышением уровня Ca^{2+} в крови;
- б) снижением уровня Ca^{2+} в крови;
- ✓ в) остеопорозом;

- ✓ г) отложением Ca^{2+} в мягких тканях;
- д) гиперфосфатемией.

13. Причинами гипопаратиреоза являются:

- ✓ а) гипопаратиреоз;
- б) гиперпаратиреоз;
- в) недостаток витамина Д;
- ✓ г) гиперпаратиреоз;
- ✗ д) гипопаратиреоз;
- е) заболевания ЖКТ;
- ж) нарушение выделения желчи;
- ✓ з) передозировка витамина Д.

14. Причинами гиперпаратиреоза являются:

- ✓ а) гипопаратиреоз;
- б) гиперпаратиреоз;
- в) недостаток витамина Д;
- ✓ г) гиперпаратиреоз;
- д) гипопаратиреоз;
- е) заболевания ЖКТ;
- ж) нарушение выделения желчи;
- ✓ з) передозировка витамина Д.

15. Причинами гиперфосфатемии являются:

- а) гиперпаратиреоз;
- б) остеопороз;
- в) рахит;
- ✓ г) гипопаратиреоз;
- ✓ д) гипервитаминоз Д.

16. Причинами гипопаратиреоза являются:

- ✓ а) гиперпаратиреоз;
- б) остеопороз;
- в) рахит;
- г) гипопаратиреоз;
- ✓ д) гипервитаминоз Д.

17. Причинами самопроизвольных переломов костей являются:

- а) повышение секреции паратгормона;
- б) повышение секреции кальцитонина;
- в) гипервитаминоз Д;
- г) опухоль паращитовидной железы;
- д) нарушение всасывания витамина Д в кишечнике.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
-------------------	---

ГЛАВА 1. ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРАКТИКУМ

Раздел 1. Значение биохимических анализов в медицине	4
Раздел 2. Общие сведения	
Объект биохимических исследований	4
Выражение результатов биохимических исследований	5
Физико-химические методы в биохимии	6
Раздел 3. Лабораторно-практические занятия	
Занятие № 1	10
Занятие № 2	12

ГЛАВА 2. ФЕРМЕНТЫ

Раздел 1. Значение изучаемой темы	18
Раздел 2. Сведения о ферментах	
Общие сведения	18
Механизм действия ферментов	19
Свойства ферментов	20
Определение активности фермента	21
Изоферменты	22
Регуляция активности ферментов	22
Ингибирование	23
Регуляция ферментативных цепей	24
Классификация ферментов	24
Использование ферментов в медицине	24
Раздел 3. Лабораторно-практические занятия	
Занятие № 1	25
Занятие № 2	29
Раздел 4. Контроль усвоения знаний	
Контрольные вопросы	32
Тесты	34

ГЛАВА 3. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН

Раздел 1. Значение изучаемой темы	39
--	----

Раздел 2. Сведения об энергетическом обмене

Общие сведения	39
Этапы катаболизма	40
Окислительное декарбоксилирование пирувата ...	40
Цикл Кребса	41
Дыхательная цепь	43
Механизм окислительного фосфорилирования	45
Сопряжение и разобщение в дыхательной цепи ...	46
Регуляция дыхательной цепи	46
Блокаторы дыхательной цепи	46
Нефосфорилирующее (свободное) окисление	47
Тканевые и возрастные особенности окислительных процессов	47

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1	47
Занятие № 2	53

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы	56
Тесты	57

ГЛАВА 4. УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН

Раздел 1. Значение изучаемой темы	69
Раздел 2. Сведения об углеводном обмене	
Функции углеводов	69
Переваривание и всасывание углеводов	69
Роль печени в обмене углеводов	70
Образование активной формы глюкозы и значение этой реакции	70
Синтез и распад гликогена	71
Гликолиз. Значение. Регуляция	71
Глюконеогенез	72
Пентозофосфатный путь (ПФП)	74
Глюкоза крови	75
Патологии углеводного обмена	75
Раздел 3. Лабораторно-практические занятия	
Занятие № 1	77
Занятие № 2	82
Занятие № 3	90

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы	94
Тесты	95

ГЛАВА 5. ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН

Раздел 1. Значение изучаемой темы

110

Раздел 2. Сведения о липидном обмене

Функции липидов	110
Переваривание жира	111
Хиломикроны и пути их использования	113
Липолиз	114
Липогенез	114
Обмен глицерина	115
Окисление жирных кислот	115
Синтез жирных кислот	116
Пути образования и использования ацетил-KoA	116
Кетонные тела и их функции	117
Обмен холестерина	117
Роль холестерина в организме	118
Липопротеиды	118
Атеросклероз	119
Ожирение	120
Липидозы	121

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1	122
Занятие № 2	126
Занятие № 3	130

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы	135
Тесты	137

ГЛАВА 6. БЕЛКОВЫЙ ОБМЕН

Раздел 1. Значение изучаемой темы

148

Раздел 2. Сведения об белковом обмене

Функции белков	148
Переваривание белков	149
Роль HCl	150
Регуляция выработки пищеварительных соков	151

Источники аминокислот	151
Пути использования аминокислот	151
Декарбоксилирование аминокислот	152
Дезаминирование аминокислот	153
Переаминирование аминокислот	153

Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты	154
Восстановительное аминирование	154
Источники аммиака и пути его обезвреживания	154
Синтез мочевины	155
Обмен ароматических аминокислот	156
Патологии обмена ароматических аминокислот	156
Синтез креатина	157

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1	158
Занятие № 2	165
Занятие № 3	170

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы	176
Тесты	178

ГЛАВА 7. АЗОТИСТЫЙ ОБМЕН

Раздел 1. Значение изучаемой темы

193

Раздел 2. Сведения об азотистом обмене

Переваривание нуклеопротеидов	193
Обмен нуклеотидов	193
Строение гемоглобина	196
Распад гемоглобина	196
Нарушения пигментного обмена	198
Биосинтез гемоглобина	200
Белки плазмы крови	200

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1	204
Занятие № 2	208
Занятие № 3	210

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы	217
Тесты	219

ГЛАВА 8. ВИТАМИНЫ

Раздел 1. Значение изучаемой темы 225

Раздел 2. Сведения о витаминах

Введение	225
Классификация витаминов	227
Суточная потребность	227
Различия между водо- и жирорастворимыми витаминами	227
Основные функции витаминов	228
Функции отдельных витаминов	228

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие №1	232
------------------	-----

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Тесты	237
-------------	-----

ГЛАВА 9. БИОХИМИЯ РЕГУЛЯЦИЙ

Раздел 1. Значение изучаемой темы 246

Раздел 2. Сведения о биохимии регуляций

Введение в биохимию регуляций	247
Механизмы клеточной ауторегуляции	247
Классификация межклеточных регуляторов	247
Механизмы действия межклеточных регуляторов	248
Механизм действия гормонов через цАМФ	249
Функции цАМФ	250
Механизм действия гормонов через Ca^{2+}	250
Механизм регуляции эндокринных желез через гипоталамус-гипофиз	251
Белково-пептидные гормоны	251
Соматотропный гормон	251
Глюкагон	252
Инсулин	253
Йодтиронины	255
Катехоламины	257
Стероидные гормоны	259
Гормоны — производные полиненасыщенных жирных кислот	260

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1	262
Занятие № 2	265
Занятие № 3	268

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Контрольные вопросы	271
Тесты	272

ГЛАВА 10. ВОДНО-МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН

Раздел 1. Значение изучаемой темы 284

Раздел 2. Сведения о водно-минеральном обмене

Значение воды	284
Водный баланс	285
Регуляция воды антидиуретическим гормоном ...	286
Минеральные вещества	286
Натрий	287
Калий	287
Хлор	288
Регуляция минерального обмена альдостероном	288
Регуляция минерального обмена гормонами предсердий	289
Кальций	289
Фосфор	291
Магний	292
Цинк	292
Марганец	293
Медь	293
Селен	294
Железо	294

Раздел 3. Лабораторно-практические занятия

Занятие № 1	295
-------------------	-----

Раздел 4. Контроль усвоения знаний

Тесты	303
-------------	-----