

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**РУКОВОДСТВО
К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ДЛЯ СТУДЕНТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО
ФАКУЛЬТЕТА
(ЗАОЧНАЯ ФОРМА ОБУЧЕНИЯ)**



Минск БГМУ 2013

УДК 577.1 (076.5)(075.8)

ББК 24я73

P85

Рекомендовано Научно-методическим советом университета
в качестве практикума 29.05.2013 г., протокол № 9

Авторы: д-р мед. наук, проф. А. Д. Таганович; канд. мед. наук, доц. Ж. А. Рутковская; канд. мед. наук, доц. Т. В. Василькова; канд. хим. наук, доц. Н. Н. Ковганко; канд. мед. наук, доц. И. Л. Котович; асс. Принькова Т.Ю.; канд. биол. наук, доц. А. В. Колб; канд. мед. наук, доц. Е. А. Девина

Рецензенты: д-р мед. наук, проф. В. К. Кухта; канд. мед. наук, доц. О. Н. Ринейская

Руководство к практическим занятиям по биологической химии для студентов фармацевтического факультета (заочная форма обучения) / А. Д. Таганович [и др.]. – Минск : БГМУ, 2013. – 71 с.

ISBN 978-985-528-811-5.

По каждой теме даны: цель занятия, вопросы для обсуждения, тестовые задания для самоконтроля знаний с ответами и тестовые задания различной степени сложности для самостоятельной работы, литература для подготовки. Для приобретения студентами навыков самостоятельного биохимического анализа руководство содержит описание лабораторных работ и протоколы их выполнения. При описании лабораторных работ кратко излагается практическое использование данного метода в медицинской и фармацевтической практике.

Предназначено для студентов 2-го – 3-го курса фармацевтического факультета заочной формы обучения, изучающих, в соответствии с программой, биологическую химию.

УДК 577.1 (076.5)(075.8)

ББК 28.072 я73

ISBN 978-985-528-710-1

© Оформление. Белорусский государственный
медицинский университет, 2013

1. Тема занятия. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ. ФЕРМЕНТЫ.

Цель занятия: Усвоить закономерности построения полипептидной цепи и принципы анализа состава белков и пептидов на основе общих и специфических физико-химических свойств аминокислот. Используя знания о строении и физико-химических свойствах белков, усвоить методы их разделения и очистки. Освоить общие принципы определения содержания белка в биологических жидкостях. Изучить особенности строения и функционирования ферментов как биологических катализаторов. Научиться применять знания о свойствах ферментов и механизмах регуляции их активности при изучении метаболизма органов и систем, а также для понимания механизмов действия лекарственных препаратов.

Вопросы для обсуждения

1. Аминокислоты как структурные компоненты белков и пептидов. Свойства пептидной связи. Использование формул протеиногенных аминокислот и их номенклатуры для составления полипептидных последовательностей.

2. Классификация и уровни структурной организации белков, связи, стабилизирующие первичную, вторичную, надвторичную, третичную и четвертичную структуры белковой молекулы. Конформационные изменения при функционировании белков. Взаимодействие белков с лигандами.

3. Общие физико-химические свойства белков (вязкость растворов, незначительная диффузия, оптическая активность, подвижность в электрическом поле, поглощение УФ-лучей, растворимость в воде). Факторы устойчивости белковых растворов (заряд белка, гидратная оболочка, молекулярная масса, форма молекулы) и их происхождение. Изоэлектрическое состояние. Осаждение белков.

4. Методы выделения и очистки белков: диализ, ультрафильтрация, хроматография (адсорбционная, распределительная, ионообменная, аффинная, гель-хроматография); электрофорез (на бумаге, в полиакриламидном геле с использованием DDS-Na, изоэлектрофокусирование); ультрацентрифугирование. Использование блот-анализа для идентификации белков.

5. Белки и аминокислоты как лекарственные препараты.

6. Классификация и номенклатура ферментов. Единицы измерения активности ферментов.

7. Строение ферментов. Кофакторы ферментов и их роль в катализе.

8. Механизм ферментативного катализа. Теория промежуточных фермент-субстратных комплексов, типы связей.

9. Кинетика ферментативных реакций. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, pH, температуры (молекулярный механизм, графическая зависимость). Константа Михаэлиса (K_m), использование K_m для прогнозирования протекания биохимических реакций.

10. Специфичность действия ферментов. Виды специфичности.

11. Механизмы регуляции скорости ферментативных процессов: регуляция количества ферментов (синтез, распад), активности ферментов, изменение количества субстрата, наличие изоферментов, объединение ферментов в полиферментные комплексы, компартментация процессов.

12. Ключевые ферменты, характеристика.

13. Регуляция активности ферментов: ковалентная модификация, активаторы и ингибиторы (примеры). Виды ингибирования (необратимое и обратимое, изостерическое и аллостерическое), характеристика, примеры.

14. Применение ферментов в медицине.

Литература для подготовки

1. *Кухта В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович. М. – Мн., Бином, Асар, 2008. С 7-87.
2. *Березов Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 13–64, 92–132.
3. Биологическая химия: учебное пособие /А.Д. Таганович [и др.]. – Мн., Беларусь, 2013. С. 4-28.
4. *Конспект лекций.*

Задания для самоконтроля знаний

Задание 1. Подберите к каждому белку соответствующую функцию, выбрав необходимые из представленного списка справа:

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

Задание 2. Подберите верные пары утверждений:

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

Задание 3. Выберите правильные утверждения:

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

Задание 4 В клинической лаборатории для целей парентерального питания смесь аминокислот (Гли, Ала, Глу, Лиз, Арг, Сер, Асп) разделяют методом электрофореза при рН = 6,0. Какие аминокислоты будут двигаться к аноду, какие — к катоду, а какие останутся на месте?

Задание 5. Какие из приведенных методов позволяют разделить смесь белков по молекулярной массе?

- | | |
|--------------------------------|-------------------------------|
| А. Адсорбционная хроматография | Г. Гель-фильтрация |
| Б. Электрофорез на бумаге | Д. Ионообменная хроматография |
| В. Ультрацентрифугирование | |

Задание 6. Подберите к пронумерованному методу разделения и очистки белков соответствующие принципы, на которых основан данный метод:

- | | |
|---|--|
| 1. Ультрацентрифугирование | А. Метод основан на различной сорбционной способности веществ |
| 2. Гель-фильтрация | Б. Метод основан на различиях в молекулярной массе белков |
| 3. Электрофорез в полиакриламидном геле | В. Метод основан на комплементарном присоединении белка к иммобилизованному лиганду |
| 4. Адсорбционная хроматография | Г. В основе метода лежит использование различий в молекулярной массе и заряде белков |
| 5. Аффинная хроматография | |

Задание 7. Методом ИК-спектроскопии изучали природу связей между субстратом и связывающим участком активного центра фермента. В чем заключается взаимодействие фермента и субстрата по Д. Кошленду?

- А. Изменяется только конформация активного центра фермента
 Б. В молекуле фермента изменяется конформация аллостерического центра под действием субстрата
 В. При образовании фермент-субстратного комплекса в ферменте и субстрате одинаково изменяется напряжение химических связей
 Г. Активный центр подходит к субстрату, как ключ к замку

Задание 8. К какому классу относится фермент креатинкиназа?

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

Задание 9. При исследовании влияния салицилатов на активность фермента глутаматдегидрогеназы установлено, что с увеличением концентрации субстрата (глутамата) от 1,5 до 8 ммоль степень ингибирования не изменяется. Удалив ингибитор, активность фермента можно восстановить. Определите тип ингибирования:

- А. Необратимое
 Б. Обратимое конкурентное
 В. Обратимое неконкурентное

Ответы к заданиям для самоконтроля знаний

Задание 1: 1-А, 2-Д, 3-Е, 4-В, 5-В, 6-А, 7-Ж, 8-В; Задание 2: 1-В,Г, 2-А, 3-Г, 4-Б; Задание 3: В,Г; Задание 4: к катоду – лиз, арг, к аноду – глу, асп, на старте – гли, ала, сер; Задание 5: В,Г; Задание 6: 1-Б, 2-Б, 3-Б, 4-А, 5-В; Задание 7: В; Задание 8: Б; Задание 9: В.

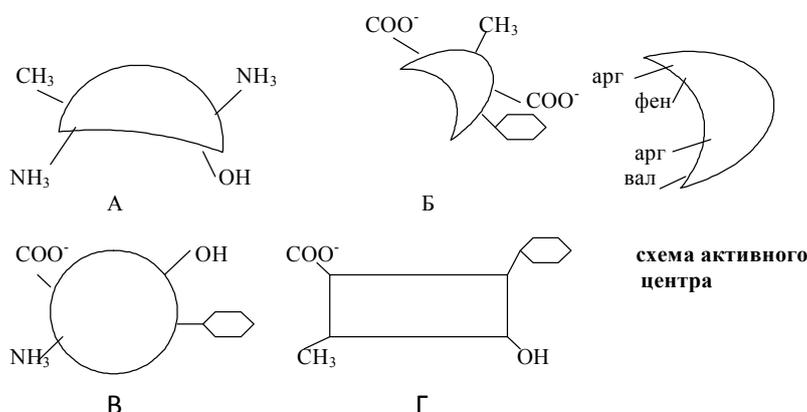
Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Подберите к каждому уровню структурной организации белка соответствующее понятие, обозначенное буквой:

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

Е. Полипептидная цепь, которая стабилизируется пептидными связями между остатками аминокислот

Задание 2. В активный центр белка входят два остатка аргинина, один остаток фенилаланина и один остаток валина:



Ответьте на вопросы:

А. Какой из перечисленных лигандов (а, б, в, г) с наибольшей вероятностью будет взаимодействовать с активным центром данного белка и почему?

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

Задание 3. В какой последовательности выйдут при вымывании их растворителем из колонки, заполненной активированным углем, следующие пигменты, если степень их полярности возрастает в ряду: каротин < ксантофиллы < α-хлорофилл < β-хлорофилл?

А. Ксантофиллы, каротин, α-хлорофилл, β-хлорофилл

Б. Каротин, ксантофиллы, α-хлорофилл, β-хлорофилл

В. β-хлорофилл, α-хлорофилл, ксантофиллы, каротин

Г. Каротин, ксантофиллы, β-хлорофилл, α-хлорофилл

Задание 4. Подберите к пронумерованному методу разделения и очистки белков их соответствующие свойства, на которых основан данный метод.

А. Различия по величине заряда

1. Гель-фильтрация

Б. Различия по молекулярной массе

2. Электрофорез в полиакриламидном геле

В. Различия по величине заряда и молекулярной массе

3. Аффинная хроматография

4. Ионообменная хроматография

Г. Различия по другим свойствам

Задание 5. В качестве зонда при проведении блот-анализа (вестерн-блот) используют:

А. Меченые антитела к искомому белку

Б. Пероксидазу хрена

В. Казеин молока

Г. Альбумины

Задание 6. Гомологичные белки выполняют одну и ту же функцию, но различаются по первичной структуре (например, локализованы в разных органах или появляются при патологических состояниях). Например: HbA (содержит Глу) → HbS (содержит Вал) при серповидноклеточной анемии. Объясните, на чем основан метод, который позволяет обнаружить отличия в первичной структуре таких белков.

Задание 7. Подберите для каждого из пронумерованных методов его назначение:

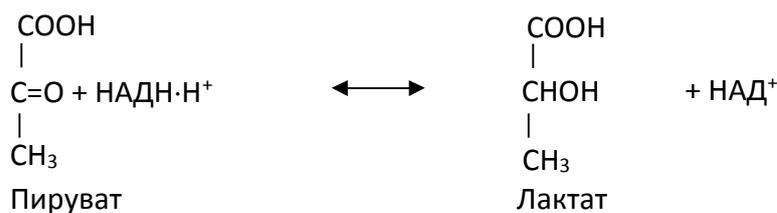
- | | |
|--|--|
| 1. Реакция с динитрофторбензолом (ДНФБ) | А. Для определения аминокислотного состава |
| 2. Ферментная обработка карбоксипептидазой | Б. Для определения аминокислотной последовательности |
| 3. Реакция с дансилхлоридом | В. Для определения N-концевой аминокислоты |
| 4. Реакция с гидразином | Г. Для определения C-концевой аминокислоты |
| 5. Реакция с фенилизотиоцианатом (ФИТЦ) | |
| 6. Ионообменная хроматография | |
| 7. Масс-спектроскопия | |

Задание 8. Пептид ферментативного гидролизата, не передвигающийся в электрическом поле при электрофорезе, дансилировали и выделили дансилпроизводное Лей. Кислотный гидролиз пептида дал три пептида следующего состава: 1) Цис, Асп; 2) Тир, Лей; 3) Тир, Асп, Арг. Напишите формулу пептида, назовите пептид. В какой среде проводили электрофорез исходного гидролизата белка? Почему Вы так решили?

Задание 9. Напишите схематически структуру коферментов: НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, ФМН.

Задание 10. Рассчитайте удельную активность ацетилхолинэстеразы, если 5 мг фермента за 30 с расщепляют 200 мкмоль ацетилхолина.

Задание 11. Температура 37°C, рН 7,5 — оптимальные условия для действия лактатдегидрогеназы (ЛДГ), катализирующей превращение:



Объясните причины уменьшения активности фермента:

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

Задание 12. Для лечения некоторых инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями, применяются сульфаниламидные препараты, блокирующие синтез фолиевой кислоты — фактора роста бактерий. Выбрать механизм действия сульфаниламидных препаратов:

- Являются ферментами
- Участвуют в окислительно-восстановительных процессах
- Являются аллостерическими ингибиторами
- Конкурируют с п-аминобензойной кислотой за место связывания с активным центром фермента, синтезирующего фолиевую кислоту
- Ингибируют всасывание фолиевой кислоты

Лабораторная работа

Работа 1. Цветные реакции на белки и аминокислоты

Цветные реакции дают возможность обнаружить присутствие белка в растворах и биологических жидкостях. Эти реакции применяют как для качественного, так и для количественного определения белка и содержащихся в нем аминокислот. Некоторые реакции присущи не только белкам, но и другим веществам, например, фенол, подобно тирозину,

дает розово-красное окрашивание с реактивом Миллона, поэтому недостаточно проведения одной какой-либо реакции для установления наличия белка в исследуемом растворе.

Существует два типа цветных реакций:

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

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

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

Работа 2. *Определение общего белка биуретовым методом*

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

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

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

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



Ответ:

Клинико-диагностическое значение. Нормальное содержание общего белка в сыворотке крови (нормопротеинемия) у взрослых — 65–85 г/л, у детей до 6 лет — 56–85 г/л. Изменения концентрации общего белка могут быть как абсолютные, так и относительные.

Относительные изменения связаны с изменением объема крови (плазмы). Так, относительная гипопроотеинемия (понижение концентрации белка в крови) развивается при гидремии, т. е. нагрузке водой, водном отравлении, а относительная гиперпротеинемия (повышение концентрации белка в крови) возникает при сгущении крови из-за значительных потерь жидкости при поносах, неукротимой рвоте, усиленном потоотделении, холере, ожогах. Абсолютная гипопроотеинемия наблюдается при нефритах, злокачественных опухолях, алиментарной дистрофии. Абсолютная гиперпротеинемия встречается сравнительно редко, например, при миеломной болезни, хронических полиартритах.

Вывод:

Работа 3. *Изучение влияния различных факторов на скорость ферментативных реакций*

1) Определение активности амилазы слюны и ее термолабильности

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

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

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

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

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

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

Результаты опыта запишите в рабочую тетрадь в виде таблицы:

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

Вывод:

2) Влияние pH среды на активность ферментов

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

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

Результаты опыта запишите в рабочую тетрадь в виде таблицы:

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

Вывод:

3) Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы слюны

Ход работы. В три пробирки наливают по 1 мл слюны, разведенной в 40 раз. В 1-ю пробирку добавляют 2 капли воды, во 2-ю — 2 капли 1%-ного раствора NaCl, в 3-ю — 2 капли 1%-ного раствора CuSO₄. После этого во все пробирки добавляют по 5 капель 1%-ного раствора крахмала и оставляют их при комнатной температуре на 2 мин. Затем во все пробирки добавляют по 1 капле раствора Люголя, перемешивают, наблюдают окраску и определяют, в какой пробирке действует активатор или ингибитор.

Результаты опыта запишите в рабочую тетрадь в виде таблицы:

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

Вывод:

Подпись преподавателя

2. Тема занятия. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ И БИОЭНЕРГЕТИКУ. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ И ЛИПИДОВ.

Цель занятия: закрепить знания о метаболизме, анаболических и катаболических путях. Изучить общие центральные пути метаболизма - окислительное декарбоксилирование пирувата и цикл трикарбоновых кислот. Получить представление о путях утилизации кислорода клетками, об адениловой системе и механизмах синтеза АТФ. Научиться применять эти знания при последующем изучении клеточного метаболизма. Закрепить знания о структуре углеводов животных тканей и углеводов пищи. Сформировать представление об особенностях переваривания углеводов, транспорта глюкозы в клетки. Изучить пути обмена глюкозы в организме, их значение и взаимосвязь. Закрепить знания о биохимических превращениях углерода темновой фазы фотосинтеза. Усвоить механизмы поддержания физиологических концентраций глюкозы в крови. Овладеть глюкозооксидазным методом количественного определения глюкозы. Закрепить знания по химии липидов. Усвоить молекулярные механизмы переваривания и всасывания липидов пищи, ресинтеза липидов, транспорта липидов по кровеносному руслу для последующего анализа биохимических аспектов нарушений этих процессов. Изучить обмен жирных кислот, холестерина, мобилизацию липидов в организме, кетогенез. Сформировать представление об эйкозаноидах и их функциях. Приобрести навыки определения кетонных тел.

Вопросы для обсуждения

1. Понятие о метаболизме. Катаболизм и анаболизм, различия и взаимосвязь между ними. Линейные и циклические метаболические пути. Реакции дегидрирования как основной способ окисления веществ в организме. Пиридинзависимые и флавинзависимые дегидрогеназы. Схематическое строение коферментов НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, ФМН.
2. Окислительное декарбоксилирование ПВК. Пируватдегидрогеназный комплекс (ферменты, коферменты, схема).
3. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) как центральный метаболический путь. Локализация ферментов ЦТК, схема процесса, ферменты, коферменты, регуляция процесса. Функции ЦТК.
4. Понятие о макроэргах. Адениловая система клетки, ее участие в энергетическом обмене. Способы синтеза АТФ: субстратное, окислительное и фотосинтетическое фосфорилирование.
5. Окислительное фосфорилирование, этапы, ферменты, строение компонентов дыхательной цепи, комплексы ферментов, коферменты, механизм функционирования. Схема ферментов тканевого дыхания, пункты фосфорилирования, механизм формирования электрохимического потенциала. Н⁺-АТФ-синтаза. Сопряжение процессов дыхания и фосфорилирования (хемиосмотическая теория Митчелла). Коэффициент фосфорилирования (P/O). Регуляция работы дыхательной цепи и Н⁺-АТФ-синтазы.
6. Причины развития гипонергетических состояний. Разобщение окислительного фосфорилирования (механизм, разобщители). Ингибиторы переноса электронов и окислительного фосфорилирования.

7. Фотофосфорилирование — основной путь образования АТФ в зеленых растениях. Фотосинтез: сущность процесса, общая схема переноса электронов. Фотосистемы I и II. Сходство и различия систем окислительного фосфорилирования и фотофосфорилирования.

8. Углеводы. Функции углеводов. Углеводы пищи, потребность. Роль клетчатки, пектинов и лактулозы в питании человека. Углеводы как лекарственные средства. Переваривание углеводов. Нарушения переваривания и их молекулярные механизмы, подходы к диагностике и лечению. Всасывание продуктов переваривания углеводов. Транспорт глюкозы в клетки различных органов и тканей.

9. Пути обмена глюкозы в организме. Синтез и распад гликогена, назначение, последовательность реакций, механизмы регуляции. Агликогенозы и гликогенозы.

10. Гликолиз, биологическая роль, субклеточная локализация, этапы, реакции, ферменты, энергетический выход и механизм образования АТФ. Регуляция гликолиза, ключевые ферменты. Метаболизм пирувата. Спиртовое брожение. Утилизация лактата клетками.

11. Аэробное окисление глюкозы до CO_2 и H_2O (этапы, сопряжение с процессом окислительного фосфорилирования, энергетика).

12. Глюконеогенез (назначение, субстраты, ключевые реакции и ферменты, регуляция, энергозатраты). Цикл Кори.

13. Вторичные пути обмена глюкозы. Пентозофосфатный путь (субклеточная локализация, этапы, ключевые ферменты, метаболиты, биологическая роль). Глюкуроновый путь (локализация, пути метаболизма глюкуроновой кислоты, биологическая роль).

14. Фотосинтез. Темновая стадия фотосинтеза (суммарное уравнение). Карбоксилирование рибулозо-1,5-бисфосфата, последовательность реакций до образования 3-ФГА. Синтез углеводов в цикле Кальвина.

15. Регуляция содержания глюкозы в крови. Механизмы регуляторного действия гормонов (инсулин, адреналин, глюкагон, глюкокортикоиды и др.).

16. Общая характеристика и классификация липидов. Характеристика групп липидов (строение, биологическая роль). Переваривание липидов пищи, этапы. Эмульгирование и гидролиз липидов, всасывание продуктов переваривания липидов (молекулярные механизмы). Представление о нарушениях переваривания и всасывания липидов. Желчные кислоты (первичные, конъюгированные, вторичные), участие в усвоении липидов пищи. Печеночно-кишечная рециркуляция желчных кислот. Представление о желчнокаменной болезни.

17. Пути ресинтеза триацилглицеролов и глицерофосфолипидов в клетках. Транспортные формы липидов в крови (место образования, строение и метаболизм хиломикрон, ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП, ЛПВП). Классификация дислипидопроteinемий по Фредриксону.

18. Холестерол, биологическая роль, пищевые источники. Выведение холестерина из организма. Механизмы поддержания баланса холестерина в клетках (роль ЛПНП, ЛПВП и ЛХАТ, холестеролэстеразы и АХАТ). Биосинтез холестерина (локализация процесса, субстраты, этапы, химизм I этапа, регуляция).

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

20. Мобилизация липидов из жировой ткани (схема, цАМФ-зависимый механизм активации гормон-чувствительной липазы, гормональная регуляция). Роль депонирования и мобилизации жиров.

21. β -Окисление как центральный путь катаболизма жирных кислот (субклеточная локализация процесса, химизм окисления, энергетический баланс). β -Окисление жирных кислот с нечетным количеством углеродных атомов, ненасыщенных жирных кислот. Особенности β -окисления в пероксисомах.

22. Биосинтез жирных кислот (субклеточная локализация, химизм, регуляция, особенности строения ацилсинтазы, роль малик-фермента). Синтез ненасыщенных жирных кислот (субстраты, ферментные системы). Высоконепредельные жирные кислоты как незаменимые факторы питания (представители, биологическая роль). Метаболизм арахидоновой кислоты. Биосинтез эйкозаноидов (простагландины, простациклины, лейкотриены, тромбоксаны) и их биологическая роль.

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

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

Литература для подготовки

1. *Кухта В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович. М. – Мн., Бином, Асар, 2008. С. 131-186, 189-249, 254-260.

2. *Березов Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М.: Медицина, 1990. С. 199-202, 204-252, 255-317.

3. *Биологическая химия: учебное пособие / А.Д. Таганович [и др.].* – Мн., Беларусь, 2013. С. 33-69, 70-78, 80-102.

4. *Конспект лекций.*

Задания для самоконтроля знаний

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

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

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

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

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

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

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

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

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

А. Цианокобаламин

Г. Никотинамид

Б. Тиамин

Д. Рибофлавин

В. Пантотеновая кислота

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

А. Цитрат

Г. Малат

Ж. Сукцинат

Б. α -Кетоглутарат

Д. Аконитат

З. Фумарат

В. Сукцинил-КоА

Е. Изоцитрат

Задание 3. Подберите ферменты к соответствующим ключевым реакциям ЦТК:

1. Оксалоацетат + Ацетил-КоА + $H_2O \rightarrow$ Цитрат + КоА-SH
2. Изоцитрат + НАД⁺ \rightarrow α -Кетоглутарат + НАДН·Н⁺ + CO₂
3. α -Кетоглутарат + КоА-SH + НАД⁺ \rightarrow Сукцинил-КоА + НАДН·Н⁺ + CO₂

- А. Изоцитратдегидрогеназа
- Б. Цитратсинтаза
- В. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс ферментов

Задание 4. К каждому ферменту подберите соответствующий кофермент:

- | | |
|---|---------------------|
| 1. Пируватдегидрогеназный комплекс ферментов | А. ФМН
Б. ФАД |
| 2. Сукцинатдегидрогеназа | В. НАД ⁺ |
| 3. Изоцитратдегидрогеназа | Г. ТПФ |
| 4. Малатдегидрогеназа | Д. КоА-SH |
| 5. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс ферментов | Е. Липоевая кислота |

Для усвоения темы необходимо уяснить, что:

1. Окисление водорода в цепи тканевого дыхания является основным источником энергии для реакции синтеза АТФ.
2. Процесс образования воды в организме и вне его совершается с выделением 210–230 кДж/моль энергии.
3. В организме синтез H₂O происходит при участии дыхательной цепи.
4. Часть энергии этого процесса ($\approx 40\%$) используется для реакции синтеза АТФ.
5. Реакция окисления водорода субстратов в дыхательной цепи в организме сопряжена с процессом окислительного фосфорилирования (синтез АТФ из АДФ и H₃PO₄).
6. Коэффициент фосфорилирования (P/O) — это число молей АТФ, образованных в расчете на один атом кислорода, использованный в процессе тканевого дыхания.
7. Оксигеназный путь утилизации кислорода осуществляется в мембранах эндоплазматического ретикулума и способствует включению кислорода в субстрат. Таким способом происходит обезвреживание многих токсичных веществ (микросомное окисление).

Задание 5. Напишите схему дыхательной цепи для субстратов пиридинзависимых дегидрогеназ (пируват, изоцитрат, α -кетоглутарат, малат, глутамат, β -гидроксиацилКоА, β -гидроксибутират). Укажите коэффициент фосфорилирования.

Задание 6. Напишите схему дыхательной цепи для субстратов, дегидрируемых с участием ФАД. Укажите коэффициент фосфорилирования. Сколько АТФ будет синтезировано при окислении 5 моль сукцината?

Задание 7. Какое (какие) из приведенных утверждений верно? Последовательность расположения компонентов дыхательной цепи определяется:

- А. Химической структурой переносчика электронов
- Б. Величиной редокс-потенциала (E_0')
- В. Величиной протонного электрохимического потенциала ($\Delta\mu H^+$)
- Г. Является произвольной

Задание 8. Подберите к каждому комплексу дыхательной цепи соответствующий небелковый компонент:

1. НАДН·Н⁺: убихинон-оксидоредуктаза

- | | |
|---|--------------------------|
| 2. Сукцинатдегидрогеназа | А. ФАД |
| 3. Убихинол: цитохром с-оксидоредуктаза | Б. Гем |
| 4. Цитохромоксидаза | В. ФМН |
| | Г. НАД ⁺ |
| | Д. Гем, Cu ²⁺ |

Задание 9. Подберите к этим же ферментативным комплексам (см. задание 8) соответствующие ингибиторы:

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

Задание 10. Расположите в правильной последовательности переносчиков в цепи переноса электронов, ведущей от Р 700 к НАДФ⁺, где Р 700 — реакционный центр фотосистемы I.

- | | |
|----------------|---|
| А. Ферредоксин | В. Ферредоксин:НАДФ ⁺ -редуктаза |
| Б. Р 700 | Г. Р 430 (Филлохинон) |

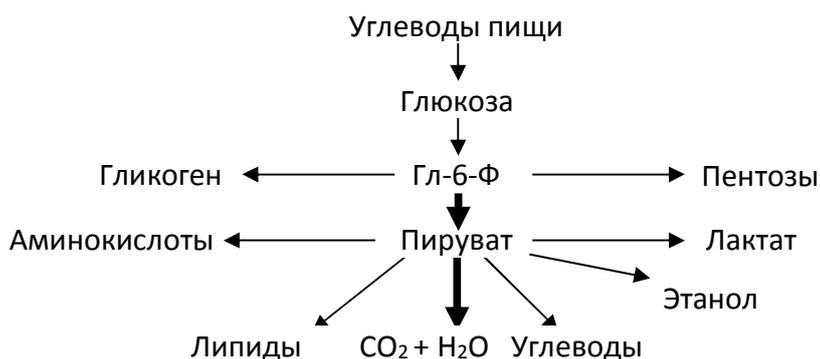
Задание 11. Расположите последовательно переносчиков электронов в цепи, по которой электроны движутся от возбужденного реакционного центра фотосистемы II (Р 680) к фотосистеме I.

- | | | |
|------------------------------|-----------------|-----------------|
| А. Пластохиноны | В. Цитохром f | Д. Р 680 |
| Б. Цитохром b ₅₆₃ | Г. Z (Феофитин) | Е. Пластоцианин |

Задание 12. Знать основные этапы переваривания углеводов в пищеварительном тракте. Усвоить, что в процессе переваривания углеводов происходит ферментативный гидролиз гликозидных связей. Запомнить названия ферментов, принимающих участие в переваривании, и место их образования.

Задание 13. Вспомнить способы всасывания моносахаридов из кишечника в кровь. Знать, что первое химическое превращение глюкозы в клетках — ее фосфорилирование, катализируемое гексокиназой (глюкокиназой). Уметь написать эту реакцию.

13.1. Рассмотреть схему превращения глюкозо-6-фосфата в клетке:



Задание 14. Запомнить:

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

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

14.2. Запомнить реакции синтеза и распада гликогена, катализируемые регуляторными ферментами.

14.3. Объяснить молекулярный механизм перехода гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы из неактивного состояния в активное.

Задание 15. Подберите к названию болезни (типу гликогеноза) молекулярную причину болезни:

- | | |
|----------------------|---|
| 1. Болезнь Гирке | А. Недостаточность фосфорилазы печени |
| 2. Болезнь Мак-Ардла | Б. Дефицит глюкозо-6-фосфатазы |
| 3. Болезнь Помпе | В. Недостаточность фосфорилазы мышц |
| 4. Болезнь Герса | Г. Дефицит кислой α -1,4-глюкозидазы |

Задание 16. Усвойте, что гликолиз — ряд реакций, в результате которых глюкоза распадается на две молекулы пирувата. Уметь писать эти реакции.

16.1. Обратите внимание на то, что:

– в гликолизе можно выделить несколько этапов:

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

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

– большинство реакций гликолиза, за исключением трех реакций, обратимы;

– все промежуточные продукты находятся в фосфорилированном состоянии;

– источником фосфата при гликолизе является АТФ;

– образование АТФ при гликолизе идет путем субстратного фосфорилирования;

– при анаэробном гликолизе окисление НАДН \cdot H⁺, восстановленного в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции, происходит при превращении пирувата в лактат;

– при аэробном гликолизе окисление гликолитического НАДН \cdot H⁺ осуществляется кислородом с участием дыхательной цепи;

– энергетический баланс анаэробного гликолиза — 2 АТФ.

Задание 17. Укажите ключевые ферменты гликолиза:

- | | |
|----------------------|--------------------------------------|
| А. Гексокиназа | Д. Фосфогексоизомераза |
| Б. Фосфофруктокиназа | Е. Лактатдегидрогеназа |
| В. Пируваткиназа | Ж. Фосфоглицераткиназа |
| Г. Альдолаза А | З. Глицеральдегидфосфатдегидрогеназа |

Задание 18. Запомните, что аэробное окисление глюкозы — это процесс полного окисления глюкозы до CO₂ и H₂O. Он включает реакции аэробного гликолиза и последующее окисление пирувата в общем пути катаболизма.

18.1. Напишите реакции, катализируемые отдельными ферментами пируватдегидрогеназного комплекса.

18.2. Определите количество молей АТФ, синтезируемое за счет дегидрирования одного моля ПВК. Для этого:

а) напишите суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования;

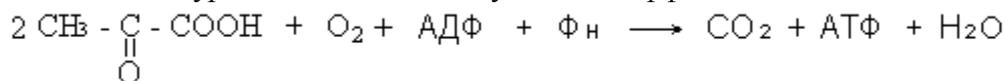
б) покажите путь от восстановленного кофермента до кислорода;

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

Задание 19. Вспомните последовательность реакций, составляющих цитратный цикл, название ферментов, катализирующих эти реакции, и их коферменты.

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

19.2. Подставьте в уравнение соответствующие коэффициенты:



Для этого:

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

б) найдите на схеме реакции дегидрирования и выпишите названия первичных доноров водорода;

в) найдите на схеме компоненты дыхательной цепи, на которые поступает водород от первичных доноров;

г) расставьте коэффициенты в уравнении.

Задание 20. Выучите:

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

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

в) основные субстраты и пути их включения в глюконеогенез.

Задание 21. Выбрать ключевые реакции глюконеогенеза:

А. Фруктозо-6-фосфат \leftrightarrow Глюкозо-6-фосфат

Б. Фруктозо-1,6-дифосфат + H₂O \rightarrow Фруктозо-6-фосфат + H₃PO₄

В. 2-Фосфоглицерат \leftrightarrow 3-Фосфоглицерат

Г. Пируват + CO₂ + АТФ \rightarrow Оксалоацетат + АДФ + H₃PO₄

Д. Глюкозо-6-фосфат + H₂O \rightarrow Глюкоза + H₃PO₄

Е. Оксалоацетат + ГТФ \rightarrow Фосфоенолпируват + CO₂ + ГДФ

Ж. Фосфодиоксиацетон \leftrightarrow Глицеральдегид-3-фосфат

Задание 22. Образовавшийся в скелетных мышцах лактат наряду с диффузией в кровь окисляется в самих миоцитах в аэробных условиях. Укажите этапы окисления лактата и энергетический баланс этого процесса.

Задание 23. Рассмотрите реакции, составляющие окислительный этап пентозофосфатного пути (ПФП). Обратите внимание на то, что в двух реакциях дегидрирования в качестве кофермента используется НАДФ⁺.

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

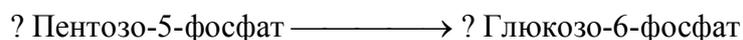
23.2. Запомните:

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

б) наиболее активно ПФП протекает в печени, жировой ткани, лактирующей молочной железе, коре надпочечников, половых железах, эритроцитах, макрофагах.

Умейте объяснить значение ПФП для этих клеток и тканей.

23.3. Обратите внимание на то, что окислительный путь образования пентоз и путь превращения пентоз в гексозы (неокислительный) вместе составляют циклический процесс — пентозофосфатный цикл, который функционирует, по-видимому, только в жировой ткани. Выучите суммарное уравнение пентозофосфатного цикла. Напишите стехиометрические коэффициенты для превращения:



Задание 24. Ознакомьтесь со схемой глюкуронового пути обмена углеводов. Отметьте для себя главные промежуточные метаболиты этого пути.

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

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

А. Обеспечивает потребности гепатоцитов в УДФ-глюкуроновой кислоте для реакций обезвреживания билирубина, стероидов, ксенобиотиков, в том числе лекарственных веществ.

Б. Метаболиты глюкуронового пути используются для синтеза протеогликанов основного вещества соединительной ткани.

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

Г. Дополнительный путь синтеза пентоз.

Д. Выполняет энергетическую функцию.

Е. Путь включения пищевого ксилита в метаболизм.

24.3. Разберитесь, в чем будет проявляться недостаточность фермента, превращающего L-ксилулозу в D-ксилулозу.

Задание 25. Заполните таблицу, обобщающую сведения о влиянии гормонов на обмен углеводов, выбирая правильные варианты ответов из приведенных ниже.

Гормональная регуляция концентрации глюкозы в крови

Название гормона	Место синтеза гормона	Химическая природа гормона	Ткани-мишени	Влияние на процессы обмена углеводов	Влияние на концентр. глюкозы в крови
Инсулин					
Адреналин					
Глюкагон					
Кортизол					

Эти гормоны синтезируются:

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

По химической природе представляют собой: белок; полипептид; производное тирозина; стероид.

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

Концентрация глюкозы в крови зависит от скорости следующих процессов: поступление глюкозы из кишечника в кровь; синтез гликогена; мобилизация гликогена; глюконеогенез; поступление глюкозы из крови в клетки.

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

25.2. Подберите соответствующие пары гормон — механизм действия:

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

В. Индукция синтеза ферментов на генетическом уровне

Задание 26. Напишите суммарное уравнение фотосинтеза. Умейте объяснить роль фотосинтеза для жизни на Земле.

Задание 27. Выберите правильный ответ.

Субстратами для фотосинтетического образования углеводов являются:

А. АДФ, H_2O , кванты света

В. АТФ, CO_2 , НАДФНН⁺

Б. НАДНН⁺, АТФ, H_2O

Г. CO_2 , АТФ, H_2O

Задание 28. Вспомните классификацию липидов и напишите формулы триацилглицеролов и глицерофосфолипидов. Запомните, что важное свойство некоторых липидов — амфифильность, т. е. способность взаимодействовать как с гидрофобными, так и с гидрофильными молекулами. Обратите внимание на то, что липиды выполняют разные функции в зависимости от их строения и свойств. Какие функции выполняют перечисленные ниже липиды?

А. Холестерол

Б. Триацилглицерол

В. Жирные кислоты

Г. Полиненасыщенные жирные кислоты

Д. Фосфолипиды

Е. Гликолипиды

1. Энергетическая

2. Структурная

3. Предшественник стероидных

гормонов, витамина D_3 , желчных кислот

4. Предшественники эйкозаноидов

5. Терморегуляция

Задание 29. Запомните этапы переваривания и всасывания пищевых жиров (эмульгирование, гидролиз, образование мицелл и всасывание в слизистую кишечника). Умейте назвать факторы, способствующие эмульгированию жиров, и механизм стабилизации эмульсии под действием солей желчных кислот, исходя из структуры этих соединений. Укажите, какая из перечисленных желчных кислот является наиболее сильным эмульгатором:

А. Холевая

Б. Хенодесоксихолевая

В. Гликохолевая

Г. Литохолевая

Д. Дезоксихолевая

29.1. Подберите место образования для вышеперечисленных желчных кислот:

1) печень

2) кишечник

3) поджелудочная железа

29.2. Изучите схему печеночно-кишечной рециркуляции желчных кислот и обратите внимание на то, что ежедневно с калом выделяется 0,5–1 г желчных кислот. Это единственный значимый путь выведения холестерина из организма.

Задание 30. Эмульгирование гидрофобных жиров — одно из условий эффективной работы панкреатической липазы. Напишите в общем виде реакцию поэтапного гидролиза ТАГ под действием этого фермента с учетом того, что панкреатическая липаза с большей скоростью расщепляет в жирах сложноэфирные связи в α -положении. Подчеркните основные конечные продукты переваривания жиров. Выберите правильный вариант ответа.

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

А. Смешанные мицеллы

Б. Липосомы

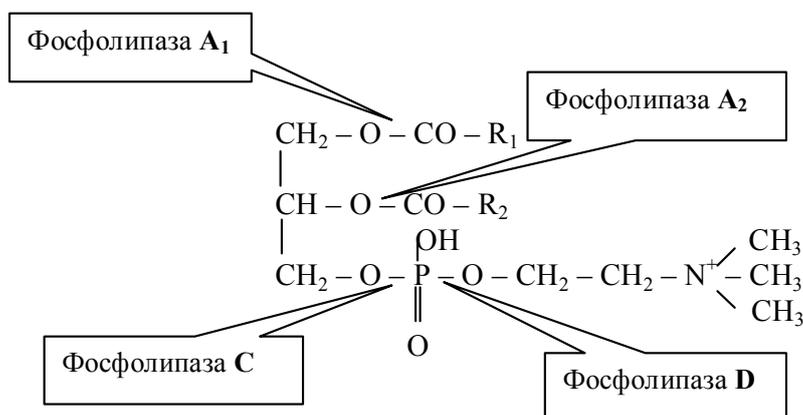
В. Секреторные гранулы

Г. Триацилглицеролы

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

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

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



Задание 31. Запомните, что в клетках слизистой оболочки кишечника (в энтероцитах) происходит ресинтез ТАГ и фосфолипидов из всосавшихся продуктов гидролиза. Выучите реакции ресинтеза липидов.

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

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

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

31.2. Выберите особенности, характеризующие транспорт экзогенных липидов:

- А. Хиломикроны поступают непосредственно в кровоток
- Б. Хиломикроны поступают в лимфу
- В. После гидролиза ТАГ в составе хиломикронов липопротеинлипазой, располагающейся на эндотелии сосудов, жирные кислоты поступают в клетки различных тканей

Г. Окончательное расщепление обломков хиломикронов на составные компоненты происходит в гепатоцитах

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

Задание 32. Вспомнить, что холестерол — структурный компонент биомембран всех тканей организма. Для синтеза различных биологически активных веществ в организме используется свободный холестерол, тогда как этерифицированная форма — резерв холестерола в клетке.

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

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

32.2. Назовите пути поступления, использования и выведения холестерола из организма.

Задание 33. Выучите и напишите последовательность реакций синтеза холестерола из ацетил-КоА до образования мевалоната, укажите ферменты.

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

Задание 34. Знать строение и роль различных липопротеинов в транспорте холестерола в организме, участие ЛПНП в переносе холестерола из кровотока в ткани и ЛПВП в переносе избытка холестерола из тканей в печень.

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

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

Задание 35. При интенсивной физической работе активируется мобилизация нейтральных жиров из депо.

35.1. Какой фермент осуществляет внутриклеточный липолиз?

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

35.2. Каким гормоном активируется этот фермент?

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

Задание 36. Научитесь рассчитывать энергетический выход β -окисления жирных кислот. Для этого нужно помнить, что:

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

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

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

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

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

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

* — 2 АТФ расходуется на активацию жирных кислот.

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

А. Напишите реакцию гидролиза этого соединения.

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

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

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

Д. Рассчитайте суммарный выход АТФ при полном окислении трипальмитоилглицерола.

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

А. При уменьшении синтеза малонил-КоА в цитозоле.

Б. При увеличении концентрации НАДН·Н⁺ в митохондриях.

В. При гипоксии.

Г. При наличии большого количества глюкозы.

Задание 37. 37.1. Напишите реакции первого витка синтеза пальмитиновой кислоты.

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

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

37.4. При каких условиях будет увеличиваться синтез жирных кислот?

А. При повышении концентрации глюкозы в крови после еды

Б. При снижении секреции инсулина

В. При увеличении секреции глюкагона

Г. При дефосфорилировании ацетил-КоА-карбоксилазы

Д. При избыточном поступлении жиров с пищей

Задание 38. 38.1. Укажите, какие функции регулируют перечисленные ниже эйкозаноиды:

1. Лейкотриены А. Сокращение гладких мышц, липолиз, секреция, проницаемость, электролитный баланс, свертывание крови

2. Простагландины Б. Хемотаксис, воспаление, аллергические реакции, сокращение гладкой мускулатуры бронхов и ЖКТ

3. Тромбоксаны В. Агрегация тромбоцитов, сужение сосудов и бронхов, регуляция уровня цАМФ в тромбоцитах

38.2. Известно, что аспирин необратимо ингибирует циклооксигеназу.

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

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

Задание 39. Изучить пути образования кетоновых тел в печени и их метаболизм. Обратите внимание на то, что ацетоацетат и β -гидроксибутират образуются в норме в небольших количествах, а ацетон — лишь при значительном накоплении кетоновых тел (голодание, сахарный диабет).

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

А. Печень

Б. Сердце

В. Мозг

Г. Скелетная мускулатура

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

Ответы к заданиям для самоконтроля знаний

1А; 2Б, Г, Е, Ж; 3 (1 – Б, 2 – А, 3 – В); 4 (1 – Б, В, Г, Д, Е; 2 – Б, 3 – В, 4 – В, 5 – Б, В, Г, Д, Е); 5 ($P/O = 2,5$); 6 ($P/O = 1,5$, синтезируется 7,5 моль АТФ); 7Б; 8 (1–В; 2–А; 3–Б; 4 – Д); 9 (1 – Д, Е; 2 – 3; 3 – Ж; 4 – А, Б, В, Г); 10Б, Г, А, В; 11Д, Г, А, Б, В, Е; 15 (1 – Б; 2 – В; 3 – Г; 4 – А); 17А, Б, В; 21Б, Г, Д, Е; 22 (15 или 14 АТФ); 24.2 (А, Б, В, Г, Е); 25.2 (1 — В; 2 — А; 3 — Б, В); 27В; 28(А – 2, 3; Б – 1, 5; В – 1; Г – 4; Д – 2; Е – 2); 29В; 29.1 (А – 1; Б – 1; В – 1; Г – 2; Д – 2); 30А; 30.1 (А, Б, В, Е, Ж); 31.Верно. 31.1 А 1) ТАГ; 2) эфиры холестерина. Б 1) фосфолипиды; 2) холестерол; 3) аполипопротеины (апо-В48); 31.2 (Б, В, Г); 32.1 (Б, В); 33.1 Да; 34.1 Г; 35.1 Б; 35.2 Б; 36.1. 336,5; 36.2 А; 37.3 34 молекулы глюкозы; 37.4. (А, Г); 38.1.(1 – Б; 2 – А; 3 – В); 39.1. Б, Г; 39.2. 20 АТФ.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. В цикле лимонной кислоты для расщепления ацетил-КоА используются восемь ферментов:

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

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

1.2. Для каждого из ферментов укажите, к какому из перечисленных ниже типов принадлежит катализируемая им реакция: конденсация, дегидратация, гидратация, декарбоксилирование, окислительно-восстановительная реакция, фосфорилирование на уровне субстрата, изомеризация.

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

Задание 2. Будет ли происходить накопление оксалоацетата, если к экстракту, содержащему субстраты, ферменты и коферменты ЦТК, добавить ацетил-КоА? Объясните Ваш ответ.

Задание 3. В клинику доставили пострадавших во время землетрясения, находившихся без пищи 10 дней. Исследования активности ферментов ЦТК показали резкое снижение скорости этого процесса. Какие последствия это имеет для организма?

А. Обезвоживание

Б. Снижение уровня АТФ

В. Снижение уровня глюкозы в крови

Г. Образование большого количества эндогенной воды

Задание 4. Какое (какие) из приведенных утверждений неверно согласно хемиосмотической теории Митчелла?

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

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

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

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

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

Задание 5. Какие из следующих утверждений характеризуют H^+ -АТФ-синтазу?

- А. V ферментный комплекс на внутренней мембране митохондрий
- Б. Ингибируется олигомицином
- В. Имеет протонные каналы
- Г. Может проявлять АТФ-азную активность
- Д. Переходит в рабочее состояние под влиянием движущихся через неё протонов
- Е. Ингибируется атрактилозидом

Задание 6. Процесс тканевого дыхания стимулируется при добавлении к суспензии митохондрий:

- А. АТФ
- Б. АДФ
- В. KCN
- Г. Барбитуратов
- Д. 2,4-Динитрофенола

Задание 7. Заполните таблицу сравнения окислительного и фотосинтетического фосфорилирования.

Признак сравнения	Фосфорилирование	
	Окислительное	Фотосинтетическое
Общее уравнение		
Локализация процесса		
Условия протекания		
Донор электронов		
Акцептор электронов		
Место образования АТФ		

Задание 8. Причинами гипоэнергетических состояний (нарушение синтеза АТФ) в митохондриях могут быть:

- А. Недостаток субстратов тканевого дыхания
- Б. Недостаток кислорода
- В. Избыток витаминов PP и B₂
- Г. Добавление к изолированным дышащим митохондриям олигомицина
- Д. Низкая концентрация АДФ в матриксе митохондрий
- Е. Разобщение с участием 2,4-динитрофенола

Задание 9. В клинику поступила пациентка с отравлением снотворными препаратами — производными барбитуровой кислоты. Какие соединения нужно ввести больной для восстановления тканевого дыхания на период выведения снотворного препарата из организма?

- А. Изоцитрат
- Б. Ацил-КоА
- В. Малат
- Г. Сукцинат
- Д. Пируват
- Е. α -Кетоглутарат

Задание 10. Студенты в лабораторной работе *in vitro* исследовали действие малоната на ряд ферментов цикла Кребса. Накопление какого метаболита они обнаружили?

- А. Малат
- Б. Исоцитрат
- В. Сукцинат
- Г. Сукцинил-КоА
- Д. α -Кетоглутарат
- Е. Цитрат

Задание 11. Сколько моль АТФ может синтезироваться при окислении 1 моль субстрата в указанных процессах?

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

Задание 12. У больного, страдающего энтероколитом, после приема молока появились диарея, колики, метеоризм. С недостатком какого фермента это связано?

- А. Амилазы
- Б. Лактазы
- Г. Трегалазы
- Ж. α -Декстриназы

Б. Сахаразы Г. Мальтазы Е. Изомальтазы

Задание 13. Часть поступившей в организм глюкозы откладывается в виде гликогена. Какой фермент участвует в его синтезе?

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

Задание 14. Глюкозо-6-фосфат — основная активная форма глюкозы. Какие ферменты участвуют в ее образовании?

- | | |
|----------------------------------|------------------------|
| А. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа | Г. Гликогенфосфорилаза |
| Б. Гексокиназа | Д. Глюкозо-6-фосфатаза |
| В. УДФ-глюкозопирофосфорилаза | Е. Глюкокиназа |

Задание 15. Укажите, в каких реакциях гликолиза используется, а в каких синтезируется АТФ:

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

Задание 16. Сколько молей АТФ может синтезироваться при окислении 1 моля субстрата в указанных реакциях:

- | | |
|--|--------------|
| 1. Пируват \rightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ | А. 2,5 моль |
| 2. Ацетил-КоА \rightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ | Б. 4 моль |
| 3. Пируват \rightarrow Ацетил-КоА | В. 10 моль |
| 4. Сукцинат \rightarrow Оксалоацетат | Г. 12,5 моль |

Задание 17. Выберите ключевые ферменты глюконеогенеза:

- | | |
|-----------------------------|-----------------------------------|
| А. Глюкокиназа | Д. Пируватдекарбоксилаза |
| Б. Пируваткарбоксилаза | Е. Лактатдегидрогеназа |
| В. Фруктозо-1,6-дифосфатаза | Ж. Фосфоенолпируваткарбоксикиназа |
| Г. Пируватдегидрогеназа | З. Глюкозо-6-фосфатаза |

Задание 18. В процессе синтеза глюкозы из пирувата затрачивается энергия. Сколько молей АТФ необходимо для этого метаболического пути?

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

Задание 19. Тиаминпирофосфат — необходимый кофермент для следующего фермента ПФП:

- | | |
|-------------------|----------------------------------|
| А. Эпимераза | Г. Транскетолаза |
| Б. Трансальдолаза | Д. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа |
| В. Изомераза | Е. 6-Фосфглюконатдегидрогеназа |

Задание 20. Применение некоторых лекарственных препаратов может вызвать гемолиз эритроцитов, снижение содержания гемоглобина в крови, желтуху (лекарственная гемолитическая анемия). Причиной является нарушение в эритроцитах реакции восстановления дисульфидной формы глутатиона в сульфгидрильную:



Недостаточная активность каких ферментов ПФП может быть причиной заболевания?

Задание 21. Помните, что суммарное уравнение цикла Кальвина имеет следующий вид:

6 Рибулозо-1,5-дифосфат + 6CO₂ + 12 НАДФН·Н⁺ + 18 АТФ →

6 Рибулозо-1,5-дифосфат + 12 НАДФ⁺ + 18 АТФ + 18 Н₃ РО₄ + Гексоза

3.1. Расставьте недостающие коэффициенты в следующих реакциях цикла Кальвина:

А. ? ГАФ → ? ДОАФ

Б. ? ГАФ + ? ДОАФ → ? Фруктозо-1,6-дифосфат → ? Фруктозо-6-фосфат

В. ? ГАФ + ? Фруктозо-6-фосфат → 2 Ксилулозо-5-фосфат + 2 Эритрозо-5-фосфат

Г. 2 ГАФ + 2 Седогептулозо-7-фосфат → ? Ксилулозо-5-фосфат + ? Рибозо-5-фосфат

Задание 22. Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) являются незаменимыми факторами питания и делятся на 2 группы — ω-3 и ω-6 — в зависимости от положения двойной связи от углеродного атома последней (метильной) группы. Подберите к каждой группе соответствующие полиненасыщенные жирные кислоты:

1. ПНЖК ω-3

А. Линолевая кислота (C_{18:2})

2. ПНЖК ω-6

Б. Альфа-линоленовая кислота (C_{18:3})

В. Эйкозапентаеновая кислота (C_{20:5})

Г. Докозагексаеновая кислота (C_{22:6})

Д. Арахидоновая кислота (C_{20:4})

Задание 23. Все перечисленные липиды относятся к глицерофосфолипидам, кроме:

А. Дипальмитоилфосфатидилхолина

Г. Фосфатидилсерина

Б. Фосфатидной кислоты

Д. Фосфатидилинозитола

В. Сфингомиелина

Задание 24. Пищевые жиры в пищеварительном тракте подвергаются ферментативному гидролизу. В каком отделе пищеварительного тракта происходит расщепление жиров у взрослых людей?

А. Ротовой полости

В. Желудке

Д. Пищевод

Б. Толстом кишечнике

Г. Тонком кишечнике

Задание 25. Больному с хроническим панкреатитом в курсе комплексной терапии рекомендован препарат желчи. Какие компоненты желчи участвуют в переваривании жиров?

А. Высшие жирные насыщенные кислоты

Г. Панкреатическая липаза

Б. Холестерол и его эфиры

Д. Диацилглицеролы

В. Соли желчных кислот

Е. Панкреатическая α-амилаза

Задание 26. Сыворотка крови больного, взятой утром натощак, имеет молочный вид. При анализе обнаружено высокое содержание ТАГ и хиломикрон. Наследственный дефект какого фермента приводит к хиломикронемии?

А. Тканевой гормон-чувствительной липазы

Г. Панкреатической липазы

Б. Холестеролэстеразы

Д. Фосфолипазы

В. Липопротеинлипазы

Задание 27. Какой из перечисленных ферментов высвобождает арахидоновую кислоту из мембранных фосфолипидов?

А. Фосфолипаза А₁

В. Панкреатическая липаза

Б. Фосфолипаза А₂

Г. Гормон-чувствительная липаза

Задание 28. У больного после курса лечения атеросклероза и строгого соблюдения диетологических рекомендаций в плазме крови лабораторно подтверждено повышение уровня антиатерогенных липопротеинов. Какие липопротеины являются антиатерогенными?

А. ЛПОНП

Б. ЛПНП

В. ЛПВП

Г. Хиломикроны

Задание 29. У людей, в рационе которых преобладает растительная пища и рыба, значительно снижен риск заболевания атеросклерозом. Какие вещества, входящие в состав этих продуктов, могут оказывать антиатерогенное действие? Их роль в обмене холестерина?

Задание 30. У пациента обнаружено повышение содержания кетоновых тел в крови. При каких состояниях организма наблюдается кетонемия?

- А. При длительной мышечной работе
- Б. При избытке углеводов в пище
- В. При отсутствии жиров в пище
- Г. При голодании
- Д. При сахарном диабете
- Е. При нарушении переваривания жиров
- Ж. При гиперпродукции гормонов-антагонистов инсулина

Задание 31. При обследовании подростка, страдающего ксантоматозом, выявлена семейная гиперхолестеролемиа. Концентрация каких липопротеинов резко повышена в крови при данной патологии?

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

Задание 32. Для ситуации, когда происходит депонирование липидов, характерно:

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

Задание 33. Какие положения правильны для ситуации, когда происходит мобилизация липидов?

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

Задание 34. Сравните особенности биосинтеза липидов (триацилглицеролов) в различных тканях, заполнив таблицу:

Ткань	Исходные субстраты синтеза	Форма транспорта липидов из органа
Слизистая оболочка тонкой кишки		
Печень		
Жировая ткань		

Задание 35.1. Один цикл β -окисления включает четыре последовательные реакции. Выберите правильную последовательность:

- А. Окисление, дегидратация, окисление, расщепление.
- Б. Восстановление, дегидрирование, восстановление, расщепление.
- В. Дегидрирование, гидратация, дегидрирование, расщепление.
- Г. Гидрирование, дегидратация, гидрирование, расщепление.
- Д. Восстановление, гидратация, дегидрирование, расщепление.

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

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

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

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

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

Расчет производят по формуле:

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

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

Нормальные величины концентрации глюкозы в плазме и сыворотке крови — 3,9–6,1 ммоль/л, в спинномозговой жидкости — 2,8–3,9 ммоль/л.

Ответ:

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

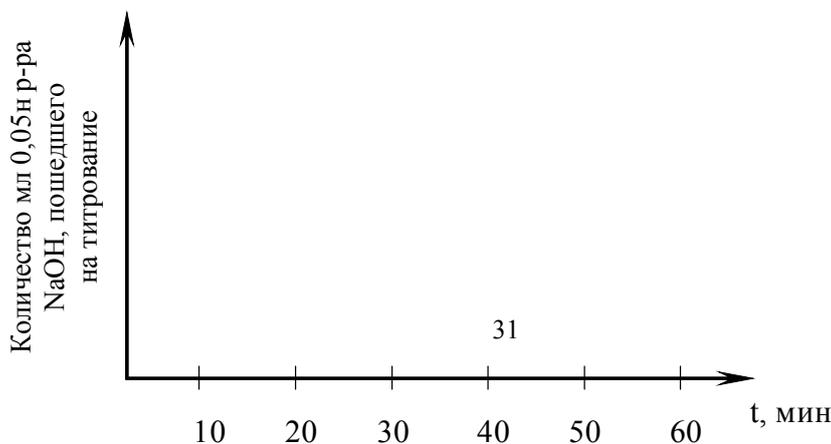
Снижение уровня глюкозы в крови (гипогликемия) встречается при поражении паренхимы печени, нарушении ферментативной активности при распаде гликогена, недостаточной функции щитовидной железы, надпочечников, гипофиза; передозировке инсулина при лечении сахарного диабета, нарушении всасывания углеводов,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

Вывод:

Работа 2. *Кинетика действия панкреатической липазы*

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

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



Ответ:

Вывод:

Работа 3. *Качественные реакции определения кетоновых тел в моче*

Порядок выполнения работы

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

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

Ответ:

2. Реакция Герхардта на ацетоуксусную кислоту. К 5 каплям мочи прибавляют по каплям 5%-ного раствор хлорного железа; при этом выпадает осадок фосфатов в форме $FePO_4$. При наличии ацетоуксусной кислоты от дальнейшего прибавления хлорного железа появляется вишнево-красное окрашивание. При стоянии окраска бледнеет вследствие самопроизвольного декарбоксилирования ацетоуксусной кислоты. При кипячении процесс протекает очень быстро.

Ответ:

Клинико-диагностическое значение. Кетоновые тела обнаруживаются в моче (кетонурия) при сахарном диабете, голодании, гиперпродукции гормонов-антагонистов инсулина.

Вывод:

Подпись преподавателя

3. Тема занятия. ОБМЕН ПРОСТЫХ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ.

Цель занятия: Сформировать представление об общей концепции обмена азота в организме, о белке как главном пищевом источнике азота и аминокислот. Получить представление о молекулярных основах переваривания белков в ЖКТ, особенностях действия различных протеаз и использовании их ингибиторов в клинической практике, всасывании аминокислот и транспорте их в клетки. Освоить методы клинического анализа желудочного сока. Усвоить общие пути обмена аминокислот. Получить представление о путях обмена безазотистого остатка аминокислот, о роли аминокислот в образовании важных биологически активных соединений. На примере определения активности аминотрансфераз в сыворотке крови показать значение использования индикаторных ферментов в диагностике и прогнозе заболеваний. Изучить процессы обезвреживания аммиака в организме и возможные механизмы развития гипераммониемии. Приобрести навыки количественного определения остаточного азота крови и мочевины в моче и усвоить диагностическую ценность этих показателей.

Вопросы для обсуждения

1. Азотистый баланс. Какие виды азотистого баланса имеют место в норме и при патологии?
2. Потребность в белках. Биологическая ценность белков.
3. Что такое протеолиз? Роль ограниченного протеолиза в организме.
4. Где происходит переваривание белков? Какие ферменты участвуют в этом процессе? Общая характеристика протеаз. Их субстратная специфичность и место действия.
5. Роль желудочного сока в переваривании белков. Механизмы образования соляной кислоты в желудке.
6. Всасывание аминокислот, транспорт аминокислот в клетки.
7. Процессы гниения белков в кишечнике. Обезвреживание продуктов гниения и ксенобиотиков.
8. Аминокислотный фонд клетки — его источники и использование.
9. Трансаминирование, аминотрансферазы, коферментная функция витамина В₆. Клинико-диагностическое значение определения активности аминотрансфераз сыворотки крови.
10. Пути дезаминирования аминокислот. Окислительное дезаминирование (ферменты, коферменты). Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты (химизм), значение глутаматдегидрогеназной реакции. Непрямое дезаминирование.
11. Пути использования безазотистого остатка аминокислот. Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Способы синтеза новых аминокислот.
12. Декарбоксилирование аминокислот, ферменты, кофермент. Биогенные амины (триптамин, серотонин, гистамин, γ -аминомасляная кислота), катехоламины (дофамин, норадреналин, адреналин). Реакции образования, биологическая роль, пути обезвреживания.
13. Пути связывания аммиака в клетках (восстановительное аминирование α -кетоглутарата, синтез глутамина и аспарагина, образование карбамоилфосфата). Транспортные формы аммиака.
14. Образование солей аммония в почках (источник аммиака, роль глутаминазы и глутаматдегидрогеназы, значение активирования глутаминазы почек при ацидозе).
15. Роль клеток печени в обезвреживании аммиака. Орнитиновый цикл мочевинообразования (схема цикла, субстраты, ферменты, энергетическое обеспечение, связь с лимоннокислым циклом, регуляция). Судьба мочевины. Гипераммониемия, причины.
16. Остаточный азот крови (основные компоненты и их относительное содержание). Принцип определения и клинико-диагностическое значение.
17. Обмен фенилаланина и тирозина. Нарушения обмена при фенилкетонурии, тирозинемии, алкаптонурии, альбинизме.

Литература для подготовки

1. *Кухта В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович. М. – Мн., Бинум, Асар, 2008. С. 261 – 301.
2. *Березов Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 318–368.
3. Биологическая химия: учебное пособие /А.Д. Таганович [и др.]. – Мн., Беларусь, 2013. С. 103-113..
4. *Конспект лекций.*

Задания для самоконтроля знаний

Задание 1.

1.1. Запомнить основные этапы переваривания белков:

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

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

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

1.4. Уметь объяснить причины появления в кровотоке фенола, индола, скатола, путресцина, кадаверина после переваривания белковой пищи в желудочно-кишечном тракте.

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

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

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

В. Образование продуктов, лишенных антигенной специфичности.

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

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

А. Сближение аминокислот, входящих в активный центр.

Б. Изменение вторичной структуры фермента.

В. Образование новых связей в молекуле фермента.

Г. Изменение первичной структуры.

Д. Изменение третичной структуры.

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

А. Наличие слизи, содержащей гетерополисахариды.

Б. Активация фермента только в полости (желудка, кишечника).

В. Наличие гликопротеинов на наружной поверхности мембран.

Г. Отсутствие субстратов.

Задание 4. У мужчины, в течение длительного времени злоупотреблявшего алкоголем, значительно повышен уровень аланинаминотрансферазы крови. Какие биохимические реакции катализирует данный фермент?

А. Переаминирование.

- Б. Окислительное дезаминирование.
- В. Синтез глутамата.
- Г. Декарбоксилирование.
- Д. Трансметилование.

Задание 5. У больного с инфекционным гепатитом установлено резкое увеличение активности глутаматдегидрогеназы в крови. Укажите витамин, который является коферментом данного энзима:

- А. Никотинамид.
- Б. Тиамин.
- В. Фолиевая кислота.
- Г. Пиридоксин.
- Д. Аскорбиновая кислота.

Задание 6. У больного после перенесенного инфаркта миокарда в течение 2-х суток значительно повышалась активность аспаратаминотрансферазы в крови. Укажите кофермент данного фермента:

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

Задание 7. После эпилептиформного припадка педиатром был осмотрен грудной ребенок, получающий искусственную пищу. У ребенка обнаружен также дерматит. При лабораторном обследовании установлено снижение аланин- и аспаратаминотрансферазной активности в крови. Недостатком какого кофермента обусловлено снижение скорости трансаминирования аминокислот?

- А. НАД⁺.
- Б. НАДФ⁺.
- В. ФАД.
- Г. Пиридоксальфосфата.
- Д. Тиаминпирофосфата.

Задание 8. Подобрать соответствующие пары вопрос — ответ:

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

Задание 9. Назовите ферменты, катализирующие следующие реакции:

1. Образование амида глутаминовой кислоты.
2. Восстановительное аминирование α -кетоглутарата.
3. Гидролиз амида глутаминовой кислоты.
4. Образование амида аспарагиновой кислоты.
5. Образование карбамоилфосфата.

Ответы к заданиям для самоконтроля знаний

Задание 1.5: – А, Б, В, Г; Задание 2 - Г; Задание 3 – А, Б, В; Задание 4 — А; Задание 5 — А; Задание 6 — Г; Задание 7 — Г; Задание 8 :А — 2, Б — 4, В — 1, Г — 3. Задание 9: 1. Глутаминсинтетаза. 2. Глутаматдегидрогеназа. 3. Глутаминаза. 4. Аспарагинсинтетаза. 5. Карбамоилфосфатсинтетаза.

Задания для самостоятельной работы

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

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

Задание 2. При гипоацидном гастрите снижение кислотности желудочного сока вызывает торможение частичного протеолиза молекулы пепсиногена. Изменения какого уровня структурной организации фермента имеют решающее значение при его активации?

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

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

- А. Ингибитор является структурным аналогом субстрата.
- Б. Степень ингибирования зависит от концентрации ингибитора.
- В. Структура ингибитора не похожа на структуру субстрата.
- Г. Степень ингибирования зависит от времени действия ингибитора.
- Д. Образование неактивного комплекса ингибитор-субстрат.

Задание 4. Центральная роль глутаминовой кислоты в промежуточном обмене аминокислот определяется тем, что глутаминовая кислота:

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

Задание 5. При декарбоксилировании каких аминокислот или их производных образуются следующие биогенные амины?

1. Триптамин.
2. Серотонин.
3. Гистамин.
4. ГАМК
5. Дофамин.

Задание 6. В клинику поступил больной с повторными рвотами, судорожными припадками, с потерей сознания, вызванным отравлением аммиаком. Почему при высокой концентрации NH_3 в крови наступает потеря сознания и смерть?

- А. Снижение концентрации глюкозы в крови.
- Б. Повышение содержания мочевины в крови.
- В. Повышение содержания ацетил-КоА в печени.
- Г. Снижение концентрации АТФ в клетках мозга.
- Д. Повышение содержания глюкозы в крови.

Задание 7. Подберите к каждой пронумерованной реакции обмена фенилаланина и тирозина соответствующий фермент:

- | | |
|--|---------------------------------------|
| 1. Фен \longrightarrow Тир. | А. Декарбоксилаза диоксифенилаланина. |
| 2. ДОФА \longrightarrow дофамин. | Б. Оксидаза гомогентизиновой кислоты. |
| 3. Гомогентизиновая кислота \longrightarrow фумарилацетат. | В. Фенилаланингидроксилаза. |
| 4. Фен \longrightarrow фенилпироват. | Г. Фенилаланинтрансминаза. |

Задание 8. Сколько молей АТФ требуется для синтеза 1 моля мочевины? Напишите реакции (схема), идущие с затратой АТФ, укажите ферменты.

Задание 9. Больная страдает наследственным заболеванием — алкаптонурией. Жалуется на сильные боли в суставах, по ходу позвоночника. Проявление артрита в данном случае может быть вызвано накоплением определенного метаболита. Назовите этот метаболит.

- А. Фенилаланин.
- Б. Ацетоацетат.
- В. Тирозин.
- Г. Гомогентизиновая кислота.
- Д. Фенилпировиноградная кислота.

Задание 10. Оцените функциональное состояние печени и почек у больных С. и А. с учетом биохимических показателей крови и мочи.

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

2. Больной А. потребляет в сутки 105 г полноценного белка. Содержание мочевины в крови 14 ммоль/л, с мочой выводится 8,5 г мочевины в сутки.

Лабораторная работа

Работа 1. *Количественное определение кислотности желудочного сока*

Принцип метода. Общую кислотность желудочного сока измеряют в миллилитрах 0,1н раствора едкого натра, затраченного на нейтрализацию 1000 мл желудочного сока в присутствии индикатора фенолфталеина (зона перехода рН 8,3–10,0; ниже 8,2 — бесцветный, выше 10,0 — красный). В норме общая кислотность для взрослого человека составляет 40–60 ммоль/л, у новорожденных — 2,8 ммоль/л, у детей от 1 месяца до 1 года — 4–20 ммоль/л.

Содержание свободной соляной кислоты в желудочном соке измеряют в миллилитрах 0,1н раствора едкого натра, затраченного на нейтрализацию 1000 мл желудочного сока в присутствии индикатора диметиламиноазобензола (зона перехода рН 2,9–4,0; ниже 2,9 — розово-красный; выше 4,0 — желтый). Свободная соляная кислота почти вся оттитровывается при рН 3,0; при этом окраска диметиламиноазобензола изменяется от

розово-красной до оранжевой. Содержание свободной соляной кислоты в норме составляет 20–40 ммоль/л (у новорожденных — 0,5 ммоль/л).

Определение общей кислотности, общей соляной кислоты, свободной соляной кислоты и связанной соляной кислоты проводится в одной порции желудочного сока. Титрование проводят с двумя индикаторами: диметиламиноазобензолом и фенолфталеином.

Ход работы. Отмеривают пипеткой в колбочку 10 мл желудочного сока, добавляют 1 каплю диметиламиноазобензола и 2 капли фенолфталеина. При наличии в желудочном соке свободной соляной кислоты он окрашивается в красный цвет с розовым оттенком, при ее отсутствии сразу появляется оранжевая окраска.

Титруют свободную соляную кислоту 0,1н NaOH из микробюретки до появления оранжевого окрашивания и результат записывают (1-я отметка). Не добавляя щелочи в бюретку, продолжают титрование до появления лимонно-желтого цвета и результат записывают (2-я отметка от 0). Продолжают титрование до появления розового окрашивания (3-я отметка от 0).

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

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

где A — количество 0,1н раствора NaOH, мл; 10 — количество желудочного сока, взятого для титрования, мл; 0,1 — количество мг/экв. щелочи в 1 мл 0,1н раствора, ммоль; 1000 — пересчет на 1 литр.

Ответ:

Клинико-диагностическое значение. При заболеваниях желудка кислотность может быть нулевой, пониженной и повышенной. При язвенной болезни желудка или гиперацидном гастрите происходит увеличение содержания свободной соляной кислоты и общей кислотности (гиперхлоргидрия). При гипоацидном гастрите или раке желудка наблюдается уменьшение количества свободной соляной кислоты и общей кислотности (гипохлоргидрия). При раке желудка, хроническом гастрите иногда отмечается полное отсутствие соляной кислоты (ахлоргидрия). При злокачественном малокровии, при раке желудка часто наблюдается полное отсутствие соляной кислоты и пепсина (ахилия).

Вывод:

Работа 2. *Определение активности аланиновой аминотрансферазы (АлАТ)*

Аминотрансферазы (трансаминазы) — ферменты, которые используют в качестве кофермента фосфопиридоксаль и катализируют обратимый перенос аминокислоты с аминокислот на кетокислоты. Определение концентрации образующихся α -кетокислот лежит в основе методов определения активности трансаминаз.

Принцип метода. В результате переаминирования аланин превращается в пировиноградную кислоту. Добавление кислого 2,4-динитрофенилгидразина останавливает ферментативный процесс. Образовавшийся гидразон пировиноградной кислоты в щелочной среде дает коричнево-красное окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству образовавшегося пирувата.

Активность аминотрансфераз выражают в микромолях пировиноградной кислоты, образованной за 1 час инкубации при температуре 37° С в расчете на 1 мл сыворотки крови. В норме активность аминотрансфераз в крови невелика и составляет для АсАТ от 0,1 до 0,45 мкмоль/ч·мл, а для АлАТ — 0,1–0,68 мкмоль/ч·мл.

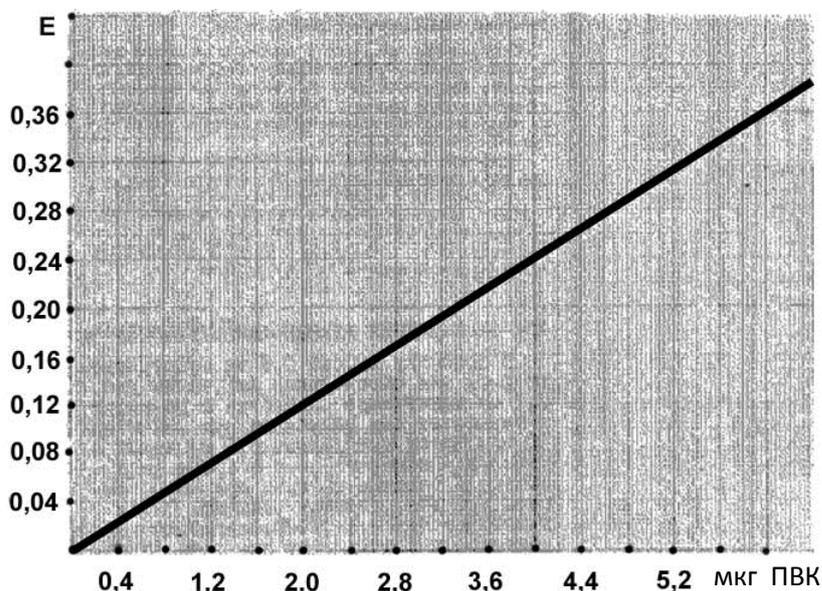
Ход определения. В пробирку вносят 0,5 мл субстратного раствора, затем добавляют 0,1 мл исследуемой сыворотки и инкубируют в термостате 30 мин при 37°С. Затем приливают 0,5 мл динитрофенилгидразинового раствора и пробы выдерживают 20 мин при комнатной температуре. После этого добавляют 5 мл 0,4н NaOH, тщательно перемешивают и оставляют на 10 минут при комнатной температуре для развития окраски. Оптическую плотность измеряют на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром (530 нм) в кювете с шириной 10 мм против контрольной пробы на реактивы. Контрольная проба содержит все ингредиенты опытной пробы за исключением сыворотки крови, вместо которой берут 0,1 мл дистиллированной воды.

Расчет активности производится по готовому калибровочному графику зависимости концентрации ПВК от оптической плотности окрашенного раствора. Пересчет активности фермента в микромоли пировиноградной кислоты производят по следующей формуле:

$$\text{АлАТ(мкмоль/ч·мл)} = a \cdot 10 \cdot 2 / 88,$$

где a — количество пировиноградной кислоты в 0,1 мл сыворотки, найденное по калибровочному графику в мкг; 88 — масса 1 мкмоль пировиноградной кислоты в мкг; 2 — коэффициент перерасчета на 1 час инкубации; 10 — коэффициент перерасчета на 1 мл сыворотки.

Ответ:



Клинико-диагностическое значение. Аминотрансферазы относятся к индикаторным ферментам, и определение их активности широко применяется в диагностике заболеваний сердца и печени. При инфаркте миокарда через 4–6 часов наблюдается повышение уровня АсАТ, максимальна ее активность через 24–36 часов. Активность обеих аминотрансфераз, в особенности АлАТ, повышается при инфекционном гепатите. Особенно важна диагностическая ценность определения АлАТ при безжелтушных формах болезни Боткина и в инкубационном периоде.

Вывод:

Работа 3. *Определение содержания мочевины в моче*

С мочой здорового человека выделяется за сутки 20–35 г или 333–583 ммоль мочевины.

Принцип метода. Метод основан на способности мочевины, содержащей аминогруппы, образовывать с *n*-диметиламинобензальдегидом в кислой среде комплексное соединение, окрашенное в желтый цвет. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации мочевины в исследуемой моче и определяется фотометрически.

Порядок выполнения работы. Пипетки и пробирки должны быть обязательно сухими.

В три пробирки наливают по 0,2 мл соответственно мочи (опытная проба), стандартного раствора мочевины (25 мг/мл) и воды (контроль на реактивы), добавляют в каждую по 1,2 мл 2% раствора парадиметиламинобензальдегида и тщательно перемешивают. Через 15 мин опытную и стандартную пробы фотометрируют в сухих кюветах шириной 3 мм с синим светофильтром против контрольной пробы.

Расчет. Содержание мочевины в опытной пробе рассчитывают по стандартному раствору мочевины по формуле:

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

где $C_{\text{оп}}$ — концентрация мочевины в моче в пробе мг/мл; $C_{\text{ст}}$ — концентрация мочевины в стандартной пробе, 25 мг/мл; $E_{\text{оп}}$ — оптическая плотность пробы; $E_{\text{ст}}$ — оптическая плотность стандартного раствора мочевины.

Полученную величину умножают на диурез (1200–1500 мл) и получают суточное содержание мочевины в моче. Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/сут) равен 0,0167.

Ответ:

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

Вывод:

Подпись преподавателя

4. Тема занятия. ХИМИЯ И ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Цель занятия: усвоить механизмы биосинтеза и распада нуклеотидов и способы регуляции этих процессов. Систематизировать знания о молекулярных механизмах репликации, транскрипции, трансляции и их регуляции. Познакомиться с примерами использования этих знаний для диагностики, лечения заболеваний и разработки лекарственных препаратов. Приобрести навыки качественного анализа состава нуклеопротеинов, количественного определения мочевой кислоты и общего азота в моче, остаточного азота крови.

Вопросы для обсуждения

1. Мононуклеотиды, строение, номенклатура, биологическая роль.
2. Первичная, вторичная и третичная структуры нуклеиновых кислот (особенности структуры, типы стабилизирующих связей).
3. Обмен нуклеопротеинов. Переваривание нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте (значение, этапы, ферменты). Распад нуклеиновых кислот в тканях, роль лизосомных ферментов.
4. Метаболизм пуриновых нуклеотидов. Распад пуриновых нуклеотидов (химизм, мочевиная кислота как конечный продукт катаболизма). Биосинтез пуриновых нуклеотидов *de novo* (источники азота и углерода пуринового кольца, участие фолиевой кислоты, основные промежуточные продукты, ключевой фермент, регуляция синтеза). Представление о нарушениях пуринового обмена (гиперурикемия и подагра, почечно-каменная болезнь).
5. Метаболизм пиримидиновых нуклеотидов. Распад пиримидиновых нуклеотидов (конечные продукты). Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов *de novo* (субстраты, схема процесса, ключевой фермент, регуляция синтеза, роль витаминов).
6. Представление о синтезе нуклеотидов из свободных азотистых оснований и нуклеозидов.
7. Синтез дезоксирибонуклеотидов.
8. Использование аналогов фолиевой кислоты, азотистых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов в качестве лекарственных препаратов.
9. Репликация, биологическая роль, субстраты, ферменты, молекулярный механизм.
10. Транскрипция, биологическая роль, молекулярный механизм, созревание (процессинг) РНК. Механизмы регуляции активности генов. Представление об обратной транскрипции.
11. Генетический код и его свойства.
12. Рекогниция и трансляция как этапы реализации генетической информации в клетке. Рекогниция (субклеточная локализация, схема, субстратная специфичность АРСаз). Роль тРНК в синтезе белка.
13. Современное представление о биосинтезе белка.
14. Посттрансляционная модификация молекул белка (гидроксилирование, гликозилирование, ограниченный протеолиз, фосфорилирование, карбоксилирование, др.).
15. Регуляция биосинтеза белка в клетке на генетическом уровне (роль гистонов, гормонов и жирорастворимых витаминов). Ингибиторы биосинтеза белка, их использование в медицине.
16. Современные методы молекулярной биологии: ПЦР, блот-анализ ДНК и РНК (Саузерн-блот и Нозерн-блот), метод «отпечатков пальцев ДНК», клонирование (генная инженерия). Принципы проведения, применение в медицине и фармации. Метод определения последовательности нуклеотидов в ДНК (метод Сэнджера).
17. Общий азот мочи (количество, компоненты и их происхождение, принцип определения).
18. Остаточный азот сыворотки крови (количество, компоненты и их происхождение, принцип определения, клинико-диагностическое значение).

Литература для подготовки

1. *Кухта В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович. М. – Мн., Бином, Асар, 2008. С. 307-418.
2. *Березов Т.Т.* Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. М.: Медицина, 1990. С. 71–73, 77–91, 369–394, 399–422.
3. Биологическая химия: учебное пособие / А.Д. Таганович [и др.]. – Мн., Беларусь, 2013. С. 113-143.
4. *Конспект лекций.*

Задания для самоконтроля знаний

Задание 1. Подобрать соответствующие пары вопрос – ответ:

- | | |
|---------------------|--|
| 1. Аденозин | А. Пиримидиновый нуклеозид |
| 2. Гуанин | Б. Азотистое основание пуринового ряда |
| 3. Цитозин | В. Пиримидиновый нуклеотид |
| 4. Уридинтрифосфат | Г. Азотистое основание пиримидинового ряда |
| 5. Тимидин | Д. Пуриновый нуклеозид |
| 6. Гуанозиндифосфат | Е. Пуриновый нуклеотид |

Задание 2. Назовите нуклеотиды, структура которых схематически изображена ниже:

- 1) аденин – дезоксирибоза – фосфат – фосфат
- 2) цитозин – рибоза – фосфат
- 3) гуанин – дезоксирибоза – фосфат – фосфат – фосфат
- 4) урацил – рибоза – фосфат – фосфат

Задание 3. Подобрать соответствующие пары вопрос – ответ:

- | | |
|----------------------------|---|
| 1. Первичная структура ДНК | А. «Двойная спираль», стабилизирующаяся водородными связями между азотистыми основаниями (горизонтально) и силами гидрофобного взаимодействия между выше- и нижележащими азотистыми основаниями |
| 2. Вторичная структура ДНК | Б. Дезоксирибонуклеопротеины, образованные при взаимодействии ДНК с гистоновыми и негистоновыми белками |
| 3. Третичная структура ДНК | В. Последовательность нуклеотидов в полинуклеотидной цепи, соединенных 3',5'-фосфодиэфирными связями |

Задание 4. Выберите утверждения, правильно характеризующие ксантиноксидазу:

- А. Этот фермент участвует в катаболизме пуриновых нуклеотидов.
- Б. Одним из продуктов реакции является перекись водорода.
- В. Фермент катализирует две последовательные необратимые реакции образования мочевой кислоты.
- Г. Субстрат фермента — гипоксантин — имеет меньшую растворимость, чем мочевая кислота.
- Д. Фермент обладает абсолютной специфичностью к субстрату.

Задание 5. Расположите перечисленные метаболиты в порядке их участия в синтезе пиримидиновых нуклеотидов:

- А. Карбамоиласпартат.
- Б. Глутамин, CO₂.
- В. Карбамоилфосфат.
- Г. Оротат.
- Д. ФРПФ.
- Е. Дигидрооротат.
- Ж. УМФ.
- З. Оротидин-5'-монофосфат.
- И. Аспартат.

Задание 6. Рибоза превращается в дезоксирибозу:

- А. За счет разрыва гликозидной связи.

- Б. На уровне нуклеозиддифосфатов.
- В. С участием тиоредоксиновой системы.
- Г. За счет восстановленной формы NAD^+ .
- Д. На уровне нуклеозидов.

Задание 7. 5-фосфорибозил-1-пирофосфат (ФРПФ) – это промежуточный субстрат в процессах

- А. Синтеза пуриновых нуклеотидов de novo.
- Б. Синтеза пиримидиновых нуклеотидов de novo.
- В. Синтеза мочевины.
- Г. Реутилизации пуриновых нуклеотидов.
- Д. Синтеза активной формы фолата.

Задание 8. Выберите субстраты, которые используются в реакции биосинтеза ДНК при участии ДНК-полимеразы:

- А. дАТФ, дЦТФ, дГТФ, дТТФ.
- Б. дАДФ, дЦДФ, дГДФ, дТДФ.
- В. АТФ, ЦТФ, ГТФ, ТТФ.
- Г. дАМФ, дТМФ, дЦМФ, дГМФ.

Задание 9. Синтез ДНК идет в направлении от 5'- к 3'-концу. Это означает, что

А. Удлинение цепи происходит за счет присоединения дезоксирибонуклеозидмонофосфатов к свободной 3'-ОН-группе (с образованием фосфодиэфирной связи).

Б. Удлинение цепи происходит за счет присоединения дезоксинуклеозидтрифосфатов к свободной 3'-ОН-группе (с отщеплением пирофосфата).

В. Удлинение цепи происходит за счет присоединения 3'-ОН-группы дезоксинуклеозидтрифосфатов к свободному 5'-фосфату.

Г. Считывание информации с материнской цепи ДНК идет в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Задание 10. Из приведенных утверждений выберите правильные:

А. Поскольку стартовым кодоном для начала синтеза белка является AUG, то метионин обнаруживается только на N-концах полипептидных цепей белков.

Б. Многие антибиотики избирательно подавляют синтез белка только у бактерий благодаря структурным и функциональным различиям между рибосомами прокариот и эукариот.

В. Модифицированные нуклеотиды, особенно часто встречающиеся в молекулах тРНК, образуются в результате ковалентной модификации стандартных нуклеотидов после их включения в РНК-транскрипты.

Г. В клетках эукариот транскрипцию РНК всех классов осуществляет РНК-полимераза одного типа, тогда как в клетках прокариот используются три разных типа РНК-полимераз.

Задание 11. Выберите источники энергии, необходимые на разных этапах трансляции:

- | | |
|-----------------------|--|
| 1. АТФ | А. Образование пептидных связей. |
| 2. ГТФ | Б. Перемещение рибосомы по иРНК на один кодон. |
| 3. Энергия субстратов | В. Освобождение белка с рибосом. |
| | Г. Присоединение аминоацил-тРНК к аминоацильному центру. |
| | Д. Активация аминокислот. |

Задание 12. Установите последовательность событий, приводящих к инициации транскрипции у эукариот:

А. Изменение конформации факторов транскрипции и их присоединение к промоторным и энхансерным последовательностям гена.

Б. Синтез РНК.

В. Плавление промотора.

Г. Присоединение РНК-полимеразы к промотору.

Д. Появление в клетке индукторов и связывание их с соответствующими факторами транскрипции.

Задание 13. При секвенировании ДНК (метод Сэнджера) синтез дочерних молекул ДНК останавливают в каждом возможном положении. Для этого используют:

А. Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, меченые радиоактивным фосфором.

Б. ДНК-полимеразу, выделенную из термоустойчивых бактерий.

В. Модифицированные нуклеотиды, которые содержат метилированные азотистые основания.

Г. Модифицированные нуклеотиды, у которых отсутствует ОН-группа в 3'-положении.

Д. Терминирующие кодоны.

Задание 14. Расположите в правильной последовательности этапы проведения Саузерн-блота:

А. Денатурация и перенос фрагментов ДНК на твердую фазу.

Б. Разрезание ДНК рестриктазами.

В. Гибридизация иммобилизованных проб ДНК с зондом и обнаружение гибридов.

Г. Выделение ДНК из биологического материала.

Д. Разделение фрагментов ДНК в агарозном геле.

Ответы к заданиям для самоконтроля знаний

Задание 1: 1-Д, 2-Б, 3-Г, 4-В, 5-А, 6-Е; *Задание 2:* 1-дезоксаденозиндифосфат, 2-цитидинмонофосфат, 3-дезоксигуанозинтрифосфат; 4-уридиндифосфат; *Задание 3:* 1-В, 2-А, 3-Б; *Задание 4:* А,Б,В; *Задание 5:* Б – В – И – А – Е – Г – Д – З – Ж; *Задание 6:* Б,В; *Задание 7:* А,Б,Г; *Задание 8:* А; *Задание 9:* Б; *Задание 10:* Б,В; *Задание 11:* 1-Д, 2-Б,В,Г, 3-А; *Задание 12:* Д – А – Г – В – Б; *Задание 13:* Г; *Задание 14:* Г – Б – Д – А – В

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Дополнить недостающими компонентами реакции синтеза пуриновых рибонуклеотидов:

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

Задание 2. Дополнить недостающими компонентами реакции синтеза пиримидиновых нуклеотидов:

- | | |
|--|---------|
| 1. Карбамоилфосфат + ? → Карбамоиласпартат | А. ФРПФ |
| 2. Оротат + ? → ОМФ + $H_4P_2O_7$ | Б. Асп |
| 3. ОМФ → CO_2 + ? | В. АТФ |
| 4. УМФ + ? → УДФ + ? | Г. АДФ |
| 5. УДФ + ? → УТФ + ? | Д. УМФ |

Задание 3. Из приведенных субстратов составьте цепочку реакций синтеза дТМФ:

- А. дУДФ
- Б. дУМФ
- В. УМФ
- Г. УДФ
- Д. дТМФ

Задание 4. Какое из перечисленных веществ может заблокировать синтез тимидилата?

- А. Фолиевая кислота.
- Б. Ацикловир.
- В. Метотрексат.
- Г. Оротат калия.
- Д. Метилурацил.
- Е. Рибоксин (ИМФ).

Каковы эффекты и механизмы действия всех перечисленных препаратов?

Задание 5. Каждому из видов РНК подберите соответствующую характеристику:

- | | |
|--------------|---|
| 1. иРНК. | А. Имеет последовательность ЦЦА на 3'-конце. |
| 2. пре-иРНК. | Б. Имеет «кэп» и «полиадениловый хвост». |
| 3. тРНК. | В. Обладает пептидилтрансферазной активностью. |
| 4. рРНК. | Г. Синтезируется под действием РНК-полимеразы II. |

Задание 6. Адапторная функция тРНК определяется ее способностью специфически взаимодействовать с определенными субстратами. Выберите их:

- А. иРНК.
- Б. ДНК.
- В. Аминокислота.
- Г. Аминоацил-тРНК-синтетаза.
- Д. Белки рибосомных частиц.

Задание 7. Женщине с лимфолейкозом назначен противоопухолевый препарат — ингибитор тиоредоксинредуктазы. На чем основано цитостатическое действие препарата?

- А. Ингибируется синтез ИМФ
- Б. Ингибируется синтез оротовой кислоты
- В. Ингибируется синтез аденилоянтарной кислоты
- Г. Ингибируется синтез дезоксирибонуклеотидов
- Д. Ингибируется синтез УМФ

Задание 8. Из приведенных веществ выберите те, которые ингибируют биосинтез белка на рибосомах:

- А. Стрептомицин
- Б. Хлорамфеникол (левомицетин)
- В. Альфа-аманитин
- Г. Рифампицин
- Д. Эритромицин

Каковы эффекты и механизмы действия всех перечисленных препаратов?

Задание 9. Выберите правильное утверждение, характеризующее каждый из перечисленных методов:

- | | |
|---------------------------------|--|
| 1. Генная инженерия. | А. Позволяет определить первичную структуру фрагмента ДНК. |
| 2. Секвенирование по Сэнджеру. | Б. Позволяет получить большое количество |
| 3. Полимеразная цепная реакция. | |

4. Метод «отпечатков пальцев» ДНК. исследуемой ДНК.
- В. Позволяет установить различия или идентичность образцов ДНК.
 - Г. Используется для получения белковых лекарственных препаратов. Важным этапом является создание гибридного вектора и экспрессия встроенного гена в бактериальной клетке.

Задание 10. Выберите положения, правильно характеризующие элементы *lac*-оперона (подберите пары):

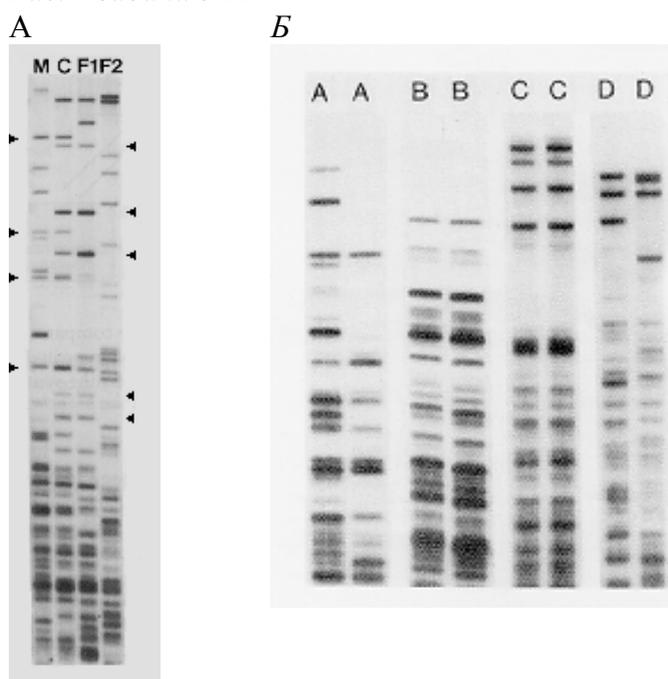
- | | |
|-------------------------------|---|
| 1. Ген-регулятор. | А. Белок, конформация которого меняется под влиянием лактозы. |
| 2. Структурный ген <i>z</i> . | Б. Нуклеотидная последовательность, способная связываться с белком-репрессором. |
| 3. Белок-репрессор. | В. Участок ДНК, к которому присоединяется РНК-полимераза при повышении в среде концентрации лактозы и отсутствии глюкозы. |
| 4. Промотор. | Г. Единица транскрипции. |
| 5. Оператор. | Д. Содержит информацию о структуре белка-репрессора. |
| 6. Оперон. | Е. Содержит информацию о структуре β -галактозидазы. |

Задание 11. Приведенные на рисунках электрофореграммы показывают

А) «отпечатки пальцев» ДНК матери (**М**), ребенка (**С**) и двух предполагаемых отцов (**F1**, **F2**). Указатели на левой стороне указывают полосы ДНК, общие между ребенком и матерью. Указатели на правой стороне указывают полосы ДНК, общие между ребенком и предполагаемыми отцами. Ваше мнение о предполагаемом отце.

Б) результаты исследования полиморфизма длины фрагментов рестрикции 4-х пар близнецов. Ваше мнение об идентичности близнецов.

Рис. к заданию 11



Лабораторная работа

Работа 1. Анализ продуктов гидролиза нуклеопротеинов дрожжей

Для изучения химического состава нуклеопротеинов проводят кислотный гидролиз дрожжей, поскольку они очень богаты нуклеопротеинами. Специфическими реакциями для каждого вещества открывают продукты гидролиза – полипептиды, пуриновые основания, углевод и фосфорную кислоту.

Принцип метода. Пекарские дрожжи гидролизуют под действием разбавленной серной кислоты. Полученный гидролизат используют для дальнейшей работы.

1). Биуретовая реакция на полипептиды. К 5 каплям гидролизата приливают 10 капель 10% раствора едкого натра, затем 2 капли 1% раствора сульфата меди. Отмечают появление розово-фиолетовой окраски.

2). Серебряная проба на пуриновые основания. К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 10 капель концентрированного раствора аммиака, затем добавляют 10 капель 2% аммиачного раствора нитрата серебра. При стоянии через 3-5 мин образуется светло-коричневый осадок серебряных солей пуриновых оснований (содержимое пробирки перемешивать при стоянии не надо).

3). Качественная реакция на пентозу (Молиша). К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 3 капли 1% спиртового раствора тимола, перемешивают и по стенке пробирки осторожно приливают 20-30 капель концентрированной серной кислоты. При встряхивании на дне пробирки образуется продукт конденсации красного цвета.

4). Молибденовая проба на фосфорную кислоту. К 10 каплям гидролизата дрожжей добавляют 20 капель молибденового реактива и кипятят. При этом жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет (не осадок). Пробирку сразу охлаждают в струе холодной воды. На дне пробирки появляется кристаллический лимонно-желтый осадок фосфорномолибденовой кислоты.

Вывод:

Работа 2. Определение содержания мочевой кислоты в моче

Мочевая кислота у человека является конечным продуктом обмена пуриновых оснований, входящих в состав сложных белков - нуклеопротеинов.

В норме у человека с мочой выделяется **мочевой кислоты 1,6 – 3,54 ммоль/сут (270 – 600 мг/сут).**

Принцип метода. Метод основан на способности мочевой кислоты восстанавливать фосфорно-вольфрамовый реактив в фосфорно-вольфрамовую синь, интенсивность окраски которой пропорциональна содержанию мочевой кислоты. Количество фосфорно-вольфрамовой сини определяется путем титрования красной кровяной солью $K_2[Fe(CN)_6]$. Последняя окисляет фосфорно-вольфрамовую синь, и синее окрашивание исчезает.

Порядок выполнения работы. К 1,5 мл мочи прибавляют 1 мл 20% раствора карбоната натрия и 1 мл фосфорно-вольфрамового реактива Фолина, перемешивают и титруют 0,01н раствором $K_3[Fe(CN)_6]$ до исчезновения синего окрашивания.

Расчет. Содержание мочевой кислоты (в мг) в суточной моче вычисляют по формуле:

$$\text{Мочевая кислота, мг/сут} = 0,8 \cdot a \cdot v / 1,5,$$

где 0,8 мг мочевой кислоты соответствует 1 мл $K_3[Fe(CN)_6]$; a — количество $K_3[Fe(CN)_6]$, пошедшее на титрование, мл; v — суточный диурез, мл; 1,5 — объем пробы, мл.

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

Полученные данные и расчет:

Клинико-диагностическое значение. Гипоурикурия (уменьшение выделения мочевой кислоты с мочой) отмечается при подагре, нефрите, почечной недостаточности; гиперурикурия (увеличение выделения мочевой кислоты с мочой) — при лейкемии, усиленном распаде нуклеопротеинов. У детей выделяется относительно больше мочевой кислоты, чем у взрослых. Выделение мочевой кислоты зависит от содержания пуринов в пище и интенсивности обмена нуклеопротеинов.

При подагре соли мочевой кислоты (ураты) откладываются в хрящах, мышцах и слизистой сумке суставов. Содержание мочевой кислоты в крови может быть повышено, а в моче понижено.

Вывод:

Работа 3. *Определение содержания общего азота мочи колориметрическим методом*

Исследование общего азота мочи может быть использовано для исследования состояния азотистого баланса. Количество общего азота, выделяемого за сутки с мочой, у взрослого человека составляет 6 – 17 г (428 – 1214 ммоль/сут).

Принцип метода. После сжигания (минерализации) органических веществ мочи с концентрированной серной кислотой азот всех исследуемых фракций в виде аммиака связывается с серной кислотой, образуя сульфат аммония. Колориметрическое определение общего азота основано на том, что сульфат аммония образует с реактивом Несслера (щелочной раствор комплексной соли ртути $K_2(HgI_4)$) соединение желто-оранжевого цвета, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации аммиака, а, следовательно, и азота в моче.

Порядок выполнения работы. Готовят три обычные сухие пробирки. В две из них отмеривают соответственно 0,5 мл минерализата (опыт) и 0,5 мл стандартного раствора сульфата аммония (стандарт, содержащий 0,1 мг азота в 1 мл). Прибавляют в каждую пробирку по 6,5 мл воды и тщательно перемешивают. В третью пробирку отмеривают 7 мл воды (контроль) и во все пробирки добавляют по 0,5 мл реактива Несслера. Содержимое пробирок тщательно перемешивают. *Необходимо строго соблюдать порядок приливания реагентов и тщательно перемешивать жидкость.* Фотометрируют опытную и стандартную пробы против контроля при длине волны 440 нм в кювете толщиной 5 мм.

Расчет. Концентрацию азота в опытной пробе рассчитывают по стандартному раствору сульфата аммония по формуле:

$$C_{он} = C_{ст} \cdot E_{оп} / E_{ст},$$

где $C_{он}$ — концентрация азота мочи в исследуемой пробе, мг/мл; $C_{ст}$ — концентрация $(NH_4)_2SO_4$ в стандартной пробе (0,1 мг в 1 мл); $E_{оп}$ — оптическая плотность опытной пробы; $E_{ст}$ — оптическая плотность стандарта сульфата аммония.

Содержание общего азота в моче (г/сут) рассчитывают по формуле:

$$C_{он} \cdot 100 \cdot \text{суточный диурез} / 0,5 \cdot 1000,$$

где $C_{он}$ — концентрация азота, найденная по стандартному раствору; 100 — разведение мочи при приготовлении минерализата; 0,5 — количество минерализата, взятого для анализа; 1000 — коэффициент перевода миллиграммов в граммы.

Суточное выделение мочи составляет в среднем 1500 мл для мужчин и 1200 мл для женщин. Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/сут) равен 71,39.

Полученные данные и расчет:

Клинико-диагностическое значение. Определение общего азота мочи позволяет судить о белковом обмене в организме, о количестве распавшегося белка. Для этого полученную величину общего азота умножают на 6,25, исходя из того, что в белке в среднем содержится 16% азота ($100 : 16 = 6,25$).

При заболевании почек, вследствие нарушения их выделительной функции содержание общего азота в моче уменьшается. Задержка азота в организме наблюдается при заболеваниях печени и сердечно-сосудистой системы в связи с возникновением отеков, при наличии экссудатов и трансудатов.

Увеличение содержания общего азота в моче отмечается при усиленном распаде белков (отрицательный азотистый баланс), диабете, при рассасывании экссудатов и трансудатов, хроническом отравлении фосфором.

Вывод:

Работа 4. Количественное определение остаточного азота плазмы крови

Азотсодержащие небелковые вещества составляют фракцию остаточного азота крови (промежуточные или конечные продукты обмена простых и сложных белков). Это мочевины, мочевиная кислота, креатин, креатинин, аммиак, индикан, билирубин, полипептиды, аминокислоты и др. Азот этих веществ называют остаточным, поскольку он остается в фильтрате после осаждения белков плазмы крови.

Основной частью остаточного азота крови является азот мочевины — 50%, затем следует азот аминокислот — 25% и азот других азотсодержащих компонентов. В норме остаточный азот крови составляет 14,3 – 25,0 ммоль/л (20 – 40 мг%); у новорожденных — 42,84 – 71,40 ммоль/л (60 – 100 мг%); на 10–12-й день снижается до уровня, определяемого у взрослых.

Принцип метода. Остаточный азот крови определяют в безбелковом фильтрате после осаждения белков крови различными осадителями (трихлоруксусной кислотой или вольфраматом) с последующей минерализацией безбелкового фильтрата концентрированной серной кислотой. Азот всех исследуемых фракций в виде аммиака связывается с серной кислотой, образуя сульфат аммония, который взаимодействует с реактивом Несслера с образованием соединения желто-оранжевого цвета. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации аммиака, а, следовательно, и азота.

Порядок выполнения работы. Готовят три обычные пробирки. В одну из них наливают 1 мл готового минерализата и 9 мл воды (опытная проба), в другую вносят 1 мл стандартного раствора сульфата аммония и 9 мл воды (стандартная проба), в третью наливают 10 мл воды (контроль). Затем во все пробирки вносят по 0,5 мл реактива Несслера. Фотометрируют опытную (минерализат) и стандартную пробы против контроля при длине волны 440 нм в кювете толщиной 5 мм.

Расчет. Содержание остаточного азота в опытной пробе рассчитывают по формуле:

$$C_{оп} = (C_{ст} \cdot E_{оп} / E_{ст}) \cdot 100,$$

где $C_{оп}$ — концентрация остаточного азота в крови, мг%; $C_{ст}$ — концентрация азота в стандартной пробе (0,1 мг в 1 мл); $E_{оп}$ — оптическая плотность опытной пробы (минерализат); $E_{ст}$ — оптическая плотность стандарта (сульфат аммония).

Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/л) равен 0,714.

Полученные данные и расчет:

Клинико-диагностическое значение. Определение остаточного азота и его фракций используется для диагностики нарушения выделительной функции почек и мочевинообразовательной функции печени. Повышение остаточного азота в крови обозначается термином «азотемия». Азотемия может быть двух видов: абсолютной (накопление в крови компонентов остаточного азота) и относительной (дегидратация организма при рвоте или поносе). Причины абсолютной азотемии могут быть две: ретенционная (почечная) и продукционная (внепочечная). Ретенционная азотемия вызывается задержкой азотистых шлаков при их нормальном образовании и наблюдается при нарушении выделительной способности почек, например при острых и хронических нефритах за счет повышения уровня мочевины в крови. При хронических нефритах стойкая азотемия указывает на развивающуюся недостаточность почек. Продукционная азотемия наблюдается при усиленном распаде белков и преобладании аминокислот, например, при злокачественных новообразованиях. Повышение остаточного азота отмечается при кахексии неракового происхождения, вызванной туберкулезом, диабетом и циррозом печени, при сердечной недостаточности, инфекционных заболеваниях (скарлатине, дифтерии). У недоношенных детей азотемия может быть связана с почечной недостаточностью и усиленным распадом тканевых белков.

Понижение содержания остаточного азота наблюдается при недостаточном питании и иногда при беременности.

Вывод:

Подпись преподавателя:

5. Тема занятия. ГОРМОНЫ. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ.

Цель занятия: научиться применять знание классификации гормонов, типов гормональных рецепторов, G-белков и последующего каскада внутриклеточных передатчиков для понимания особенностей механизма действия гормонов на клетки. Уметь применять знания о механизме действия индивидуальных гормонов для объяснения расстройств метаболизма при нарушении образования или гиперпродукции гормонов в организме. Закрепить знания о химическом строении и механизмах действия индивидуальных гормонов. Особое внимание уделить эндокринной патологии поджелудочной железы. Усвоить роль гормональной регуляции обмена углеводов в поддержании концентрации глюкозы в крови для умения интерпретировать характер биохимических нарушений у больных при патологии углеводного обмена

Вопросы для обсуждения

1. Номенклатура и классификация гормонов по месту синтеза, химической структуре. Гормоны как лекарственные препараты.
2. Особенности синтеза гормонов белково-пептидной природы, стероидной природы, производных липидов.
3. Особенности биологического действия гормонов. Транспорт кровью.
4. Понятие «рецептор гормона». Классификация рецепторов: внутриклеточные рецепторы (ядерные и цитозольные), рецепторы цитоплазматической мембраны (лиганд-

зависимые и потенциал-зависимые каналообразующие рецепторы, строение 1-TMS и 7-TMS-рецепторов).

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

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

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

8. Растворимая и мембраносвязанная гуанилатциклазы. Оксид азота.

9. Аденилатциклаза и фосфолипаза С. Их роль в клетке.

10. Роль протеинкиназ в клетке.

11. Гормоны гипоталамуса: химическое строение, тип рецептора в клетках-мишенях, каскадный механизм усиления гормонального сигнала, ответ клеток гипофиза на действие либеринов и статинов гипоталамуса.

12. Гормоны аденогипофиза: химическое строение, типы рецепторов в тканях-мишенях, каскадный механизм усиления гормонального сигнала, реализация эффекта гормонов на уровне тканей-мишеней. Роль избыточной и недостаточной секреции гормонов.

13. Гормоны нейрогипофиза: химическое строение, тип рецептора в ткани-мишени, каскадный механизм усиления гормонального сигнала, реализация эффекта окситоцина и вазопрессина на уровне тканей-мишеней. Роль избыточной и недостаточной секреции гормонов.

14. Гормоны эпифиза: химическое строение, предшественники синтеза, реализация эффекта на уровне тканей-мишеней. Роль избыточной и недостаточной секреции гормонов.

15. Тироксин и трийодтиронин: химическое строение, предшественник синтеза, тиреоглобулин, тип рецептора в ткани-мишени, реализация эффекта тиреоидных гормонов на уровне клетки. Роль пероксидазы и дейодазы в метаболизме гормонов. Проявление гипо- и гипертиреозидизма.

16. Гормоны коры надпочечников: химическое строение, предшественник синтеза, тип рецептора в ткани-мишени, реализация эффекта глюкокортикоидов и минералокортикоидов на уровне клетки. Синдром Кушинга. «Бронзовая болезнь». Несахарный диабет.

17. Половые гормоны: химическое строение, предшественник синтеза, реализация эффекта эстрогенов, прогестерона и мужских половых гормонов на уровне клетки. Избыточная и недостаточная секреция половых гормонов.

18. Инсулин и глюкагон: химическое строение, синтез инсулина, типы рецепторов в тканях-мишенях для глюкагона и инсулина, реализация эффекта гормонов поджелудочной железы на уровне клеток. Нарушения метаболизма при диабете. Диагностическое значение сахарных кривых.

Литература для подготовки

1. *Кухта В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович. М. – Мн., Бинум, Асар, 2008. С 427-514.

2. *Березов Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 170–203.

3. Биологическая химия: учебное пособие / А.Д. Таганович [и др.]. – Мн., Беларусь, 2013. С. 144-157.

4. *Конспект лекций.*

Задания для самоконтроля знаний

Задание 1. Вспомните, какие гормоны связываются с внутриклеточными рецепторами, а какие — с рецепторами, встроенными в цитоплазматическую мембрану. Обратите внимание, что при патологии рецепторов ткани-мишени теряется чувствительность к гормону (гормон не вызовет соответствующего метаболического ответа).

1.1. В клинику поступил больной в состоянии гипергликемической комы. Введение инсулина не нормализовало концентрацию глюкозы крови. Какую причину гипергликемии можно предположить у больного?

- А. Аномалия клеточных рецепторов
- Б. Гиперфункция гормонов коры надпочечников
- В. Истинная гипоинсулинемия
- Г. Опухоль базофильных клеток гипофиза
- Д. Опухоль мозгового слоя надпочечников

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

- А. Эстрадиолу
- Б. Тироксину
- В. Глюкагону
- Г. Прогестерону
- Д. Альдостерону

Задание 2. . Вспомните химическую природу гормонов.

2.1. Студенту предложили смоделировать биосинтез адреналина, используя в качестве источника ферментов гомогенат мозгового слоя надпочечников, а в качестве субстрата — одно из ниженазванных веществ. Студент не справился с заданием, так как использовал для синтеза:

- А. Диоксифенилаланин
- Б. Фенилаланин
- В. Тирозин
- Г. Лизин
- Д. Дофамин

2.2. У больных с опухолью клубочковой зоны надпочечника в три раза увеличивается биосинтез кортизола и кортикостерона и в 70 раз возрастает биосинтез альдостерона. Укажите метаболит, использование которого резко увеличивается:

- А. Сукцинил-КоА
- Б. Эргостерол
- В. Холин
- Г. Метионин
- Д. Холестерол

2.3. Какой из нижеперечисленных гормонов не является гликопротеином?

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

Задание 3. Вторичными посредниками действия гормонов на клетку являются циклические нуклеотиды, ИТФ, Ca^{2+} , диацилглицерол. Запомните, что цАМФ по своему влиянию на метаболизм клетки является антагонистом цГМФ.

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

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

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

- А. цАМФ
- Б. Простагландины
- В. цГМФ
- Г. Са-кальмодулин
- Д. цГМФ

3.3. Больной поступил в клинику с гипергликемией в результате развития опухоли, продуцирующей адреналин. С помощью введения каких веществ можно уменьшить интенсивность действия адреналина на органы-мишени?

- А. Активаторы фосфодиэстеразы
- Б. цАМФ
- Г. цГМФ
- Д. Ингибиторы кальциевых каналов

В. Простагландины

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

А. Диацилглицерол.

В. цГМФ

Д. ГМФ

Б. цАМФ

Г. Ca²⁺

Задание 4. Обратите внимание на то, что полиурия отмечается не только при сахарном диабете (*Diabetes mellitus*), но и при несахарном диабете (*Diabetes insipidus*), а также при почечном диабете (при поражении почек). Различить причину полиурии помогает определение удельного веса мочи и данные определения уровня гликемии. Не забывайте, что часто диабет носит скрытый характер и выявить заболевание можно на основании результатов сахарной нагрузки.

4.1. При обследовании больного на толерантность к глюкозе определен натощак уровень глюкозы в крови 7,0 ммоль/л, через 2 часа после нагрузки глюкозой — 10 ммоль/л. Для какого нарушения регуляции углеводного обмена характерны эти показатели?

А. Сахарный диабет

Г. Болезнь Аддисона

Б. Скрытая форма сахарного диабета

Д. Микседема

В. Гиперинсулинизм

4.2. В клинику поступил ребенок с жалобами на усиленную жажду, частое мочеиспускание. Клинический анализ крови и общий анализ мочи патологических компонентов не обнаружили. Что можно применить для лечения ребенка?

А. Вазопрессин

Г. Тиреоидин

Б. Окситоцин

Д. Кортикостерон

В. Альдостерон

4.3. В эндокринологическое отделение поступила больная с жалобами на жажду, частое мочеиспускание, выраженную сухость кожных покровов. При анализе мочи качественной патологии не выявлено, плотность мочи 1,009. Для какого нарушения гормональной регуляции это характерно?

А. Несахарный диабет

Г. Тиреотоксикоз

Б. Стероидный диабет

Д. Микседема

В. Инсулярный диабет

4.4. При профосмотре у женщины выявлена скрытая форма диабета. Лабораторные анализы позволили врачу назначить диетотерапию со сниженным количеством углеводов и увеличение липотропных веществ. Какой основной метаболический эффект достигается такой диетой?

А. Повышение использования глюкозы на синтез жира в жировой ткани

Б. Снижение окисления жирных кислот в печени

В. Повышение использования глюкозы на синтез жира в печени

Г. Увеличение синтеза фосфолипидов и уменьшение отложения нейтрального жира в печени

Д. Снижение синтеза фосфолипидов

Задание 5. Инсулин и глюкагон — антагонисты. Вспомните механизм действия этих гормонов на углеводный и липидный обмены.

5.1. Пациент при лечении голоданием потерял 10 кг веса. Активация какого гормона привела к увеличению скорости катаболизма жиров при голодании?

А. Инсулин

Г. Альдостерон

Б. Соматостатин

Д. Окситоцин

В. Глюкагон

5.2. В клинику поступил больной без сознания. В выдыхаемом воздухе был запах ацетона, упругость тканей снижена (обезвоживание). Какой биохимический анализ будет вписываться в клиническую картину заболевания?

- А. Гипергаммаглобулинемия
- Б. Снижение содержания $\text{NH}_2\text{--CO--NH}_2$ в крови
- В. Наличие в моче $\text{CH}_3\text{--CH(OH)--CH}_2\text{--COOH}$.
- Г. Снижение удельного веса мочи
- Д. Снижение содержания аминокислот в крови

5.3. Вполне благополучный новорожденный, оставленный без кормления на длительный период, умер. Анализ взятого биопсией тканевого материала выявил отсутствие в печени фосфоенолпируваткарбоккиназы. Какой гормон индуцирует синтез этого фермента?

- А. Глюкагон
- Б. Тироксин
- В. Инсулин
- Г. Кортизол
- Д. Альдостерон.

5.4. Подростку, длительно страдающему гипогликемией, ввели глюкагон и не получили ответной реакции на гормон. Исследование ткани печени, взятой при биопсии, выявило дефект фермента. Назовите этот фермент:

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

5.5. У ребенка 2-го года жизни, страдающего мышечной слабостью, обнаружили увеличенную печень и низкий уровень глюкозы в крови натощак. После введения глюкагона гипергликемия не возникает. Исследование ткани печени, взятой при биопсии, выявило дефект фермента. Назовите этот фермент:

- А. α -Амилаза
- Б. Лактатдегидрогеназа
- В. Гликогенфосфорилаза
- Г. Гексокиназа
- Д. Фруктокиназа

Задание 6. Вспомните механизм действия гормонов коры надпочечников.

6.1. Девушка обратилась к врачу с жалобами на резкую мышечную слабость, головокружение, усиление пигментации кожи, потерю веса, сухость кожи, повышенный диурез. При обследовании установили сниженное артериальное давление, концентрация глюкозы крови 3,0 ммоль/л, повышенное выделение натрия с мочой. Назначение какого препарата может улучшить состояние больной?

- А. Инсулин
- Б. Глюкагон
- В. Тироксин
- Г. Альдостерон
- Д. Питуитрин (вытяжка из задней доли гипофиза)

6.2. Больной обратился с жалобами на общую утомляемость, головную боль, боль в спине и конечностях, исхудание конечностей и увеличение жировых отложений в области спины и шеи, постоянную жажду. При осмотре врач заподозрил синдром Иценко-Кушинга. Изменение уровня какого гормона в крови подтверждает предположение врача?

- А. Тироксина
- Б. Кортизола
- В. Альдостерона
- Г. Прогестерона

Задание 7. При заболевании сахарным диабетом нарушается усвоение глюкозы тканями и усиливается распад липидов. В результате дефицита ЦУК нарушается функционирование ЦТК и избыток молекул ацетил-КоА используется на синтез ацетоновых тел.

7.1. В клинику доставлена больная с сахарным диабетом в прекоматозном состоянии кетоацидотического типа. Увеличение содержания какого метаболита к этому привело?

- А. Малоната
- Б. Оксалоацетата
- В. α -Кетоглутарата
- Г. Ацетоацетата
- Д. Аспартата

Ответы к заданиям для самоконтроля знаний

Задание 1: 1.1-А, 1.2-В; Задание 2: 2.1-Г, 2.2-Д, 2.3-А; Задание 3: 3.1-А, 3.2-А; 3.3-А,Г, 3.4-Д;
Задание 4: 4.1-А, 4.2-А, 4.3-А, 4.4-Г; Задание 5: 5.1-В, 5.2-В, 5.3-Г, 5.4-Д, 5.5-В; Задание 6:
6.1-Г, 6.2-Б; Задание 7: 7.1-Г.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Внутрядерные рецепторы обнаружены для:

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

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

- | | |
|-------------------|------------------|
| А. Соматотропина | Г. Соматостатина |
| Б. Пролактин | Д. Лютропина |
| В. Соматолиберина | |

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

- | | |
|-------------------------------|------------------|
| А. Фосфолипаза А ₁ | В. Фосфолипаза С |
| Б. Фосфолипаза А ₂ | Г. Фосфолипаза Д |

Задание 4. Какой из нижеперечисленных гормонов не является стероидом?

- | | |
|----------------|------------------------------|
| А. Кортизол | Г. Лактогенный гормон |
| Б. Альдостерон | Д. Дигидроксихолекальциферол |
| В. Прогестерон | |

Задание 5. Какой из нижеперечисленных гормонов не является пептидом?

- | | | |
|------------------|----------------|-----------------|
| А. Окситоцин | В. Глюкагон | Д. Тиреолиберин |
| Б. Трийодтиронин | Г. Вазопрессин | |

Задание 6. G_s-белки стимулируют активность аденилатциклазы. Однако с течением времени этот эффект исчезает. Это обусловлено:

- А. АТФ-азной активностью α-субъединицы
- Б. АТФ-азной активностью γ-субъединицы
- В. Фосфодиэстеразной активностью G_s-белка
- Г. Фосфолипазной активностью G_s-белка
- Д. ГТФ-азной активностью α-субъединицы
- Е. АТФ-азной активностью γ-субъединицы

Задание 7. Фосфорилироваться в рецепторах гормонов могут аминокислоты, содержащие ОН-группы. Назовите киназу, которой не существует:

- | | |
|------------------------|---------------------------|
| А. Тирозинкиназа | Г. Тир/сер/тре-киназа |
| Б. Рецептор инсулина | Д. Рецептор соматотропина |
| В. Серин-треонинкиназа | Е. Тир/вал-киназа |

Задание 8. Выберите вторичный посредник действия окситоцина.

- | | | |
|---------------------|-------------------|----------------|
| А. Са ²⁺ | В. цГМФ | Д. Оксид азота |
| Б. цАМФ | Г. Диацилглицерол | Е. ИТФ |

Задание 9. Молодой пациент, страдающий инсулинзависимым диабетом, соблюдал рекомендации врача. Больной хорошо себя чувствовал. Однако при определении уровня глюкозы в крови у него была обнаружена выраженная гипергликемия (15 ммоль/л). Содержание гликозилированного гемоглобина HbA_{1c} составило 6,5%. Насколько компенсировано заболевание?

Комментарии. Несмотря на высокий уровень глюкозы содержание HbA_{1c} у больного было нормальным, т. е. за прошедшие несколько недель лечение диабета было эффективным. Наличие гипергликемии, как удалось выяснить при более подробном анамнезе, объяснялось обильным застольем накануне.

Задание 10. При анализе мочи у больного обнаружена выраженная глюкозурия. Вспомните, чему равен почечный порог для глюкозы. Укажите уровень гликемии, при котором глюкоза будет экскретироваться в мочу:

- А. 6 ммоль/л Б. 10 ммоль/л В. 15 ммоль/л Г. 40 ммоль/л

Задание 11. Выберите причину, по которой глюкозурия может отмечаться у больного с нормогликемией:

- А. Стресс Б. Голод В. Заболевания почек Г. Тиреотоксикоз

Лабораторная работа

В клинико-биохимических и аналитических лабораториях фармации используются методы качественного и количественного анализа для определения гормонов в биологическом материале и лекарственных препаратах.

Гормоны щитовидной железы

Щитовидная железа синтезирует и секретирует высокоактивные йодсодержащие тиреоидные гормоны: тироксин (Т₄) и 3,5,3'-трийодтиронин (Т₃), а также нейодированный гормон (полипептид) тиреокальцитонин, функция которого связана с регуляцией уровня кальция и фосфора в крови.

Работа 1. Качественная реакция на тироксин

Принцип метода. При разрушении тиреоидина образуется йодид калия, из которого йод легко вытесняется йодатом калия. Вытеснение йода из соли йодистоводородной кислоты является окислительно-восстановительной реакцией, где йодид калия служит восстановителем, а йодат калия (остаток йодноватой кислоты) — окислителем. Выделившийся йод обнаруживают с помощью крахмала (синее окрашивание) в кислой среде.

Ход работы. В пробирку наливают 24 капли гидролизата тиреоидина, прибавляют 3 капли 1%-ного раствора крахмала, 1 каплю фенолфталеина, а затем 4 капли йодата калия и приблизительно 10–15 капель 10%-ного раствора серной кислоты до обесцвечивания и появления синего окрашивания.

Гормоны поджелудочной железы

В поджелудочной железе вырабатывается ряд гормонов: инсулин, глюкагон и липокаин. Инсулин вырабатывается в β-клетках островков Лангерганса (от лат. *insula* — остров), откуда и получил свое название. Инсулин — белок, состоящий из двух полипептидных цепей, соединенных друг с другом дисульфидными связями.

Первичная структура инсулина полностью расшифрована и осуществлен химический синтез инсулина. Органы мишени для инсулина: печень, мышечная ткань, жировая ткань. Действие инсулина многообразно. Инсулин играет важную роль в метаболизме углеводов. Он

снижает содержание глюкозы в крови, увеличивает биосинтез гликогена в печени и мышцах, усиливает липогенез, т. е. образование жиров из углеводов, стимулирует синтез белков. Инсулин является антагонистом адреналина в регуляции синтеза и мобилизации гликогена.

Работа 2. *Цветные реакции на инсулин*

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

Биуретовая реакция

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

Нингидриновая реакция

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

Ксантопротеиновая реакция (Мульдера)

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

Реакция на тирозин (Миллона)

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

Реакция на аминокислоты, содержащие слабосвязанную серу (Фоля)

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

Гормоны мозгового слоя надпочечников

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

Работа 3. *Качественные реакции на адреналин*

Реакция с хлорным железом

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

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

Диазореакция

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

Ход работы. К 6 каплям 0,5%-ного раствора сульфаниловой кислоты прибавляют 6 капель 0,5%-ного раствора нитрита натрия (смесь диазореактива), 10 капель раствора

адреналина и 3 капли 10%-ного раствора едкого натра. Жидкость окрашивается в красный цвет.

Работа 4. **Флюоресценция продуктов окисления адреналина**

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

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

Гормоны половых желез

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

Женские половые гормоны — эстрогены — можно рассматривать как производные эстрана (углеводорода с 18 атомами углерода). Основными природными эстрогенами являются эстрадиол, эстрон и гормон желтого цвета — прогестерон.

Мужские половые гормоны — андрогены — можно рассматривать как производные андростана (углеводорода с 19 атомами углерода). К мужским половым гормонам относятся тестостерон и андростерон.

Работа 5. **Качественная реакция на фолликулин**

Принцип метода. Качественная реакция на фолликулин (эстрон) проводится с концентрированной серной кислотой и обусловлена образованием эфирного соединения соломенно-желтого цвета с зеленой флюоресценцией.

Ход работы. С масляным раствором фолликулина реакцию проводят при комнатной температуре. К 2 каплям масляного раствора фолликулина приливают 30 капель концентрированной серной кислоты. Постепенно развивается соломенно-желтое окрашивание

Вывод:

Работа 6. **Изучение влияния гормонов на содержание глюкозы в крови**

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

1. Определите содержание глюкозы в каждой из проб.

2. На основании полученных результатов сделайте вывод, какая из проб соответствует приведенным выше состояниям.

Определение концентрации глюкозы в пробах проводят **ферментативным (глюкозооксидазным) методом**. Параллельно ставят опытные и стандартную пробы.

Ход определения: Белки сыворотки крови осаждают депротеинизирующим реагентом. Глюкозу определяют в надосадочной жидкости после центрифугирования. Реактивы добавляют по следующей схеме:

	Опытная проба, мл	Стандартная проба, мл
В центрифужные пробирки вносят:		
Сыворотка крови	0,1	—
Стандартный раствор глюкозы	—	0,1
Депротеинизирующий раствор (3% ТХУ)	1,0	1,0
Перемешивают и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 минут		

В сухие пробирки вносят:		
Надосадочная жидкость	0,2	0,2
Рабочий раствор ферментов	2,0	2,0
Перемешивают и инкубируют реакционную смесь 10 мин при 37°С или 30 мин при комнатной температуре		

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

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

Расчет производят по формуле:

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

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

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

Результаты:

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

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

Вывод:

Подпись преподавателя

6. Тема занятия. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. НЕЗАМЕНИМЫЕ ФАКТОРЫ ПИТАНИЯ. ВИТАМИНЫ. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА. ВОДА. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА

Цель занятия: сформировать представление о биохимических механизмах использования компонентов пищи для поддержания нормальной жизнедеятельности организма, о патологических состояниях недостаточного питания. Изучить особенности строения и молекулярные механизмы действия водо- и жирорастворимых витаминов для последующего правильного их применения с профилактической и лечебной целями.

Получить представления о механизмах образования в клетках активных форм кислорода и способах антиоксидантной защиты. Познакомить студентов с методами обнаружения и количественного определения витаминов в лекарственном растительном сырье, продуктах питания и биологических жидкостях. Закрепить знания электролитного состава жидкостей организма, роли макро- и микроэлементов для последующего использования их в профессиональной деятельности.

Вопросы для обсуждения

1. Пищевая ценность белков, жиров, углеводов. Роль волокнистых полисахаридов для работы пищеварительного тракта и обменных процессов в организме. Незаменимые факторы питания.

2. Энергия — потребность, происхождение и расходование в организме.

3. Синдром недостаточного питания (квашиоркор и маразм).

4. Каротины, витамины А и Е, источники, биологическая роль, суточная потребность. Общие представления о свободнорадикальном окислении. Ферментативная и неферментативная антиоксидантная защита.

5. Химическая природа, коферментные формы, молекулярные механизмы действия витаминов: тиамин (В₁); рибофлавин (В₂); пантотеновой кислоты; ниацин (РР); пиридоксин (В₆); фолиевой кислоты (В₉); кобаламина (В₁₂), биотин (витамин Н), витамин С. Биологическая роль. Источники. Суточная потребность. Признаки недостаточности.

6. Витаминоподобные вещества: биофлавоноиды (вит. Р), холин, липоевая кислота, парааминобензойная кислота, витамин U, карнитин, инозитол, пангамовая кислота и др.

7. Методы оценки насыщенности организма витаминами.

8. Натрий, калий, кальций, фосфор. Роль в метаболизме, гормональная регуляция их обмена.

9. Роль железа в организме (всасывание, транспорт, внутриклеточный обмен). Железодефицитные состояния и железодефицитные анемии. Биохимические подходы к созданию лекарственных препаратов для лечения железодефицитных анемий.

10. Роль серы, меди, марганца, магния, кобальта, цинка, селена, йода и фтора в метаболизме тканей.

11. Механизмы действия гормонов, регулирующих водно-минеральный обмен (вазопрессина, натрий-уретического гормон, альдостерона).

12. Ренин-ангиотензиновая система и её роль в регуляции водно-солевого обмена.

Литература для подготовки

1. *Кухта В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович. М. – Мн., Бином, Асар, 2008. С. 87-131, 515-549.

2. *Березов Т. Т.* Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М. : Медицина, 1990. С. 147–164, 449–452, 476-478.

3. Биологическая химия: учебное пособие / А.Д. Таганович [и др.]. – Мн., Беларусь, 2013. С. 174-203.

4. *Конспект лекций.*

Задания для самоконтроля знаний

Задание 1. Выберите правильный ответ. Источниками энергии для организма человека в состоянии покоя являются:

А. Реально — углеводы 60 %

Г. Желательно — жир 40 %

Б. Желательно — алкоголь 3 %

Д. Реально — алкоголь 0 %.

В. Реально — белок 15 %

Задание 2. У больного после операции резекции тощей кишки, которая была произведена для удаления опухоли, в течение нескольких недель развилась гипоальбуминемия и отечность тканей. При осмотре больной не выглядел истощенным, но была заметна бледность кожных покровов. Какую патологию позволяют заподозрить врачу

эти симптомы? Какой подход можно было бы предложить для преодоления этого состояния у пациента?

Задание 3. Какие из нижеперечисленных соединений относятся к активным формам кислорода? Назовите их:

- | | | |
|------------------|---------------------------|------------------------|
| А. NO_2 | В. $\text{O}_2^{\cdot -}$ | Д. OH^{\cdot} |
| Б. CO | Г. H_2O_2 | Е. ONOO^- |

Задание 4. Укажите компоненты ферментативной антиоксидантной защиты клетки:

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

Задание 5. Выберите правильные ответы относительно участия витамина А в антиоксидантной защите организма:

- А. Ослабляет действие витамина Е
- Б. Препятствует окислению SH - содержащих белков
- В. Активирует включение селена в состав глутатионпероксидазы
- Г. Усиливает антиоксидантное действие токоферола
- Д. Взаимодействует со свободными радикалами различных типов
- Е. Активирует супероксиддисмутазу

Задание 6. Как было установлено, синдром Вернике-Корсакова, проявляющийся нарушением тонуса мышц конечностей, снижением умственной способности и дезориентацией, связан с нарушением прочной связи апофермента и кофермента в ферменте транскетолазе. Симптомы этого синдрома могут проявляться у алкоголиков вследствие снижения поступления в организм витамина. Назовите этот витамин и его коферментные формы. С какими ферментами, кроме транскетолазы, работает этот витамин?

Задание 7. У больного после перенесенного инфаркта в течение двух суток значительно увеличилась активность аспаратаминотрансферазы в крови. Указать кофермент данного фермента и тип катализируемой им реакции. Производным какого витамина является этот кофермент?

Задание 8. При недостатке фолиевой кислоты страдает прежде всего кроветворение и деятельность желудочно-кишечного тракта. Какие соединения входят в состав B_9 ? В реакциях какого типа участвует коферментная форма (назвать ее) этого витамина?

Задание 9. В состав каких хромопротеинов входит железо?

- | | |
|---|-------------------|
| А. Цитохрома P_{450} | Г. Церулоплазмина |
| Б. I и II комплексов дыхательной цепи | Д. Миоглобина |
| В. III и IV комплексов дыхательной цепи | |

Задание 10. После назначения препаратов селена в крови у пациента:

- А. Снизилось содержание продуктов ПОЛ
- Б. Увеличилось содержание продуктов ПОЛ
- В. Увеличилась активность глутатионпероксидазы эритроцитов
- Г. Снизилась активность глутатионпероксидазы эритроцитов

Задание 11. Во время тиреоидэктомии хирург не заметил расположенных в толще щитовидной железы парашитовидных желёз. У больного начались судороги. Почему?

- А. В результате падения содержания в крови тиреокальцитонина
- Б. В результате снижения содержания в крови паратирина
- В. Вследствие снижения содержания Ca^{++} в плазме крови
- Г. Вследствие увеличения содержания Ca^{++} в плазме крови

Задание 12. У больного нефритом развились отёки. Что может служить их основной причиной?

- А. Уменьшение содержания в крови альбуминов
- Б. Уменьшение содержания в крови глобулинов
- В. Увеличение содержания в крови белков острой фазы
- Г. Снижение концентрации глюкозы в плазме крови
- Д. Снижение концентрации натрия в плазме

Ответы к заданиям для самоконтроля знаний

Задание 1: В; Задание 2: Квасиоркор; Задание 3: В – супероксидный анион-радикал, Г – пероксид водорода, Д – гидроксильный радикал, Е – пероксинитрит; Задание 4: А, Б, Д; Задание 5: Б, В, Г, Д; Задание 6: В₁, его коферментные формы ТМФ, ТДФ (ТПФ), ТТФ; Задание 7: Пиридоксальфосфат, трансаминирование, В₆; Задание 8: Птеридин, парааминобензойная кислота, глутамат; перенос одноуглеродных фрагментов; ТГФК (тетрагидрофолиевая кислота); Задание 9: А, В, Д; Задание 10: А, В; Задание 11: А, В; Задание 12: А.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Потребность в белках определяется величиной энергозатрат — за счет белка организм должен получать 15 % всей расходуемой энергии. Чему равна потребность в белке человека умственного труда (энергозатрата 3000 ккал в сутки (12570 кДж)?

Задание 2. Какие из нижеперечисленных продуктов питания содержат много эйкозопентаеновой (ω -3) и докозагексаеновой кислот (ω -3) ?

- А. Креветки
- Б. Семга
- В. Грудное молоко человека
- Г. Соевое масло

Задание 3. Каким образом растворимые волокна в составе принимаемой пищи помогают снизить уровень холестерина в крови? Выберите правильный ответ.

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

Задание 4. Какой источник энергии обеспечивает 90 % глюкозы, необходимой в качестве топлива в течение первых нескольких дней голодания?

- А. Белок
- В. Гликоген
- Б. Кетоновые тела
- Г. Триацилглицеролы

Задание 5. Выберите правильные ответы относительно участия витамина Е в антиоксидантной защите организма:

- А. Защита от окисления двойных связей в молекулах каротинов и витамина А
- Б. Включение селена в состав активного центра глутатиопероксидазы
- В. Разобщение процесса тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования
- Г. Защита от окисления SH – групп мембранных белков
- Д. Мембраностабилизирующее действие
- Е. Сдерживание прооксидантного действия витамина С

Задание 6. Данные врачебного осмотра пожилой женщины соответствовали периферической нейропатии. Лабораторные анализы подтвердили недостаточность тиамин. Активность каких процессов снижена при данном гиповитаминозе?

- А. Трансаминирование аминокислот.
- Б. Декарбоксилирование аминокислот
- В. Окислительное декарбоксилирование α -кето кислот
- Г. Трансметилирование аминокислот
- Д. Окислительное дезаминирование аминокислот

Задание 7. Гиповитаминоз пантотеновой кислоты практически не встречается, т. к. она обнаружена повсеместно: в тканях животных, растений, микроорганизмов. Указать кофермент данного витамина, назвать тип реакций, в которых он участвует. Изобразить схематически строение коферментной формы пантотеновой кислоты.

Задание 8. Больному сделана операция резекции желудка, после чего вследствие недостаточности витамина В₁₂ у него развилась анемия. Назовите коферментные формы этого витамина. В каких реакциях они принимают участие?

Задание 9. К врачу обратился пациент с жалобами на воспалительные процессы кожи (дерматит), сопровождающиеся усиленной деятельностью сальных желез, выпадением волос — типичными признаками недостаточности витамина Н. Объясните, какие реакции обмена нарушаются при этом.

Задание 10. Муковисцидоз — наследственное заболевание, характеризующееся поражением желез внешней секреции. Клинически проявляется сгущением слизи в выводных протоках (главным образом, поджелудочной железы и бронхов). Этиология болезни — генетический дефект CFTR (перевод: кистозно-фиброзный транспортёр-регулятор), т. е. хлорного канала. Предложите способ лечения этого заболевания (на основании материала лекции).

Задание 11. Усвоить, что в случае снижения объёма крови включаются два механизма:

- 1) раздражаются рецепторы гипоталамуса, что приводит к активации синтеза вазопрессина;
- 2) раздражаются рецепторы юстагломерулярного аппарата почек, что сопровождается выбросом в кровотоки ренина.

Используя приведенную схему, рассмотрите основные эффекты гормонов и ренина.



Задание 12. Выберите функции, которые выполняет в организме железо:

- А. Транспорт и депонирование кислорода
- Б. Транспорт электронов в дыхательной цепи
- В. Обезвреживание пероксида водорода
- Г. Поддержание осмотического давления плазмы крови
- Д. Участие в окислительно-восстановительных реакциях

Лабораторная работа

Качественные реакции на витамины позволяют обнаружить их наличие в пищевых продуктах, в лекарственных препаратах и лекарственных растениях. Принцип, положенный в основу качественных реакций на витамины, используется при разработке количественного определения их в различных природных объектах и лекарствах, а также для изучения обеспеченности организма витаминами.

Работа 1. *Качественные реакции на витамин А (ретинол)*

Витамин А содержит β-ионовое кольцо и боковую цепь, состоящую из двух остатков изопрена и первичной спиртовой группы. Провитамин А является желтый пигмент растений – каротин. В организме каротин превращается в витамин А.

1.1. *Проба Друммонда*

Принцип метода. Метод основан на способности концентрированной H_2SO_4 отнимать воду от ретинола с образованием окрашенных продуктов реакции.

Ход работы. В сухую пробирку вносят 1 каплю ретинола ацетата и 5 капель хлороформа, перемешивают и добавляют 1 каплю конц. H_2SO_4 . Появляется голубое или красно-фиолетовое окрашивание, переходящее в буро-красное.

1.2. *Реакция с хлорным железом*

Ход работы. В сухую пробирку вносят 1 каплю ретинола ацетата и 5 капель хлороформа. Перемешивают и добавляют 3 капли хлорида железа. Появляется окрашивание.

Работа 2. *Качественные реакции на витамин Е (α-токоферол)*

2.1. *Реакция с азотной кислотой*

Принцип метода. Спиртовой раствор витамина Е в присутствии концентрированной азотной кислоты окисляется в хиноидное соединение, окрашенное в красный цвет.

Ход работы. В сухую пробирку вносят 6 капель 0,1% спиртового раствора витамина Е, добавляют несколько крупинок сахарозы. Осторожно по стенке пробирки прибавляют 10 капель конц. HNO_3 . Пробирку слегка встряхивают. Через 1–2 мин наблюдают красное или желтовато-красное окрашивание.

2.1. *Реакция с хлоридом железа*

Принцип метода. Спиртовой раствор α-токоферола окисляется $FeCl_3$ в токоферилхинон и раствор окрашивается в красный цвет.

Ход работы. В сухую пробирку берут 4–5 капель 0,1%-ного спиртового раствора α-токоферола, прибавляют 0,5 мл 1%-ного раствора $FeCl_3$, тщательно перемешивают. Содержимое пробирки приобретает красное окрашивание.

Работа 3. *Качественная реакция на витамин Д (кальциферол)*

Витамин Д относится к стероидам и является производным циклопентанпергидрофенантрена. В растительных продуктах содержится эргостерин, который при действии УФ-лучей превращается в витамин D_2 (эргокальциферол). В животных тканях распространен 7-дегидрохолестерол, который под действием УФ-лучей превращается в витамин D_3 (холекальциферол).

3.1. *Анилиновая проба*

Принцип метода. Метод основан на взаимодействии кальциферола с гидрохлоридом анилина с образованием продуктов реакции окрашенных в красный цвет.

Ход работы. В сухую пробирку вносят 2 капли масляного раствора эргокальциферола, 10 капель хлороформа и 1–2 капли анилинового реактива, осторожно нагревают при постоянном помешивании и кипятят полминуты. При наличии витамина Д желтая эмульсия приобретает сначала зеленый, а затем красный цвет.

Работа 4. *Качественная реакция на витамин К (нафтохинон)*

Известны два природных витамина K_1 и K_2 , являющиеся производными нафтохинона. Искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина K_1 -викасол обладает биологической активностью витамина.

4.1. *Качественная реакция на нафтохинон*

Принцип метода. Метод основан на взаимодействии диэтилдитиокарбамата с витамином К в щелочной среде с образованием комплекса голубого цвета.

Ход работы. В пробирку вносят 4 капли спиртового раствора витамина К, добавляют 8 капель 2%-ного спиртового р-ра диэтилдитиокарбамата натрия и 4 капли 4%-ного спиртового р-ра NaOH. Встряхивают и наблюдают за развитием голубой окраски.

4.2. Качественная реакция на викасол

Принцип метода. Викасол в присутствии цистеина в щелочной среде окрашивается в лимонно-желтый цвет.

Ход работы. На сухое часовое стекло наносят 5 капель раствора викасола, добавляют 5 капель раствора цистеина и 1 каплю 10%-ного едкого натра. Появляется лимонно-желтое окрашивание.

Работа 5. Качественные реакции на витамин В₁

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

5.1. Реакция окисления

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

Ход работы. К 1 капле 5%-ного раствора тиамин прибавляют 5–10 капель 10%-ного раствора едкого натра, 1–2 капли 5%-ного раствора феррицианида калия и взбалтывают смесь. После прогревания флюороскопа наблюдают синюю флюоресценцию при облучении раствора ультрафиолетовыми лучами.

5.2. Диазореакция

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

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

Работа 6. Качественная реакция на витамин В₂

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

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

Работа 7. Качественная реакция на витамин РР

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

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

Работа 8. Качественная реакция на витамин В₆

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

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

Работа 9. **Качественная реакция на витамин В₁₂**

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

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

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

Работа 10. **Количественное определение витамина С**

Определение содержания аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах и лекарственных растениях необходимо для составления правильного рациона, удовлетворяющего потребность организма в этом витамине. Богаты витамином С цитрусовые, капуста, картофель, хвоя, плоды шиповника, рябины черноплодной, черной смородины и др.

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

10.1. Определение содержания витамина С в плодах шиповника

Метод используется в Государственной Фармакопее при определении содержания витамина С в плодах шиповника.

Ход работы. В коническую колбу отвешивают 5 г растительного сырья (мелко измельченных плодов шиповника) и добавляют 50 мл дистиллированной воды. Полученную смесь настаивают 10 мин, затем размешивают и фильтруют. В коническую колбу вместимостью 100 мл вносят 1 мл полученного фильтрата, 1 мл 2%-ного HCl, 13 мл воды, перемешивают и титруют из микробюретки 0,001н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски, сохраняющейся в течение 30–60 с.

Для расчета содержания аскорбиновой кислоты используют формулу:

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

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

В 100 г плодов шиповника (розы собачьей) содержится 800 мг витамина С.

Ответ:

Вывод:

10.2. Определение содержания витамина С в моче

Определение содержания витамина С в моче дает представление о запасах этого витамина в организме, так как имеется соответствие между концентрацией витамина в крови и количеством этого витамина, выделяемым с мочой. Однако при гиповитаминозе С

содержание аскорбиновой кислоты в моче не всегда понижено. Часто оно бывает нормальным, несмотря на большой недостаток этого витамина в тканях и органах.

У здоровых людей введение *per os* 100 мг витамина С быстро приводит к повышению его концентрации в крови и в моче. При гиповитаминозе С ткани, испытывающие недостаток в витамине, задерживают принятый витамин С и его концентрация в моче не повышается. Моча здорового человека содержит 20–30 мг/сутки витамина С или 113,55–170,33 мкмоль/сут. У детей уровень этого витамина понижается при цинге, а также при острых и хронических инфекционных заболеваниях.

Ход работы. В стаканчик или колбочку отмеривают 10 мл мочи и 10 мл дистиллированной воды, перемешивают, подкисляют 20 каплями 10%-ного раствора хлористоводородной кислоты и титруют 0,001н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до розовой окраски. Для расчета содержания аскорбиновой кислоты в моче используют формулу:

$$x = \frac{0,088 \cdot A \cdot B}{B},$$

где x — содержание аскорбиновой кислоты в мг/сут; 0,088 — количество аскорбиновой кислоты (мг) соответствующее 1 мл 2,6-дихлорфенолиндофенола; A — результат титрования 0,001н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола, мл; B — объем мочи, взятый для титрования, мл; B — среднее суточное количество мочи (для мужчин 1500 мл, для женщин 1200 мл).

Ответ:

Вывод:

Работа 11. *Количественное определение витамина Р в чае*

Действие витаминов Р и С взаимосвязано. Терапевтическое действие витамина С более эффективно в присутствии витамина Р. Рутин — кристаллическое вещество желто-оранжевого цвета. Содержится в тех же продуктах, что и витамин С. Количественное определение витамина Р проводят в вытяжке из чая.

Принцип метода. Рутин способен окисляться перманганатом калия; в качестве индикатора применяется индигокармин, который вступает в реакцию с перманганатом калия после того, как окислится весь рутин.

Ход работы. К 100 мг чая приливают 50 мл горячей дистиллированной воды и проводят экстракцию в течение 5 мин. 10 мл экстракта чая отмеривают в стаканчик или колбочку, добавляют 10 мл дистиллированной воды и 5 капель индигокармина (появляется синее окрашивание). Титруют из микробюретки 0,05 н. раствором KMnO_4 до появления устойчивой желтой окраски.

Определяют процентное содержание рутина в чае. Расчет проводят по следующей формуле:

$$x = \frac{3,2 \cdot A \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot P \cdot 1000},$$

где x — содержание витамина Р в препарате, %; 3,2 — стандартный перерасчетный коэффициент; A — результат титрования 0,05 н. раствором перманганата калия, мл; V_1 — объем, в котором растворена взятая для анализа навеска, мл; 100 — общее количество вещества для расчета процентного содержания, г; V_2 — объем раствора, взятого для

титрования, мл; Р – навеска, мг; 1000 – перевод микрограммов в миллиграммы ($P = 30 - 50$ мг/100 г).

Ответ:

Вывод:

Подпись преподавателя:

7. Тема занятия. ВВЕДЕНИЕ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКУЮ БИОХИМИЮ. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ И ЭНДОГЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Цель занятия: Научится использовать знания о роли печени в обмене веществ для понимания биохимических аспектов фармакологии и токсикологии. Изучить пути поступления, транспорта, механизмы биотрансформации и выведения ксенобиотиков и эндогенных соединений из организма. Ознакомиться с качественными реакциями на функциональные группы некоторых лекарственных препаратов и научиться оценивать содержание продуктов их метаболизма в моче. Уметь правильно оценить функциональное состояние печени с использованием различных биохимических тестов. Освоить методику определения содержания общего билирубина в сыворотке крови.

Вопросы для обсуждения

1. Биохимия и фармация. Биогенные и синтетические лекарственные средства. Биохимические методы, используемые в анализе и контроле качества лекарственных средств.

2. Фармакокинетика. Всасывание и транспорт лекарственных веществ. Специфические и неспецифические транспортные системы крови. Распределение в тканях. Факторы, влияющие на процессы фармакокинетики.

3. Обезвреживание веществ в организме. Функции печени. Роль печени в пигментном обмене, в обезвреживании токсичных веществ, естественных метаболитов и лекарственных препаратов (НСПВ, гормональные, антикоагулянты и др.). Биохимические методы диагностики нарушений функций печени.

4. Фазы метаболизма (биотрансформации) веществ. Изменения активности и токсичности веществ в процессе метаболизма.

5. Реакции окисления, восстановления, гидролиза. Микросомальная система окисления, роль цитохрома P₄₅₀.

6. Метаболизм экзогенного этанола. Биологическое значение НАД – зависимой алкогольдегидрогеназы, P₄₅₀ – зависимой микросомальной этанолюкисляющей системы, каталазы.

7. Фаза конъюгации в системе обезвреживания эндогенных соединений и лекарственных препаратов. Виды конъюгации (глюкуронирование, ацелирование, метилирование, сульфатирование и гидратация), ферменты. Примеры реакций с глицином, ФАФС, УДФ – глюкуроновой кислотой,

8. Выведение лекарственных препаратов из организма. Роль Р – гликопротеина, металлотионеина.

Литература для подготовки

1. *Кухта В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович. М. – Мн., Бином, Асар, 2008. С. 607– 612
2. Биологическая химия: учебное пособие /А.Д. Таганович [и др.]. – Мн., Беларусь, 2013. С. 160–166, 235–250.
3. *Северин Е.С.* Биохимия / под ред. Е. С. Северина. 4-е изд., испр. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 238–245, 616 –631.
4. Конспект лекций.

Задания для самоконтроля знаний

Задание 1. Процесс поглощения клеткой жидкости и растворенных в ней веществ, называется _____.

Задание 2. Перенос вещества из среды в клетку вместе с частью плазматической мембраны, называется:

- | | |
|--------------|---------------------|
| А. Эндоцитоз | В. Активный симпорт |
| Б. Экзоцитоз | Г. Простая диффузия |

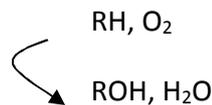
Задание 3. Облегченная диффузия:

- А. Происходит при участии специальных белковых структур по градиенту концентрации
- Б. Использует в качестве источника энергии АТФ
- В. Не требует специальных переносчиков
- Г. Использует в качестве источника энергии градиент концентрации одного из переносимых веществ

Задание 4. Найдите верное утверждение:

- А. В результате метаболизма лекарственного вещества повышается его растворимость в воде;
- Б. В результате биотрансформации вещества может изменяться его фармакологическая активность или токсичность;
- В. Под действием монооксигеназ образуются реакционно-способные ОН – группы;
- Г. Чувствительность к лекарственным препаратам не зависит от возраста и пола.

Задание 5. Знайте основы функционирования микросомальной системы окисления как пути метаболизма эндогенных и чужеродных соединений:



Таким способом гидроксилируются стероиды в процессе образования гормонов коры надпочечников, ряд лекарственных препаратов и чужеродных соединений.

В результате гидроксирования уменьшается токсичность и повышается растворимость ксенобиотиков, что способствует выведению их из организма. Многие лекарственные вещества, например, фенобарбитал, способны индуцировать синтез микросомальных ферментов и цитохрома P₄₅₀.

5.1. Выберите предложения, которые правильно характеризуют «микросомальное» окисление:

А. «Микросомальное» окисление происходит в гладком ЭПР печени и других органах, а также митохондриях коры надпочечников и половых желез.

Б. НАДН+Н⁺ не является донором водорода для реакции «микросомального» окисления.

В. Главные ферменты системы – цитохромы а, а₃.

Г. Для образования гидроксильной группы в модифицируемом гидрофобном веществе используется атом кислорода молекулы воды.

Задание 6. Знайте, что фаза конъюгации необходима для образования не токсичных, хорошо растворимых в воде конъюгатов, которые легко выводятся из организма.

6.1. Выберите правильный ответ. Конъюгация включает в себя:

А. Взаимодействие с глутатионом

Б. Взаимодействие с S-аденозилметионином

В. Взаимодействие с гидроксильным радикалом

Г. Взаимодействие с ацетил-КоА

Д. Взаимодействие с УДФ – глюкуроном

Е. Взаимодействие с глицином

Задание 7. Подберите соответствия:

1. Образуется под действием метил-трансферазы.

А. Билирубинглюкуронид.

2. Конечный продукт обезвреживания аспирина.

Б. Метилгистамин.

3. Образуется под действием УДФ-глюкуронилтрансферазы.

В. Эпоксид бензантрацена.

4. Канцероген.

Г. Индоксилсульфат.

5. Конечный продукт обезвреживания триптофана.

Д. Глюкуронид салициловой кислоты.

Задание 8. Выберите правильный ответ. К ферментам конъюгации относятся:

А. Сульфотрансферазы

Б. Фосфоорилазы

В. Метилтрансферазы

Г. Ацетилтрансферазы

Д. Глутатионредуктазы

Е. УДФ – глюкуронилтрансферазы
Ж. Глутатиотрансферазы

Задание 9 . Подберите соответствия:

- | | |
|-----------------------|--|
| А. Прямой билирубин | 1. Плохо растворим в воде |
| Б. Непрямой билирубин | 2. Токсичен |
| | 3. Легко выводится из организма |
| | 4. Является продуктом распада гема |
| | 5. Транспортируется кровью в комплексе с альбуминами |
| | 6. Представляет собой комплекс с глюкуроновой кислотой |

Ответы к заданиям для самоконтроля знаний:

1 пиноцитоз; 2А; 3А; 4А, Б, В; 5.1. А,Б; 6.1.А,Б,Г,Д,Е; 7. 1Б, 2Д, 3А, 4В, 5Г;
8А,В,Г,Е,Ж; 9 А 3,4,6; Б 1,2,4,5.

Задания для самостоятельной работы

Задание 1. Расставьте в правильной последовательности этапы фармакокинетики лекарственных препаратов в организме:

- А. Выведение из организма
- Б. Всасывание
- В. Распределение в тканях
- Г. Перенос кровью
- Д. Связывание с белками плазмы крови
- Е. Взаимодействие с рецепторами
- Ж. Метаболизм

Задание 2. Выберите верное утверждение:

- А. Важнейшим свойством ферментов микросомного окисления является их широкая субстратная специфичность
- Б. Цитохром P₄₅₀ имеет различные изоформы
- В. Индукторы ферментов микросомного окисления являются гидрофильными веществами
- Г. Стероиды не являются индукторами цитохромов P₄₅₀.

Задание 3. Рассмотрите основной путь метаболизма этилового спирта. Запомните, что этанол окисляется, главным образом, в печени, где при участии НАД-зависимых дегидрогеназ, последовательно превращаясь в уксусный альдегид и уксусную кислоту, приводит к увеличению соотношения НАДН·Н⁺ /НАД⁺. Объясните, почему при алкогольном токсикозе наблюдается гиперлактатемия и гипогликемия. Как изменится в этих условиях концентрация пирувата и лактата в клетках печени? Напишите реакции, подтверждающие указанные явления.

Задание 4. Больной, принимающий одновременно неодикумарин и фенobarбитал, самовольно без разрешения врача прекратил прием фенobarбитала. К чему это может привести? Ответ аргументируйте.

Задание 5. Для предотвращения развития гипербилирубинемии у новорожденного вследствие несовпадения у матери и ребенка резус-фактора беременной перед родами рекомендован фенобарбитал. Выберите ответ, объясняющий, с какой целью в данном случае был назначен этот препарат:

- А. В качестве снотворного средства
- Б. Для инактивации компонентов микросомного окисления
- В. Для снижения растворимости билирубина
- Г. Как индуктора печеночных ферментов микросомного окисления
- Д. В качестве липотропного средства

Задание 6. При лабораторном обследовании больного желтухой получены следующие данные: общее содержание в сыворотке крови билирубина — 60 мкмоль/л, прямого билирубина — 43 мкмоль/л, в моче определяется прямой билирубин, и отсутствуют уробилин и стеркобилин. Какой вид желтухи у данного больного?

- А. Паренхиматозная
- Б. Гемолитическая
- В. Обтурационная

Задание 7. Для оценки функционального состояния печени у больного исследована экскреция животного индикана. Индикан образуется в результате обезвреживания в печени индоксила — продукта гниения аминокислоты триптофана в толстом кишечнике. Какое вещество участвует в обезвреживании этого токсического соединения?

- А. ФАФС
- Б. УДФ-глюкуроновая кислота
- В. Глицин
- Г. Церулоплазмин
- Д. Таурин

Лабораторная работа

Работа 1. Обнаружение пенициллина в препарате «Бензилпенициллина натриевая соль»

1.1. Открытие пенициллина реакцией с гидросиламином

Принцип метода: При нагревании пенициллина и гидросиламина раскрывается лактамное кольцо пенициллина с образованием α -гидроксамовой кислоты, дающей с хлорным железом продукт конденсации красного цвета.

Ход работы: К 5 каплям 0,5% водного раствора пенициллина добавить 2 капли 5 % раствора гидросиламина и смесь нагреть до кипения. После охлаждения прибавить 1 каплю 5% раствора хлорного железа. Появляется розовое или красное окрашивание.

1.2. Нитропруссидная реакция на пенициллин

Принцип метода: При щелочном гидролизе пенициллина происходит освобождение сульфгидрильных групп, взаимодействующих с нитропруссидом натрия с образованием нестойкого соединения красного цвета.

Ход работы: К 2 каплям раствора пенициллина добавить 2 капли концентрированного раствора едкого натра и кипятить 1-2 мин. После охлаждения добавить по каплям раствор нитропрусида натрия. Наблюдать появление красного окрашивания, переходящего в оранжевое и желтое.

Работа 2. Обнаружение стрептомицина в препарате «Стрептомицина сульфат»

2.1. Мальтольная реакция на стрептомицин

Принцип метода: реакция основана на способности стрептомицина гидролизаться щелочью с образованием мальтола (α -метил- β -оксипирона), дающего характерное окрашивание с ионами трехвалентного железа.

Ход работы: К 3 каплям раствора стрептомицина добавить 1 каплю раствора едкого натра и смесь прокипятить в течение 5-10 сек. Пожелтевшую и слегка мутную жидкость нейтрализовать 2 каплями раствора соляной кислоты. Нейтральная жидкость становится

центрифугируют 15 мин при скорости 3000 об/мин. Затем сливают надосадочную жидкость в другую пробирку и добавляют к ней 0,25 мл диазореактива. При этом появляется красно-розовое окрашивание, интенсивность которого определяют через 10 минут, измеряя оптическую плотность пробы против воды в кювете шириной 5 мм при зеленом светофильтре (500–560 нм). Параллельно колориметрируют стандартный раствор азобилирубина, соответствующий концентрации билирубина 0,4 мг% ($C_{ст}$).

Расчет производят по формуле:

$$C_{оп} (\text{мг}\%) = E_{оп} \cdot C_{ст} / E_{ст}$$

В норме концентрация общего билирубина в плазме (сыворотке) крови составляет 0,5–1,2 мг% (8,55–20,52 мкмоль/л). 75 % его количества приходится на долю непрямого билирубина.

Ответ:

Клинико-диагностическое значение исследования пигментного обмена. Один из важных признаков нарушения пигментного обмена — появление желтухи, которое отмечается обычно при уровне билирубина в крови 27–34 мкмоль/л и более. Кровь новорожденных, особенно недоношенных детей, отличается более высоким содержанием билирубина (физиологическая желтуха). Наблюдаемое со 2–3-го до 7–10-го дня жизни увеличение концентрации билирубина, в основном за счет непрямого, связано с функциональной недостаточностью печени, в частности, малой активностью фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы, необходимого для образования прямого билирубина.

Гемолитическая желтуха (надпеченочная) — усиление гемолиза эритроцитов, что приводит к усиленному образованию неконъюгированного билирубина, так как печень не успевает его связывать.

Паренхиматозная желтуха (печеночная) — нарушение функции печеночных клеток. Может быть вызвана также наследственно обусловленными дефектами в процессах транспорта билирубина и образования диглюкуронида билирубина.

Механическая желтуха (обтурационная, подпеченочная) — задержка оттока желчи. Возникает при переполнении желчных путей вследствие закупорки, разрыва их и последующего перехода желчи в кровь.

Тяжесть желтухи обычно соответствует уровню билирубинемии. Принято считать, что желтуха протекает в легкой форме, если содержание билирубина в плазме (сыворотке) не превышает 85 мкмоль/л; уровень его 86–169 мкмоль/л свидетельствует о среднетяжелой, а свыше 170 мкмоль/л — о тяжелой форме желтухи.

Вывод:

Подпись преподавателя

ОГЛАВЛЕНИЕ

Тема 1. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ. ФЕРМЕНТЫ.

Тема 2. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ И БИОЭНЕРГЕТИКУ. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ И ЛИПИДОВ.

Тема 3. ОБМЕН ПРОСТЫХ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ.

Тема 4. ХИМИЯ И ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Тема 5. ГОРМОНЫ. РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ.

Тема 6. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. НЕЗАМЕНИМЫЕ ФАКТОРЫ ПИТАНИЯ. ВИТАМИНЫ. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА. ВОДА. ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА

Тема 7. ВВЕДЕНИЕ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКУЮ БИОХИМИЮ. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ И ЭНДОГЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Таганович Анатолий Дмитриевич
Рутковская Жанна Александровна
Василькова Татьяна Владимировна
Ковганко Николай Николаевич
Котович Ирина Леонидовна
Принькова Татьяна Юрьевна
Колб Александр Владимирович
Девина Елена Анатольевна

**Руководство к практическим занятиям по биологической химии для студентов
фармацевтического факультета (заочная форма обучения)**

Ответственный за выпуск Ж.А.Рутковская
В авторской редакции
Компьютерный набор
Компьютерная верстка

Подписано в печать
Издатель и полиграфическое исполнение:
Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»