

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**РУКОВОДСТВО К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ  
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ (часть 2)**

Редакция №2

Владикавказ 2018

Руководство к практическим занятиям по биологической химии  
разработано коллективом кафедры биологической химии  
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России

Составители:

зав. кафедрой биохимии, к.м.н., доцент - Гурина А.Е.,  
доцент Каряева Э.А., доцент Лолаева А.Т.,  
асс. Габолоева Н.А., асс. Кулаева И.О., асп. Урумова М.Р., Дигурова А.В., асс. Медоева Н.С.

Рецензенты:

Заведующий кафедрой химии и физики ФГБОУ ВО СОГМА  
Минздрава России Калагова Р. В.  
зав. кафедрой технологии продуктов общественного  
питания ФГБОУ ВО «СКГМИ (ГТУ)»,  
д.с.-х.н., проф. Темираев Р.Б.

## Раздел V. «ОБМЕН ЛИПИДОВ»

### ЗАНЯТИЕ №1

#### ТЕМА: ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ ЛИПИДОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ. ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ В КРОВИ ХИЛОМИКРОНАМИ.

##### I. Научно-методическое обоснование темы:

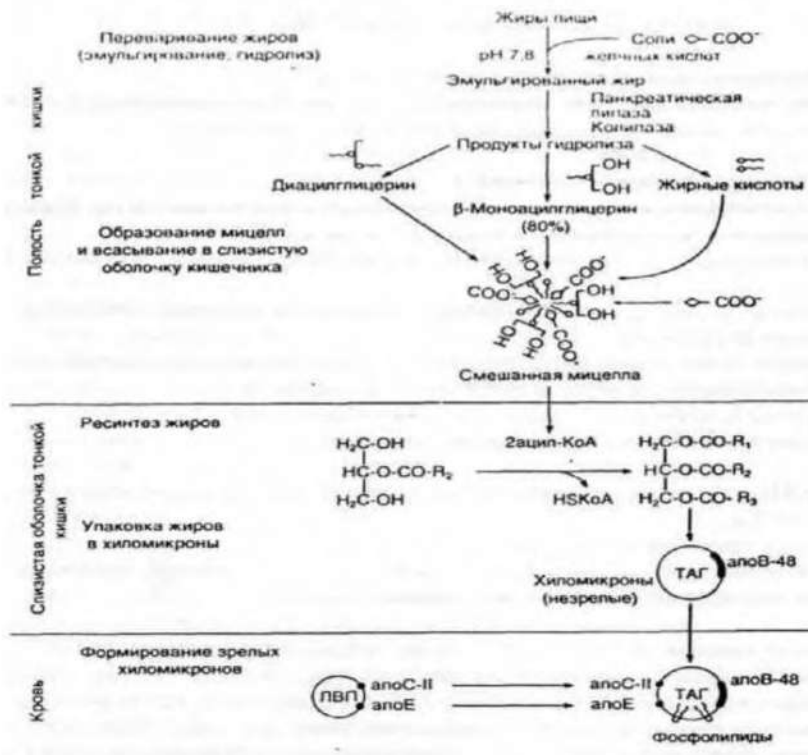
Пищевые липиды на 90% представлены триацилглицеринами (ТАГ), меньший процент приходится на сложные липиды: глицерофосфолипиды, гликолипиды, холестерин и его эфиры. Вместе с пищевыми веществами поступают незаменимые факторы: жирорастворимые витамины и полиеновые (эссенциальные) жирные кислоты. Суточная потребность липидов колеблется 80-110 г/сутки и зависит от возраста, пола и тяжести выполняемой работы. Попадая в желудочно-кишечный тракт, пищевые жиры подвергаются ферментативному гидролизу, а продукты их расщепления усвоению. Жиры гидрофобны, поэтому предварительно подвергаются диспергированию (эмульгированию). Весь процесс расщепления и всасывания продуктов гидролиза осуществляется в несколько этапов:

1. Эмульгирование липидов.
2. Частичный, ступенчатый гидролиз.
3. Мицеллообразование, всасывание продуктов гидролиза.
4. Активация и ресинтез липидов в энтероцитах.
5. Образование транспортных форм липидов (ХМ).

Указанные этапы и основные условия гидролиза липидов

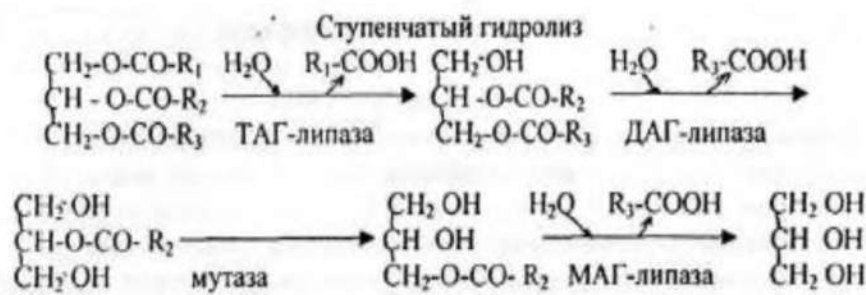
можно отобразить в виде схемы (стр. 14).

1. Эмульгирование - это физический процесс, увеличивающий дисперсность жировых капель. Ему способствуют поверхностноактивные вещества (ПАВ). В организме к ПАВ относятся желчные кислоты, фосфолипиды, поступающие в двенадцатиперстную кишку с желчью, бикарбонаты поджелудочного сока, мыла. Желчные кислоты синтезируются в печени (первичные) путем гидроксигликирования циклопентанпергидрофенантенового кольца холестерина: холевая, хенодезоксихолевая. Чаще желчные кислоты конъюгируются через карбоксильную группу с азотистыми основаниями (гликоколом, таурином), образуя гликохолевую, тау

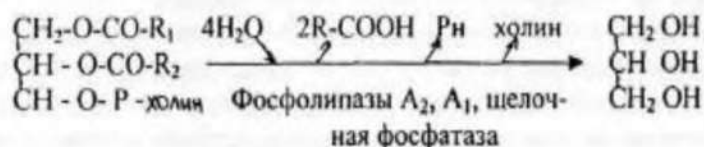


рохоловую кислоты. Желчные кислоты могут быть в виде натриевых и калиевых солей. Синтез желчных кислот может осуществляться в кишечнике при участии кишечной флоры (вторичные желчные кислоты). К ним относятся дезоксихолевая, литохолевая. Желчные кислоты амфифильные соединения, гидрофобная часть которого представлена стероидным циклом, а гидрофильная - боковым углеводородным радикалом, имеющим карбоксил и азотистые основания. Гидрофобная часть молекулы желчных кислот взаимодействует с каплей липида; на поверхности комплекса находится гидрофильный радикал. Следовательно, этот комплекс находится во взвешенном состоянии, а стабильность определяется снижением поверхностного натяжения капельки жира. Таким образом, диспергируя липиды, увеличивается площадь контакта его с ферментом, облегчая их взаимодействие.

2. Эмульгированные липиды подвергаются частичному гидролизу комплексом ферментов III класса (гидролазы), подклассом эстеразы, подподклассом карбоксиэстеразы. Источником ферментов является сок поджелудочной железы, изливающийся в 12- перстную кишку. Липолитические ферменты активируются коли-пазой и желчными кислотами. Панкреатическая липаза расщепляет в ТАГ эфирные связи в а и а<sub>1</sub> положениях, поэтому основными продуктами переваривания липидов являются Р-моноглицериды и свободные жирные кислоты (СЖК).



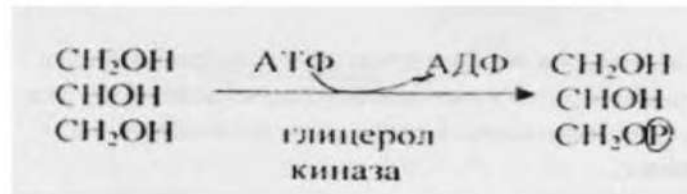
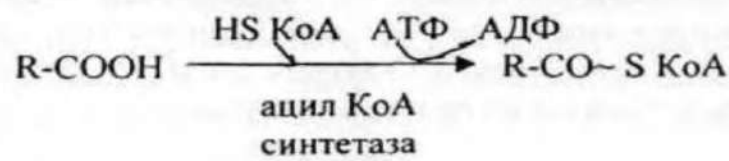
Полному гидролизу подвергаются 40% ТАГ. Сложные липиды подвергаются расщеплению ферментами поджелудочного сока - фосфолипазами.



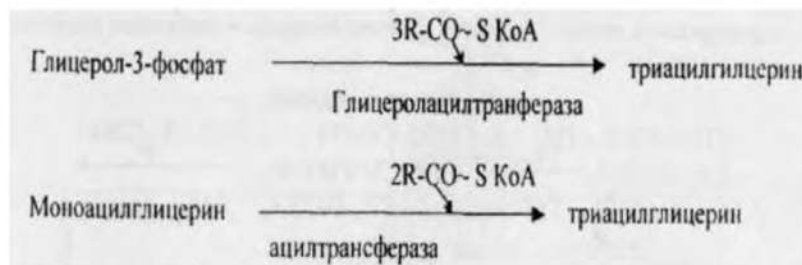
Стериды расщепляются специфическим ферментом - холес- теринэстеразой до холестерина и жирной кислоты.

3. Процесс всасывания продуктов расщепления жирорастворимых витаминов холестерина происходит с участием желчных кислот, образуются смешанные мицеллы, которые проникают через апикальную мембрану слизистой кишечника. В энтероцитах мицеллы распадаются на продукты гидролиза и свободные желчные кислоты. Последние вновь попадают в печень и экскрети- руются в кишечник. Продукты гидролиза в слизистой кишечника активируются и включаются в процесс ресинтеза.

Активация продуктов гидролиза:



Ресинтез идет двумя путями: а) глицеролфосфатный (вовлекаются в процесс продукты полного гидролиза) б) синтез жира из моно-, диглицеридов и активированных жирных кислот. Образуются липиды специфичные по составу для каждого организма. Это важно, так как в этерифицированном состоянии жирные кислоты улавливаются из крови липоцитами.



В слизистой кишечника ресинтезируются и сложные липиды.

1. Ресинтезированные простые и сложные липиды, холестерин, его эфиры, жирорастворимые витамины образуют комплекс с апопротеином В<sub>48</sub> и формируются транспортные формы - незрелые хиломикроны (ХМ). Всасываются хиломикроны в лимфу и через грудной лимфатический проток попадают в кровь. Хило-микроны транспортируют 85% ТАГ, 6% холестерина и его эфиров, 7% ФЛ в комплексе с белком - 2%. Это крупные, но очень легкие частицы с d - 100 - 500 нмк. В крови незрелые ХМ получают от ЛПВП, образующихся в печени, апопротеины С<sub>п</sub> и апо Е, превращаясь в зрелые. Далее в кровотоке ХМ подвергаются действию фермента липопротеинлипаза, который локализуется на поверхности эндотелия сосудов. Активируется и освобождается этот фермент с помощью гепарина (фактор просветления). Маркерным белком для фермента является апо С<sub>п</sub>. Около 50% ХМ утилизируются в легких, являющихся первым паренхиматозным органом, встречающимся на их пути. Здесь они используются для обогрева вдыхаемого воздуха и синтеза сурфактантов. Остальные ХМ через большой круг кровообращения приносятся к адипоци- там. Активная липопротеинлипаза гидролизует ТАГ ХМ до глицерина и свободных жирных кислот. Глицерин транспортируется в печень, а жирные кислоты в комплексе с транспортным альбумином приносятся к тканям, где они окисляются, образуя энергию или депонируются в виде ТАГ. Структуры, образовавшиеся из ХМ называются ремнантными или остаточными ХМ. Они захватываются клетками печени и связываются с рецептором посредством апо Е. В печени остаточные ХМ подвергаются лизосомальному гидролизу с высвобождением холестерина, жирных кислот, аминокислот. Следовательно, функция ХМ заключается в транспорте экзогенных пищевых липидов из кишечника в ткани.

## II. Цель деятельности студентов на занятии:

*Студент должен знать:*

1. Основные этапы переваривания различных липидов.
2. Механизмы всасывания продуктов их гидролиза.

*Студент должен уметь:*

1. Сравнить поверхностное натяжение воды и желчи.
2. Сравнить влияние различных ПАВ на эмульгирование жира.
3. Проанализировать гидролиз жира.

### III. Содержание обучения.

**Основные вопросы:**

1. Общая характеристика липидов.
2. Пищевые липиды и их судьба на уровне желудочно-кишечного тракта.
3. Основные этапы гидролиза экзогенных липидов.
4. Эмульгирование, участие в этом процессе ПАВ, включая желчные кислоты.
5. Ферменты, осуществляющие гидролиз простых и сложных липидов, ступенчатый гидролиз.
6. Механизм всасывания гидрофобных продуктов расщепления липидов.
7. Синтез липидов и формирование хиломикрон.
8. Понятие о незрелых и зрелых хиломикронах.
9. Характеристика белкового компонента ХМ.

**Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.**

1. Жиры в питании детей.
2. Особенности превращения жиров в желудочно-кишечном тракте у детей.
3. Нарушение превращения и всасывания липидов.

### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

**Лабораторные работы:**

1. Эмульгирование жира.
2. Влияние желчи на поверхностное натяжение воды.
3. Влияние желчи на активность липазы.

### V. Наименование лабораторной работы.

**Лабораторные работы:**

**Оснащение занятия**

**Оборудование и реактивы:**

1. Желчь разведенная.
2. Яичный белок - 1% раствор.
3. Мыло - 1% раствор.
4. Углекислый натрий - 1% раствор.
5. Растительное масло.
6. Молоко кипяченое, разведенное вдвое водой.
7. Фенолфталеин - 0,5% спиртовой раствор.
8. Желчь.
9. Вытяжка из поджелудочной железы.
10. Пипетка градуированная на 2 мл.
11. Водяная баня с термометром.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

### Эмульгирование жира

**Принцип метода:** Под действием желчи, белка, мыла или соды жир распадается на мельчайшие капли, образуя эмульсию. Образование эмульсии обусловлено тем, что на пограничной поверхности жировых капелек располагаются частицы поверхностно-активных веществ (детергентов), которые окружают капельку жира и препятствуют их слиянию.

**Порядок выполнения работы:** В пробирку 1 наливают 20 капель дистиллированной воды, в пробирку 2-20 капель желчи, разведенной в два раза, в пробирку 3-20 капель 1% раствора яичного белка, в пробирку 4-20 капель 1% раствора мыла, и в пробирку 5-20 капель 1% раствора углекислого натрия. В каждую пробирку

добавляют по 2 капли растительного масла и тщательно взбалтывают. Во всех пробирках кроме 1 (вода не является детергентом и не эмульгирует жиры), образуется стойкая эмульсия. Результаты работы оформляют в виде таблицы.

Эмульгирование жиров:

Исследуемый жир	Вода	Желчь	Белок	Мыло	Сода
Растительное масло	2 капли	2 капли	2 капли	2 капли	2 капли

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

### Влияние желчи на поверхностное натяжение воды

**Принцип метода:** Важнейшим условием эмульгирования является понижение поверхностного натяжения жидкой фазы. В содержимом кишечника понижение поверхностного натяжения достигается за счет действия желчи, точнее желчных кислот. Для того чтобы сравнить поверхностное натяжение воды и желчи необходимо посчитать - сколько капель образуется при вытекании равных объемов воды и желчи.

**Порядок выполнения работы:** В чистую пипетку набирают желчь до 0,6 мл и, держа пипетку вертикально, дают желчи вытекать, отсчитывая капли. Когда уровень желчи в пипетке опустится до 0,2, выливание прекращают. Опыт повторяют еще дважды и вычисляют среднее количество капель желчи, содержащееся в 0,4 мл пипетки, тщательно промывают водой и повторяют опыт с водой.

Поверхностное натяжение воды при температуре 20 °С составляет 73 дин/см. Вычисляют поверхностное натяжение по формуле:

$$\eta_{ж} = \frac{\eta_{120} \cdot n_{120}}{n_{ж}}$$

где  $\eta_{ж}$  - поверхностное натяжение желчи  
 $\eta_{120}$  - поверхностное натяжение воды  
 $n_{ж}$  - количество капель желчи (среднее из трех определений)  
 $n_{120}$  - количество капель воды (среднее из трех определений)

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3 Влияние желчи на активность липазы

**Принцип метода:** Если к молоку добавить немного липазы и подщелочить полученную смесь до розовой окраски по фенолфталеину, то при стоянии в водяной бане жидкость постепенно обесцвечивается. Это объясняется тем, что под действием липазы высвобождаются высшие жирные кислоты и рН смещается в сторону более низких значений.

Обесцвечивание фенолфталеина в этом опыте ускоряется при добавлении желчи. Это объясняется тем, что липаза активируется солями желчных кислот.

**Порядок выполнения работы:** В две химические пробирки вносят по 8 капель молока и по одной капле раствора фенолфталеина. В каждую пробирку добавляют по каплям раствор углекислого натрия до слабо-розовой окраски по фенолфталеину. В каждую пробирку вносят по 2 капли вытяжки липазы, а в пробирку 1, кроме того, и каплю желчи. Помещают пробирки в водяную баню +37 °С и отмечают изменение цвета в опыте с желчью и без нее.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.**

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.**

1. Характеристика пищевых липидов.
2. Перечислить основные этапы переваривания и всасывания липидов.
3. Какие условия необходимы для переваривания жира?
4. Указать роль печени в гидролизе липидов.
5. Желчные кислоты (первичные, вторичные), их роль в переваривании и всасывании жиров.
6. Написать гликохолевую и таурохолевую кислоты.
7. Объяснить механизм эмульгирующего действия желчных кислот.
8. Написать схему гидролиза ТАГ, указать ферменты, место их синтеза.
9. Судьба образовавшихся продуктов гидролиза.
10. Написать реакции активации жирной кислоты, глицерола.
11. Ресинтез простых и сложных липидов.
12. Образование транспортных форм липидов.
13. Незрелые и зрелые ХМ.
14. Белковые компоненты ХМ.
15. Липопротеинлипаза, роль ее в процессе утилизации ХМ.
16. Остаточные хиломикроны и их утилизация.

**Тестовые задачи.**

1. Соединения, обозначенные цифрами, образуются при переваривании

- |                            |                        |
|----------------------------|------------------------|
| А. Жиров                   | 1. Сфингозин           |
| Б. Фосфоацилглицеринов     | 2. Р-моноацилглицерины |
| В. Обоих соединений        | 3. Жирные кислоты      |
| Г. Ни одного из соединений | 4. Фосфорная кислота   |

5. Глицерин

2. Какие из перечисленных процессов протекают с участием желчных кислот?

- а) Эмульгирование.
- б) Повышение активности ТАГ-липазы.
- в) Всасывание жирных кислот, холестерина.
- г) Всасывание глицерина.
- д) Повышение активности липопротеинлипазы.

3. Какие процессы в организме сопровождаются гидролизом ТАГ?

1. Переваривание липидов.
2. Образование хиломикронов.
3. Поступление жирных кислот в ткани.
4. Ресинтез жиров.
5. Мобилизация жиров из жировой ткани.

4. Укажите функции следующих белков:

1. АПО С-11
2. Альбумины
3. АПО В-48



#### 4. АПО Е

- а) Основной структурный компонент хиломикронов.
- б) Активатор липопротеинлипазы.
- в) Взаимодействует с рецепторами гепатоцитов.
- г) Транспорт жирных кислот кровью.

#### **VIII. Хронокарта учебного занятия**

- 1. Программированный письменный самоконтроль - 15 минут.
- 2. Разбор теоретических вопросов темы - 20 минут.
- 3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ - 5 минут.
- 4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа - 80 минут.
- 5. Подведение итогов занятия - 15 минут.
- 6. Всего 135 минут.

#### **IX. Самостоятельная работа студента**

#### **X. Список используемой литературы**

##### *Основная:*

- 1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2012
- 2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2015
- 3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2012, «ГЭОТАР - медиа»
- 4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
- 5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

##### *Дополнительная:*

- 1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
- 2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
- 3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
- 4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
- 5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
- 6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
- 7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
- 8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
- 9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
- 10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
- 11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
- 12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
- 13. Николаев А. Я. Биологическая химия

## ЗАНЯТИЕ №2

### Тема: БИОСИНТЕЗ И ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, РЕГУЛЯЦИЯ.

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

Жирные кислоты являются наиболее емким источником энергии, поскольку содержат большое количество С-Н связей. Их окисление называется Р-окислением, поскольку в основном окисляется Р-углеродный атом. Это специфический путь распада жирных кислот с образованием ацетил КоА.

Этот процесс происходит в матриксе митохондрий и складывается из 3-х этапов:

1. Подготовительный этап:
  - а) реакция активирования жирной кислоты.
  - б) транспорт ацил-КоА в митохондрии.
2. Р-окисление ацил КоА в митохондриях путем отщепления двууглеродного фрагмента - ацетил КоА.
3. Третий этап завершается окислением ацетил КоА в ЦТК до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O.

1. Реакция активации жирной кислоты происходит под действием фермента ацил-КоА-синтетазы:



ацил КоА синтетаза (6 класс)

Кофермент карнитин обеспечивает транспорт кислот (ацильных остатков) через митохондриальную мембрану, не проникающих через нее в свободном виде. Во внешней мембране митохондрий имеется фермент карнитинацил-трансфераза I, который катализирует перенос ацил КоА на молекулу карнитина. Затем ацилкарнитин с помощью транслоказы переносится через внутреннюю мембрану митохондрий, где фермент карнитинацил-трансфераза II переносит ацил на внутримитохондриальный HS-КоА с образованием ацил КоА.

2. В матриксе митохондрий начинается процесс Р-окисления, представляющий собой 4 последовательные реакции, которые

повторяются. Эти 4 реакции Р-окисления (дегидрирования, гидратации, дегидрирования, отщепления ацетил КоА) называют циклом Р-окисления, так как одни и те же реакции повторяются до тех пор, пока вся кислота не превратится в ацетильные остатки.

3. На третьем этапе молекула ацетил КоА окисляется в ЦТК до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O.

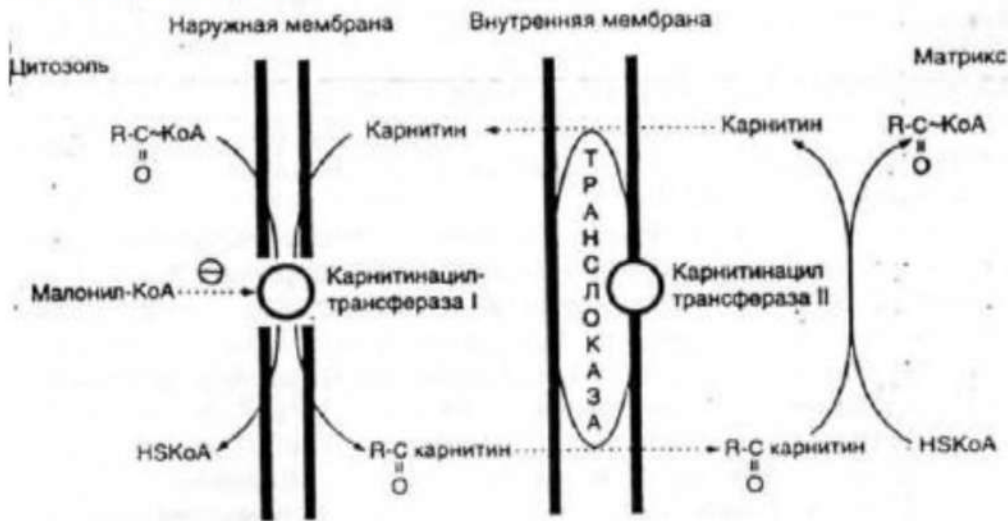
Для подсчета энергетического выхода необходимо знать число образующихся молекул ацетил КоА -  $n/2$ , где  $n$  - число атомов углерода. Каждая молекула ацетил КоА, окисляясь в ЦТК продуцирует 12 молекул АТФ -  $n/2 \times 12$  - количество молекул АТФ.

При Р-окислении происходит 2 реакции дегидрирования, в которых восстанавливается 1 молекула ФАД и 1 молекула НАД, поэтому один цикл дает 5 молекул АТФ с учетом ЦПЭ. Число циклов можно рассчитать по формуле  $n/2 - 1$ , так как на последнем этапе окисления бутирил КоА расщепляется до 2 молекул ацетил КоА.

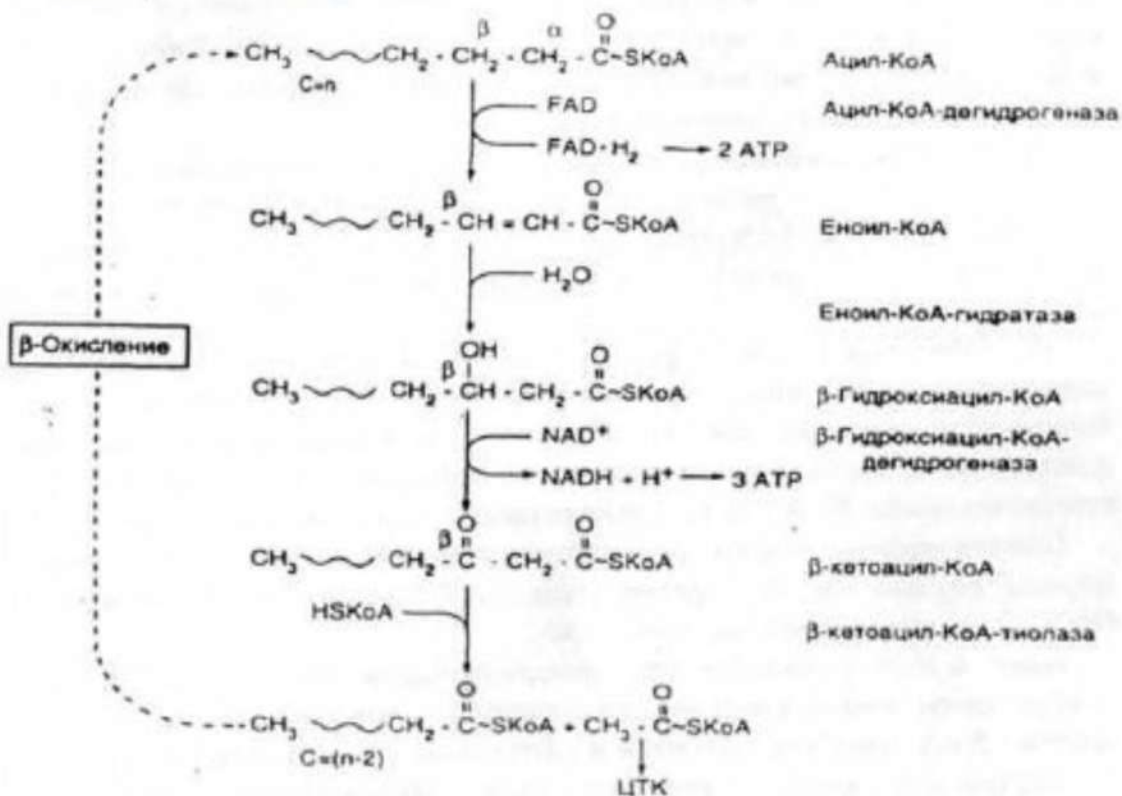
Суммарный выход АТФ при окислении жирной кислоты можно рассчитать по формуле:

$((n/2 \times 12) \pm (n/2 - 1) \times 5) - 1$  = число молей АТФ/моль жирной кислоты - одна молекула АТФ используется на активацию жирной кислоты.

## Схема транспорта



## Схема β-окисления



Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов по-добно кислотам с четным числом С-атомов, при распаде подвер-гаются многократному Р-окислению. При этом образуется ряд молекул ацетил КоА и одна молекула пропионил КоА. Ацетил КоА окисляется в ЦТК. Пропионил КоА сначала карбоксилируется (присоединяет CO<sub>2</sub>, фермент пропионил КоА карбоксилаза, кофермент биотин), превращаясь в D-метилмалонил КоА. Это со-единение под влиянием метил-малонил-КоА-рацемазы переходит в L форму и подвергается воздействию фермента метилмалонил- КоА-мутазы (коферментом является 5-дезоксаденозилкобала- мин), превращающего его в сукцинил КоА. Последний субстрат окисляется в ЦТК.

Для окисления ненасыщенных жирных кислот необходимо действие дополнительных ферментов. Это связано с тем, что ферменты Р-окисления действуют лишь на транс-конфигурацию двойной связи и на L-форму гидроксикислоты, тогда как ненасы-щенные жирные кислоты содержат цис-конфигурацию двойной связи, а в процессе Р-окисления на стадии гидратации возникает D-гидрокси кислота. Дополнительные ферменты:

1) А 3,4-цис- А 2,3-трансеноил КоА-изомераза превращает цис форму двойной связи в транс-форму, одновременно происходит перемещение двойной связи из положения А 3,4 в положение А 2,3. 2) 3-гидроксиацил-КоА-эпимераза превращает D-гидроксицикло- ту в ее эпимер (L-гидроксицикло-ту).

### Регуляция β-окисления.

Скорость β-окисления зависит от доступности субстрата, поэтому активируется Р-окисление в постабсорбтивном периоде или на фоне липолиза в результате длительной физической работы. В этих условиях увеличивается концентрация в крови жирных кислот и мышцы, миокард, печень активно используют их как источник энергии. Мозг не использует жирные кислоты, так как они не проникают через гематоэнцефалический барьер, являясь гидрофобными молекулами.

2) Процесс β-окисления активируется при увеличении потребности в клетках энергии АТФ, что возможно благодаря непосредственной связи реакций Р-окисления через коферменты НАД и ФАД с ЦПЭ. Чем интенсивнее идет распад АТФ, тем быстрее окисляются жирные кислоты, обеспечивая синтез новых молекул АТФ.

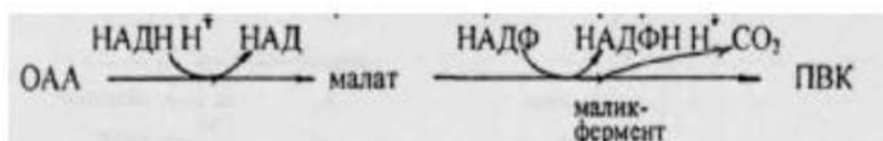
3) Регулируемый фермент - карнитин-ацил-трансфераза I ал- лостерический. Ингибируется малонил КоА, который образуется при биосинтезе жирных кислот. Поэтому, в постабсорбтивном периоде, когда поступление ацетильных остатков из митохондрий в цитозоль прекращается, синтез малонил-КоА также прекращается, и β-окисление активируется

Синтез жирных кислот происходит в цитоплазме клеток из ацетил КоА и водорода, переносимого коферментом НАДФ. В процессе синтеза участвует CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, используется энергия АТФ.

Ацетил КоА возникает при окислительном декарбоксилировании ПВК, при β-окислении жирных кислот, при распаде ами-нокислот, углеводов, глицерина. Ацетил КоА транспортируется в цитоплазму цитратным механизмом, поэтому ацетил КоА кон-денсируется с ОАА с образованием цитрата, который с помощью транслоказы переносится в цитоплазму. В цитоплазме под дейс-твием фермента цитрат-лиазы идет реакция - цитрат + HSKoA + АТФ ^ ацетил КоА +АДФ +Pn+OAA

Ацетил КоА является исходным субстратом для синтеза жир-ных кислот.

### ОАА в цитоплазме подвергается следующим превращениям

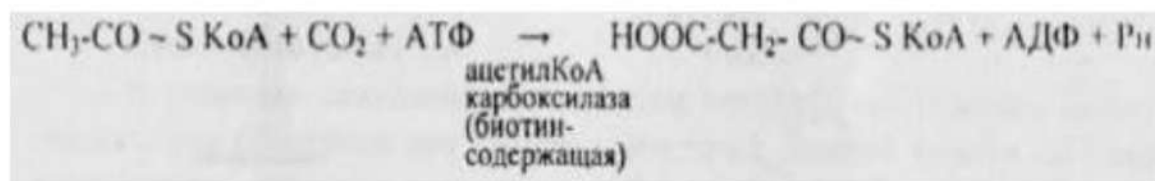


НАДФН+(Н+) используется для последующего синтеза жир-ных кислот. 2-ой источник - пентозофосфатный цикл.

Источником НАДФН+(Н+) является апотомический распад глюкозы, а также окисление в цитоплазме изолимонной и яблоч-ной кислот.

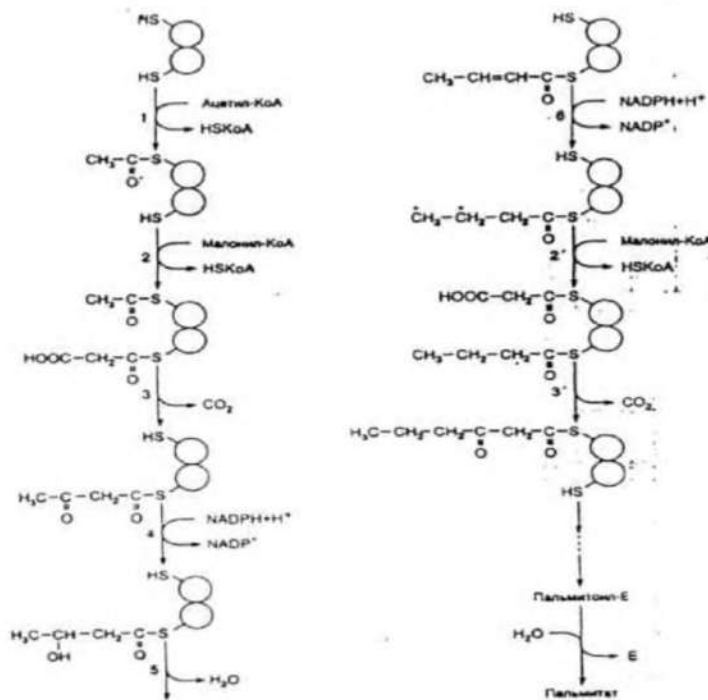
Синтетаза жирных кислот состоит из двух полипептидных цепей, каждая из которых связана с SH-группами, представляет собой мультиферментный комплекс, содержащий АПБ-SH и обладает активностью 6 ферментов: АПБ-ацетилтрансфераза, АПБ-малонилтрансфераза, 3 оксоацил-АПБ-синтетаза, 3 оксоа- цил- АПБ-редуктаза, 3 гидроксиацил-АПБ-дегидратаза и еноил- АПБ-редуктаза. Продуктом действия данного мультиферментно- го комплекса является пальмитиновая кислота (16 С).

Первая реакция синтеза жирных кислот (пусковая) - превра-щение ацетил КоА в малонил КоА.



Биосинтез жирных кислот является процессом, в котором повторяются одни и те же последовательности реакций, поэтому процесс называется циклическим и в каждом цикле R - жирной кислоты увеличивается на 2 атома «С», источником которого является малонил КоА. В каждой цепи происходят реакции восстановления с использованием НАДФН+(Н+).

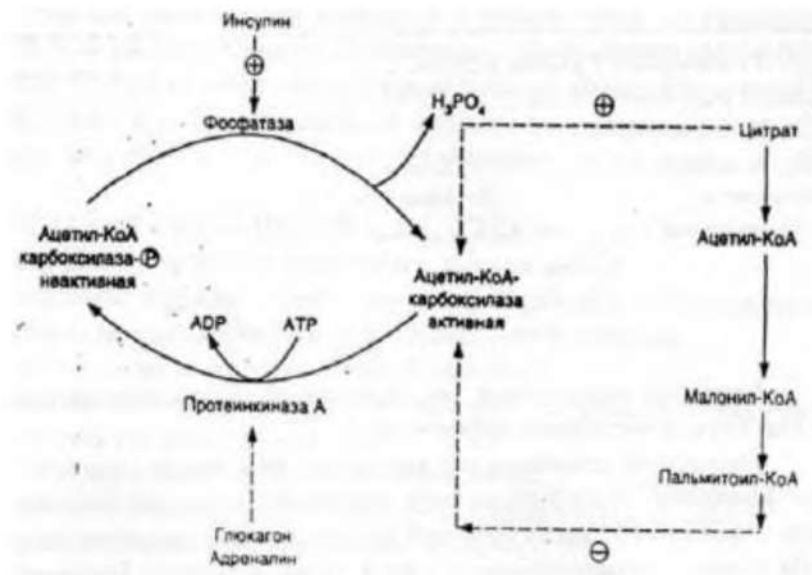
Схема синтеза пальмитиновой кислоты



Регуляция синтеза:

Скорость синтеза определяется активностью регуляторного фермента ацетил-КоА-карбоксилазы. Этот фермент регулируется:

- а) аллостерически
  - цитрат - активирует, пальмитоил КоА - ингибирует
- б) путем фосфорилирования и дефосфорилирования
  - на фоне принятой пищи, инсулин активирует фосфатазу, которая переводит ацетил КоА - карбоксилазу в дефосфорилированную активную форму. Эта активная форма подвергается аллостерической регуляции.
  - на фоне голодания или физической работы гормоны глюкагон или адреналин через аденилатциклязную систему переводят ацетил КоА-карбоксилазу в фосфорилированную форму.
- инсулин не только активирует регулируемый фермент ацетил КоА карбоксилазу, но и индуцирует его синтез и синтез ряда других ферментов, участвующих в превращении продуктов распада глюкозы в жирные кислоты.



## II. Цель деятельности студентов на занятии:

*Студент должен знать:*

1. Из каких процессов состоит обмен жирных кислот?
2.  $\beta$ -окисление - его этапы, локализация процесса, характеристика ферментов.
3. Особенности окисления жирных кислот ненасыщенных и с нечетным количеством атомов углерода.
4. Энергетический баланс  $\beta$ -окисления.
5. Синтез высших жирных кислот.
6. Формульный материал одного цикла синтеза высших жирных кислот..

## III. Содержание обучения

**Основные вопросы:**

1. Понятие об обмене жирных кислот.
2.  $\beta$ -окисление как путь катаболизма жирных кислот, его этапы и локализация.
3. Характеристика ферментов и реакций  $\beta$ -окисления.
4. Особенности окисления жирных кислот с нечетным количеством атомов углерода и ненасыщенных жирных кислот.
5. Связь  $\beta$ -окисления с заключительными реакциями катаболизма в системе переноса электронов и цпк.
6. Регуляция скорости протекания процесса.
7. Синтетаза высших жирных кислот - полифункциональный комплекс, характеристика ферментов. Условия и локализация процесса.
8. Роль АПБ в синтезе жирных кислот, характеристика, последовательность реакций одного цикла синтеза жирной кислоты.
9. Элонгация углеводородной цепи жирной кислоты, роль митохондрий и микросом.

#### IV. Оснащение занятия:

#### V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

#### VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Эндогенные и экзогенные источники жирных кислот
2.  $\beta$ -окисление жирных кислот - один из центральных мета-болических путей, обеспечивающих клетки энергией. Локализация процесса.
3. Напишите подготовительный этап  $\beta$ -окисления
4. Активизация жирных кислот, участие в этом процессе тиа-киназ и тиафераз.
5. Карнитин, его роль в  $\beta$ -окислении.
6. Напишите реакции одного цикла  $\beta$ -окисления.
7. Напишите реакции, через которые  $\beta$ -окисление связано с ЦПЭ.
8. Напишите схему окисления масляной кислоты
9. Рассчитайте выход АТФ при окислении стеариновой жир-ной кислоты
10. Напишите завершающий этап  $\beta$ -окисления жирной кисло-ты с нечетным количеством атомов углерода.
11. Охарактеризуйте особенность  $\beta$ -окисления ненасыщенных жирных кислот.
12. Напишите реакцию, катализирующуюся регуляторным ферментом  $\beta$ -окисления жирных кислот. Укажите локализацию этого фермента в клетке.
13. Какую функцию выполняет этот метаболический путь в миокарде.
14. Как изменяется скорость этого пути при уменьшении кон-центрации  $O_2$  в крови, питающей миокард.
15. Известно наследственное заболевание, при котором в скелетных мышцах снижена концентрация карнитина в результате дефекта ферментов, участвующих в его синтезе.
16. Как скажется на способности выполнять длительную физическую работу низкие концентрации карнитина?
17. Под микроскопом в клетках таких мышц видны вакуоли жира. Объясните происхождение.
18. Биосинтез жирных кислот, его условия. Роль цитрата в синтезе жирных кислот.
19. Напишите реакции биосинтеза жирных кислот (1 цикл)
20. Напишите реакции биосинтеза, в которых используется НАДФН( $H^+$ )
21. Источники НАДФН ( $H^+$ ), роль апопомического распада глюкозы и пируватмалатного шунта.
22. Напишите пусковую реакцию синтеза высших жирных кислот.
23. Охарактеризуйте роль АПБ.
24. Характеристика синтазы высших жирных кислот.

25. Из каких веществ в печени образуется ацетилКоА при голодании и сахарном диабете?
26. Почему скорость окисления ацетил КоА в ЦТК клеток печени в этих условиях меньше, чем в норме?

#### **Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.**

1. Роль жира в обеспечении энергией потребностей организма детей раннего возраста.

#### **VII. Хронокарта учебного занятия**

1. Программированный письменный самоконтроль - 15 минут.
2. Разбор теоретических вопросов темы - 20 минут.
3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ - 5 минут.
4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа - 80 минут.
5. Подведение итогов занятия - 15 минут.
6. Всего 135 минут.

#### **VIII. Самостоятельная работа студента:**

#### **IX. Список используемой литературы**

##### **Основная:**

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2012
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2015
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2012, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

##### **Дополнительная:**

1. Е.А. Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия». 1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия





Ацил S-КоА + глицерол-3-фосфат + HS КоА → МАГ-3-фосфат + Ацил S-КоА  
 МАГ-3-фосфат + Ацил S-КоА → ДАГ-3-фосфат + HS КоА  
 ДАГ-3-фосфат называется фосфатидной кислотой, встречается в клетках в следовых количествах, так как является промежуточным продуктом в биосинтезе липидов.

В ходе синтеза ТАГ фосфатидная кислота гидролизуется фосфатидатфосфатазой с образованием 1,2 ДАГ.  
 Фосфатидная кислота + H<sub>2</sub>O → 1,2 ДАГ + P<sub>n</sub>.

ДАГ взаимодействуя с третьей молекулой Ацил S-КоА, превращается в ТАГ.

1, 2 ДАГ + Ацил S-КоА → ТАГ + HS КоА  
 Установлено, что большинство ферментов биосинтеза ТАГ локализованы не только в цитоплазме, но и в ЭПР, и некоторые, например - глицерол-3-фосфат-ацилтрансфераза в митохондриях.

Формирование каждой эфирной связи ТАГ требует значительного количества свободной энергии. Для этого жирная кислота сначала активируется путем образования эфира с КоА: для этой реакции необходима энергия двух высокоэнергетических фосфатных связей, так как она протекает благодаря пиррофосфатному расщеплению АТФ и последующему гидролизу образующихся пиррофосфатов.

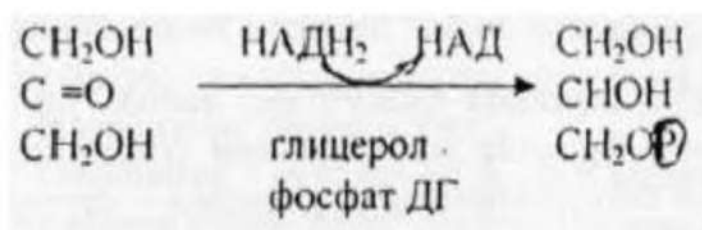
В норме у взрослых людей и животных биосинтез и окисление ТАГ протекает одновременно и для этих процессов установлено стационарное состояние, так что количество жира в организме сохраняется в течение сравнительно длительного времени на относительно постоянном уровне, хотя при изменении калорийности пищевого рациона могут возникнуть незначительные отклонения. Однако, в тех случаях, когда углеводы, жиры и белки, употребляемые клетками, превосходят энергетические потребности организма - излишки калории запасаются в виде ТАГ.

Источниками ацил-КоА, необходимого для биосинтеза жирных кислот и ТАГ, могут служить углеводы и углеводородные цепи аминокислот. Накопление жира используется для получения энергии, что позволяет организму приспособиться к голоду.

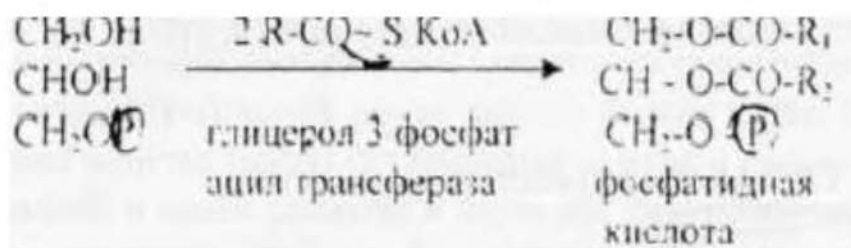
Второй путь образования глицерол-3-фосфата.

В жировой ткани, мышцах активность глицерол-киназы очень низка, поэтому источником глицерол-3-фосфата может быть только диоксиацетонфосфат (промежуточный продукт гликолиза).

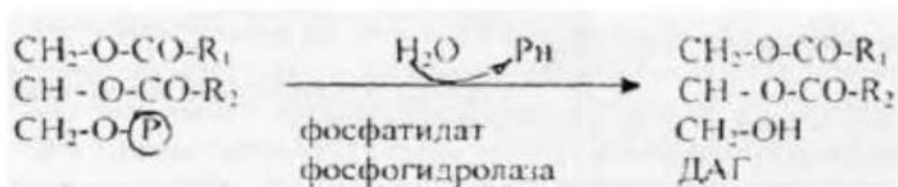
Восстановление диоксиацетонфосфата (метаболита глюкозы) ферментом глицерол-фосфат дегидрогеназой в основном происходит в жировой ткани и мышцах.



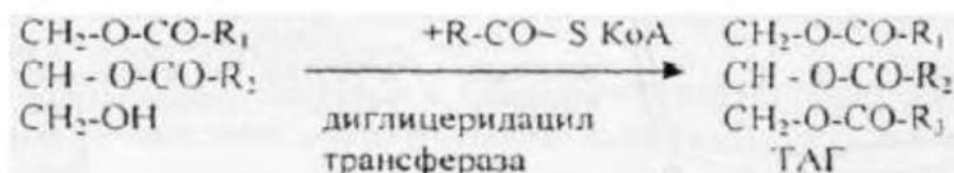
Образовавшийся глицерол-3-фосфат последовательно ацилируется двумя молекулами жирных кислот (активные формы) и через фосфатидную кислоту образуются триацилглицеролы. Фермент, осуществляющий этерификацию - глицерол-фосфат-ацилтрансфераза.



Образовавшаяся фосфатидная кислота гидролизуется фосфатидатфосфогидролазой до диацилглицеролов.



Затем диацилглицерол ацилируется третьей молекулой ацил-КоА и превращается в ТАГ.



ТАГ, синтезированные в печени, образуют ЛПОНП с Apo B<sub>100</sub> и путем экзоцитоза секретируются в кровь. В клетках органов и тканей, в частности адипоцитах депонируются, а в клетках мышечной системы, помимо того, расщепляясь, освобождают жирные кислоты и глицерол, который окисляется. Поэтому содержание ТАГ в печени не превышает 5%. Увеличивается при нарушении формирования транспортных форм (нарушение синтеза апопротеинов фосфолипидов при отсутствии липотропных веществ). В этом случае наблюдается жировой гепатоз и содержание жира достигает 50% в печени.

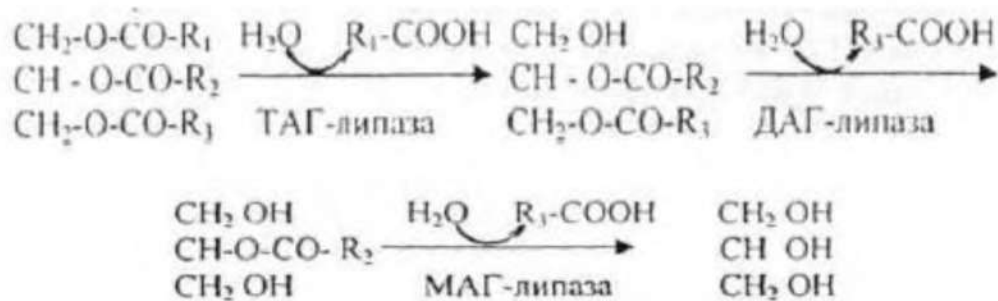
Липогенез стимулируется гормоном поджелудочной железы инсулином, который:

- улучшает транспорт глюкозы в клетки, ее окисление. В адипоцитах межтучный продукт окисления глюкозы (диоксиацетонфосфат) является источником глицерол-3-фосфата.
- активирует липопротеидлипазу, которая гидролизует нейтральные жиры хиломикронов. Образовавшийся глицерин и жирные кислоты печенью и адипоцитами используются на синтез ТАГ.

Значительная часть депонированных липидов ежедневно используется как метаболическое топливо организмом. Процесс мобилизации (гидролиз) нейтрального жира из депо регулируется определенными гормонами - катехоламинами, глюкагоном, тироксином, СТГ и другими. Концентрация указанных гормонов может повышаться при стресс-ситуациях, голодании, длительной физической работе, в период роста организма. Указанные регуляторы воздействуют на гормон чувствительный фермент (ТАГ-липазу), которая активируется путем фосфорилирования и последующей ковалентной модификации через аденилатциклязную систему. Другие тканевые липазы (ДАГ-липаза и МАГ-липаза) чувствительности к гормонам не проявляют, хотя активность их много выше.



Активная тканевая липаза осуществляет ступенчатый гидролиз с образованием глицерина и высших жирных кислот.



В результате мобилизации жира концентрация жирных кислот в крови увеличивается приблизительно в 2 раза, однако абсолютная концентрация их невелика из-за короткого периода полужизни (менее 5 минут) и существует быстрый поток жирных кислот из жировой ткани к другим органам. Большинство тканей, кроме нервной ткани, эритроцитов и мозгового слоя надпочечников не используют жирные кислоты как источники энергии.

Нарушение обмена ТАГ.

Ожирение - отложение жира в адипоцитах по сравнению с нормой. В норме у человека весом 70 кг количество жира приблизительно 10-12 кг. Оно наблюдается у 50% людей старше 50 лет. Увеличение количества жирных кислот у плода начинается в последнем триместре беременности, заканчивается в препубертатном периоде.

После этого жировые клетки увеличиваются или уменьшаются в размерах, но количество их не изменяется в течение жизни.

Первичное ожирение - развивается в результате алиментарного дисбаланса - избыточного калорийного питания по сравнению с расходом энергии. Количество потребляемой пищи зависит от многих факторов, в том числе и регуляторов чувства голода и насыщения «Голод и насыщение» определяется концентрацией в крови глюкозы и гормонов желудочно-кишечного тракта: холецистокинин, нейротензин, бомбесин, лептин, которые инициируют чувство насыщения.

Генетические факторы в развитии ожирения.

Метаболические различия между тучными и худыми людьми до настоящего времени не могут быть определены однозначно. Имеется несколько теорий:

- 1) генетически детерминированная разница в функции бес-полезных циклов. Эти циклы состоят из пары метаболитов, которые, превращаясь, друг в друга с помощью двух ферментов. Одна из реакций происходит с затратой энергии АТФ. Если прямая и обратная реакции протекают одновременно, то происходит бесполезный расход энергии АТФ и соответственно источников энергии, что ингибирует синтез жиров;
- 2) у людей, склонных к ожирению, имеется более прочное сопряжение дыхания и окислительного фосфорилирования, то есть более эффективен метаболизм;
- 3) у людей возможно разное соотношение аэробного и анаэробного гликолиза. Анаэробный гликолиз как менее эффективный путь сжигает гораздо больше глюкозы, в результате чего снижается ее переработка в жиры;
- 4) у человека и животных имеется ген ожирения «obese gen» Одиночные мутации этого гена приводят к развитию ожирения. Продуктом экспрессии гена ожирения являются белок - тривиальное название «Лептин» (от греч. - тонкий, худой). Он состоит из 145 аминокислотных остатков и секретируется адипоцитами. Лептин действует как гормон, контролирующий массу жировой ткани. Описаны 5 одиночных мутаций в гене лептина, ассоциированных с фенотипом ожирения. Для этого фенотипа характерно повышенное отложение жира в жировой ткани, чрезмерное потребление пищи, небольшая физическая активность, развитие сахарного диабета II типа.

Патобиохимия следующая: низкий уровень лептина в крови является сигналом недостаточного запаса жиров и он включает механизмы, повышающие аппетит и соответственно массу тела.

Однако ожирение - полигенное заболевание. Если даже жи-ровые клетки продуцируют достаточное количество лептина, мо-жет развиться ожирение в силу индивидуальных особенностей организма и повышения порога концентрации лептина. На синтез лептина влияют и другие гормоны.

В настоящее время изучаются свойства белка лептина и воз-можности его применения для регуляции массы тела.

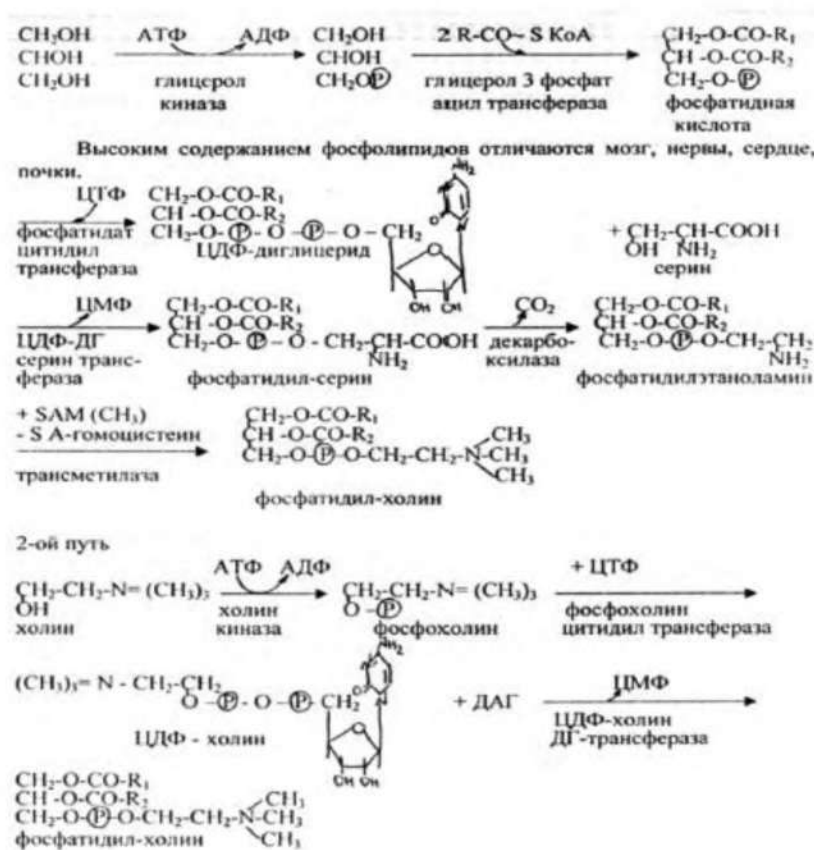
**Фосфолипиды** бывают глицерофосфолипиды, сфинголипиды. К глицерофосфолипидам относятся: фосфатидилхолины, фосфа- тидилэтаноламины, фосфатидилсерины, фосфатидилинозито- лы, плазмалогены, кардиолипиды. К сфинголипидам относится сфингомиелин.

Биологические функции:

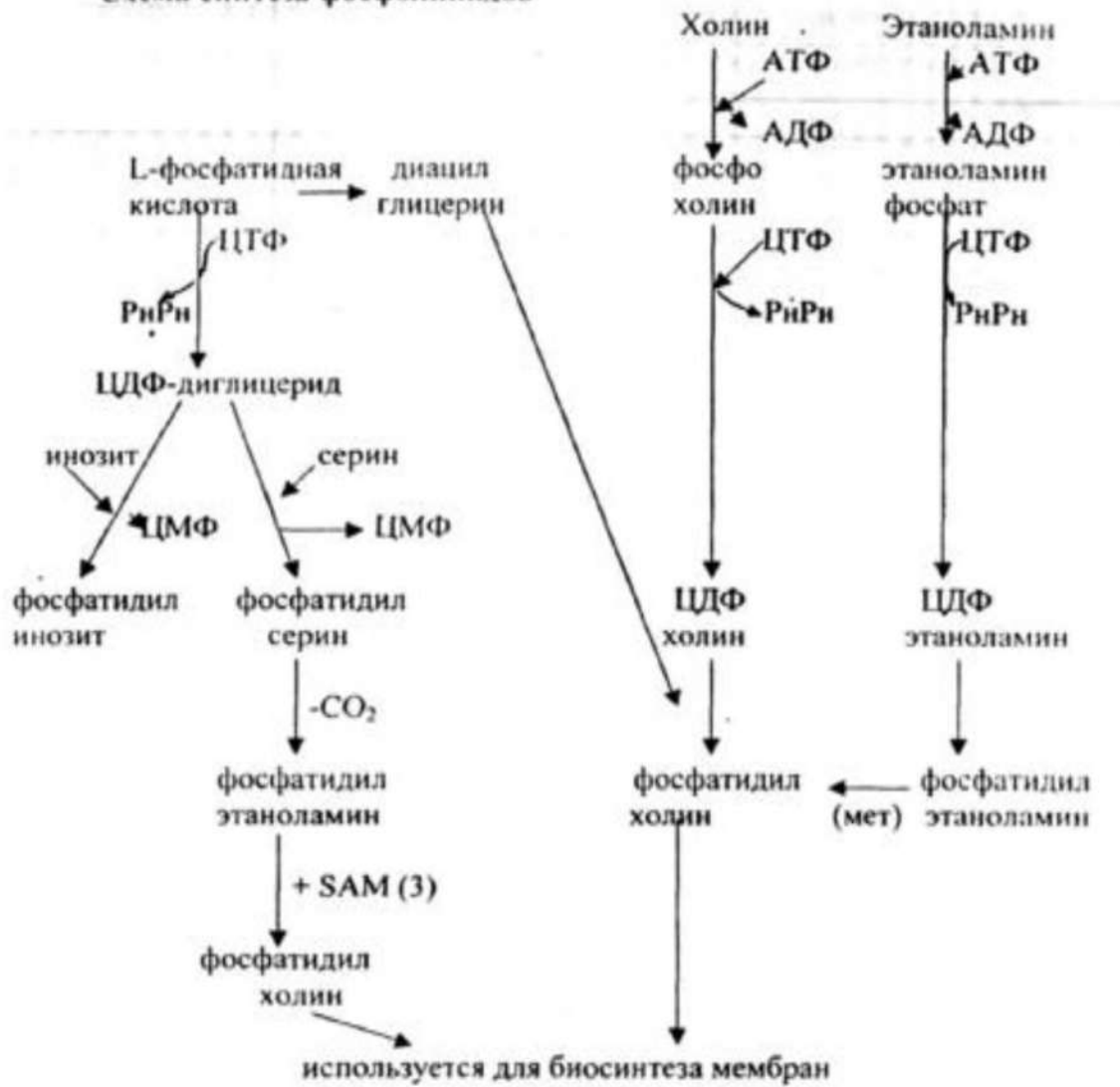
- пластическая, то есть являются компонентами клеточных мембран
- полиненасыщенные жирные кислоты — предшественники простагландинов.
- определяют проницаемость клеточных мембран (участву-ют в процессе мембранного транспорта).
- являются антиоксидантами.
- снижают поверхностное натяжение альвеол - проти- воателектическое действие сурфактанта — дипальмитоил- фосфатидилхолина.
- оказывают липотропное действие.

Биосинтез фосфолипидов наиболее активен в печени и в слизистой оболочке тонкого кишечника, но синтезируются и в других тканях: нервная ткань, почки, легкие, мышцы. Биосинтез осуществляется преимущественно в микросомах, частично в ми-тохондриях. Центральную роль играет фосфатидная кислота и цитидилтрансфераза.

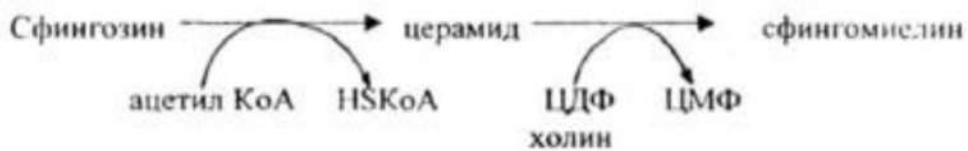
Фосфолипиды в а положении содержат насыщенные жирные кислоты: пальмитиновую, стеариновую, а в Р- ненасыщенные (олеиновую, линолевую, арахидоновую).



### Схема синтеза фосфолипидов



Сфингомиелин – основной компонент миелиновых оболочек, коры головного мозга



Отщепление фосфатидилхолина происходит сфингомиелина-зой. Дефицит этого фермента ведет к болезни Нимана-Пика.



Обновление в клеточных мембранах различных типов липидов, их наличие важно для обеспечения межклеточного взаимодействия и формирования свойств клеток.

Гликолипиды: цереброзиды, ими наиболее богато белое вещество, содержатся в миелиновых оболочках и в других органах: селезенке, почках, плаценте, сыворотке, эритроцитах. Церебро-зиды миелина — моногликозилцерамиды, цереброзиды серого вещества — ди-, три-, тетрагликозилцерамиды.

Ганглиозиды находятся в основном в сером веществе и в ор-ганах: мозговом веществе надпочечников, плаценте, эритроци-тах, селезенке, легких, почках печени, мышцах.

Располагаясь на поверхности мембран, олигосахаридная часть — тетрасахарид обеспечивает разветвленность, полианион- ность, гидрофильность, поляризованность (создает отрицатель-ный заряд), высокую метаболическую активность, необходима для транспорта натрия, калия, процесса возбуждения.

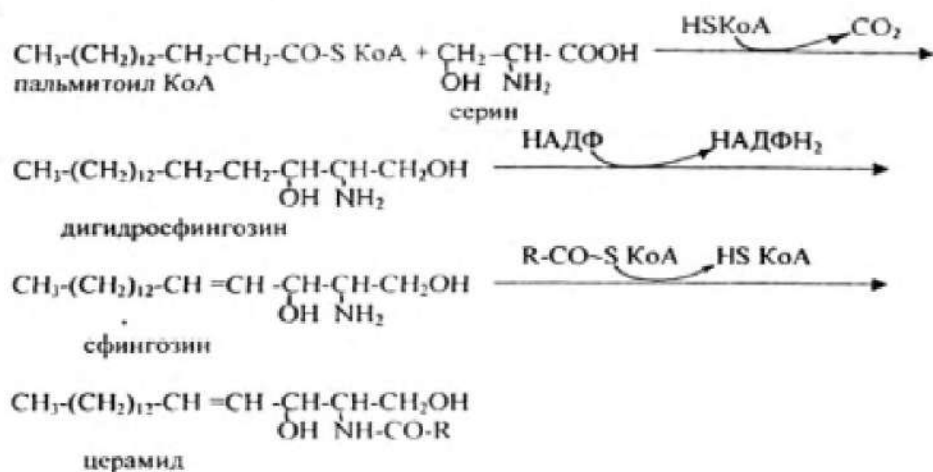
В регуляции транспорта катионов принимает участие взаимо-превращение с участием фермента — нейраминидазы, ее актив-ность в нервной ткани высока.

Связывает токсины столбняка, инактивирует некоторые бак-териальные яды (дифтерийный токсин, связывает вирусные ча-стицы). Ганглиозиды придают мембране эритроцита характер-ную функциональную особенность.

Полярные липиды: фосфоглицеролы, сфинголипиды и гли-колипиды не запасаются в жировых клетках, а встраиваются в клеточные мембраны. Фосфоглицеролы, синтезирующиеся фер-ментами ЭПР, встраиваются в основном в липидный бислой ре- тиккулаума. Мембраны ЭПР служат предшественниками мембран аппарата Гольджи. От аппарата Гольджи постоянно отшнуровы- ваются мембранные пузырьки, в которых продуцируемый секрет транспортируется к плазматической мембране. Фосфоглицеролы мембран переносятся из ЭПР в митохондрии при помощи транс-портных белков. Таким образом, в клетках существует поток вновь синтезированных липидов, направленных к различным ти-пам клеточных мембран.

Все полярные липиды в мембранах постоянно обновляются в процессе метаболизма. При нормальных условиях в клетке уста-навливается динамическое стационарное состояние, при котором скорость синтеза липидов равна скорости их распада.

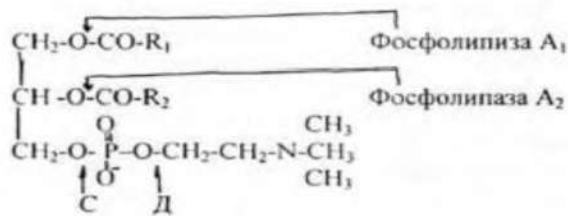
**Схема биосинтеза сфинголипидов, цереброзидов и ганглиозидов:**



Затем последующее присоединение:

- а) холина – с образованием сфингомиелинов
- б) сахаров с образованием цереброзидов
- в) сахаров и сиаловой кислоты с образованием ганглиозидов (компоненты био-мембран)

Расщепление липидов катализируется гидролитическими ферментами, способными расщеплять строго определенные ко-валентные связи.



В тканях происходит постоянное обновление фосфолипидов клеточных мембран. Полиненасыщенные жирные кислоты подвергаются ПОЛ, участвуют в синтезе ПГ, повышают проницаемость. Большие количества лизофосфолипидов обладают мембранотоксическим действием.

Активные формы O<sub>2</sub> инициируют СРО, которое приводит к повреждению липидов мембраны клетки. При окислении полиненасыщенных жирных кислот образуются перекиси, гидроперекиси и МДА. Это химически очень активное вещество, своими альдегидными группами взаимодействуют с NH<sub>2</sub> группами белков, вызывая их необратимую денатурацию. Результатом ПОЛ является увеличение проницаемости для кальция, натрия и воды, они входят в клетку и субклеточные частицы, вызывая их набухание и разрушение. Свободные радикалы проникают в ядро и митохондрии, окисляя ДНК, вызывая разрыв цепей ДНК и другие изменения. Повреждение тканей в результате может быть причиной заболевания, усиливает развитие осложнений, может быть следствием повреждения клеток другими факторами. Свободно-радикальный процесс в норме происходит в клетках постоянно, но с низкой активностью, так как имеются различные системы защиты от активных форм кислорода (антиоксидантная система).

## II. Цель деятельности студентов на занятии:

*Студент должен знать:*

1. Пути биосинтеза ТАГ и их транспорт в организме.
2. Механизмы мобилизации ТАГ из депо как источника энергии.
3. Пути биосинтеза фосфо- и гликолипидов.
4. Фосфатидная кислота — как общий предшественник в синтезе липидов.
5. Два пути образования фосфатидилхолина (роль метионина).
6. Углеводы, используемые для синтеза гликолипидов.
7. Образование церамида, как необходимого соединения для синтеза сфинголипидов, цереброзидов, ганглиозидов.
8. Механизмы обновления фосфо- и гликолипидов. Роль перекисного окисления липидов.
9. Сфинголипидозы.

*Студент должен уметь:*

1. Определить концентрацию триацилглицеридов в сыворотке крови.
2. Оценить изменение качественного и количественного состава липопротеинов в норме и при патологии.

## III. Содержание обучения.

**Основные вопросы:**

1. Биосинтез триацилглицеридов.
2. а) активация высших жирных кислот.
3. б) источники образования глицерол-3-фосфата.
4. Фосфатидная кислота - важный промежуточный продукт в синтезе липидов.
5. Влияние инсулина и других гормонов на липогенез.
6. Мобилизация жира из депо.
7. Механизмы регуляции липолиза.
8. Нарушение обмена триацилглицеридов - ожирение.
9. Классификация сложных липидов.
10. Биологическая роль фосфолипидов.
11. Пути биосинтеза глицерофосфолипидов.



12. Биосинтез сфинголипидов и их биологическая роль.
13. Гликолипиды — биосинтез цереброзидов, роль церамида в процессе синтеза.
14. Характеристика ганглиозидов, основные реакции синтеза.
15. Катаболизм фосфолипидов — роль фосфолипазы А2
16. Роль перекисного окисления липидов в самообновлении фосфолипидов клеточных мембран.
17. Болезни накопления — липидозы.

#### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

##### Лабораторные работы:

- I. Количественное определение триацилглицеридов в сыворотке крови.

##### V. Наименование лабораторной работы.

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1

#### Количественное определение триацилглицеридов в сыворотке крови.

Принцип метода: триацилглицериды омыляются едким калием с образованием глицерина, при окислении которого образуется формальдегид. Реактив, содержащий ацетилацетон, взаимодействует с формальдегидом с образованием 3,5-диацетил-1,4-дигидролутинна, окраску которого измеряют.

#### Порядок выполнения работы:

	Раствор сравнения	Эталон	Проба
Дистиллированная вода (мл)	0,1	-	-
Эталонный раствор (мл)	-	0,1	-
Сыворотка крови (мл)	-	-	0,1
Июпропанол (мл)	4,0	4,0	4,0
Перемешивают и добавляют с помощью мерной ложечки			
Адсорбент (г)	0,4	0,4	0,4
Встряхивают на встряхивателе (10-15 минут), центрифугируют 5 минут при 3000 об/мин. В сухую пробирку отмеривают			
Супернатант (мл)	2,0	2,0	2,0
Раствор КОН (мл)	0,5	0,5	0,5
Содержимое пробирок перемешивают, пробирки закрывают пробками, инкубируют (5-10 мин) при температуре 60 °С. После этого охлаждают в холодной воде и добавляют			
Окислительный раствор (мл)	0,5	0,5	0,5
Содержимое пробирок после добавления окислительного раствора немедленно перемешивают и оставляют стоять при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляют			
Реактив (мл)	0,5	0,5	0,5
Содержимое пробирок перемешивают, неплотно закрывают пробками и раствор инкубируют точно 30 мин. При температуре 60 °С. После охлаждения измеряют оптическую плотность пробы и эталона против раствора сравнения в кювете 1 см при длине волны 410 нм			

Расчет: по оптической плотности пробы (А) и эталона (В) рассчитывают содержание триглицеридов (Х) в ммоль/л пробы по формуле:

$$X = A/B \times 3,39 \text{ (как триолеин)}$$

ммоль/л=0,0113 мг/100 мл, мг/100 мл=88,54 ммоль/л

Нормальные величины: Триглицериды - 0,45-1,86 ммоль/л сыворотки.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.**

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.**

1. Триацилглицериды как резервное метаболическое топливо.
2. Активация жирной кислоты.
3. Пути образования глицерол-3-фосфата.
4. Роль процесса гликолиза.
5. Фосфатидная кислота - важный промежуточный продукт в синтезе липидов.
6. Схема синтеза ТАГ, объяснить ее.
7. Биосинтез ТАГ (формульный материал).
8. Транспортные формы ТАГ.
9. Регуляция липогенеза - роль инсулина.
10. 10. Условия, необходимые для мобилизации ТАГ из депо.
11. Липолиз - ступенчатый гидролиз ТАГ.
12. 12. Роль гормонов в регуляции липолиза.
13. 13. Нарушение обмена ТАГ - жировой гепатоз и ожирение.
14. 14. Современные теории развития ожирения, роль лептина и других гормонов.
15. Перечислите и напишите представители фосфоглицеролов.
16. 16. Перечислите биологические функции фосфоглицеролов.
17. Пути синтеза глицерофосфолипидов. Роль фосфатидной кислоты.
18. Запасной путь синтеза глицерофосфолипидов.
19. Ферменты, участвующие в катаболизме фосфолипидов.
20. Роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) в самообновлении фосфолипидов клеточных мембран.
21. Напишите синтез сфингомиелина, роль церамида.
22. Представители гликолипидов и их биологическая роль.
23. Напишите синтез цереброзидов.
24. Охарактеризуйте структурные особенности ганглиозидов и их биологическую роль.
25. 25. Нарушения обмена сфинголипидов — липидозы

**VIII. Хронокарта учебного занятия.**

1. Программированный письменный самоконтроль - 15 минут.
2. Разбор теоретических вопросов темы - 20 минут.
3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ - 5 минут.
4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа - 80 минут.
5. Подведение итогов занятия - 15 минут.
6. Всего 135 минут.

**IX. Самостоятельная работа студента:**

**X. Список использованной литературы:**

**Основная:**

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2012

2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2015
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2012, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

*Дополнительная:*

1. Е.А. Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия», 1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия

#### ЗАНЯТИЕ № 4

**Тема: ОБМЕН ХОЛЕСТЕРИНА, ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ. НАРУШЕНИЯ. ТРАНСПОРТНЫЕ ФОРМЫ ЛИПИДОВ – ЛИПОПРОТЕИНЫ. ТИПЫ ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИЙ. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕЗА И ЛЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА.**

##### **I. Научно-методическое обоснование темы:**

Холестерол - амфипатический липид, незаменимый струк-турный компонент мембран и наружного слоя липопротеинов плазмы крови. Известны многие места депонирования холес-терина: артериальная стенка, кожа, хрусталик и другие брадит- рофные структуры с сопутствующими болезнями. Наиболее опасно накопление холестерина в сосудистой стенке, так как это сопровождается изменением физических и механических свойств сосудистой стенки, что приводит к нарушению крово-тока. В результате страдают те ткани или органы, которые осо-бенно чувствительны к недостатку кислорода, а именно ЦНС и миокард. В организме взрослого человека содержится около 140 г холестерина (2 мг на 1 г массы тела). 30 г - холестерин печени и других паренхиматозных органов, кишечной стенки и плазмы крови, обновление этого холестерина происходит в среднем за 30 суток, 60 г - холестерин головного и спинного мозга, нервов и соединительной ткани. Скорость обновления холестерина белого вещества мозга исчисляется годами. 50 г - холестерин остальных органов и тканей.

Необходимо отметить, что в цельной крови содержится лишь около 8% холестерина от его общего содержания в теле, а в плазме - около 5%. За сутки в организме человека около 0,5 г холес-терина окисляется в желчные кислоты, 0,5 г - экскретируется с фекалиями, около 0,1 г удаляется со слущивающимся эпителием кожи и секретом сальных желез и около 0,1 г используется на об-разование стероидных гормонов. Ежесуточный расход холесете-рина составляет 1,2 г.

Чтобы восполнить эту потерю, организм синтезирует в сутки около 0,8 г холестерина и 0,4 г получает с пищей. Лишь в плазме крови и тканях, синтезирующих стероидные гормоны, эстеифи- цированная форма холестерина (ЭХС) преобладает над свободной (НЭХС), составляя 70-80%. Эфиры холестерина находятся в цитозоле клетки в виде мелких жировых капель и рассматри-ваются как запасная форма холестерина. Во всех остальных тка-нях около 80-90% от общего количества составляет свободный









Атеросклероз - отложение холестерина в стенках сосудов (холестериноз) наблюдается в любом возрасте, даже в детском. Как правило, атеросклероз возникает при сочетанном действии факторов двух типов:

1. Тех, которые ведут к повреждению стенок сосудов;
2. Тех, которые вызывают нарушения в обмене холестерина и других фракций липидов.

К первому типу относятся так называемые «факторы риска»: курение, гиподинамия, загрязнение окружающей среды, ведущее к попаданию в организм ксенобиотиков (фториды, CO, H<sub>2</sub>S, свинец, бензол, соединения ртути), стресс, артериальная гипертензия и т.д. В стенках сосудов эти факторы усиливают перекисное окисление липидов и, как следствие, возникает повышение сосудистой проницаемости.

Вторая группа причин - нарушение соотношения различных транспортных форм холестерина. Соотношение обычно оценивают методом вычисления коэффициента атерогенности крови (КаК):

$$\text{КаК} = \frac{\text{ХС в ЛНП} - \text{ХС в ЛВП}}{\text{ХС в ЛВП}}$$

Он показывает соотношение ХС в ЛНП, которые его доставляют к тканям, к ХС в ЛВП, которые совершают обратный процесс. В норме КаК < 3. У больных атеросклерозом он > 5.

У новорожденных уровень общего холестерина (свободного и эстерифицированного) в сыворотке крови снижен по сравнению с взрослыми в 3-4 раза. Снижение скорости эстерификации холестерина может быть обусловлено низкой активностью ЛХАТ и изменением состава ЛВП. Среди жирных кислот в составе эфиров холестерина преобладают олеиновая, пальмитиновая, арахидоновая. У годовалых детей содержание общего холестерина увеличивается в 1,5-2 раза в основном за счет эстерифицированного холестерина, причем доля линолевой кислоты в них возрастает. Коэффициент эстерификации увеличивается, но еще ниже, чем у взрослых. К 12 годам уровень холестерина повышается за счет увеличения свободного и эстерифицированного холестерина и достигает величины, свойственной взрослым.

Липиды не растворяются в водных фазах организма, поэтому их транспорт кровью и лимфой осуществляется в виде комплексов с белками и фосфолипидами, которые называются липопротеинами (транспортные формы липидов).

Методом ультрацентрифугирования различают транспортные формы в зависимости от плотности: хиломикроны (ХМ), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины очень высокой плотности.

Существуют также промежуточные формы в метаболизме липопротеинов: остаточные хиломикроны (ХМ-ост) и липопротеины промежуточной (средней) плотности (ЛППП).

По электрофоретической подвижности по отношению к глобулинам липопротеины различаются: а, в, пре-в-липопротеины. Хиломикроны остаются на старте, подобно у-глобулинам. Липопротеины имеют двойное обозначение ЛПОНП - пре-в липопротеины, ЛПНП - в-липопротеины, ЛПВП - а-липопротеины.

Липопротеины - сложные комплексные соединения, имеющие характерное строение: внутри липопротеиновой частицы находится жировая капля (ядро), содержащая неполярные липиды (триглицериды, эстерифицированный холестерин); они окружены оболочкой, в состав которой входят фосфолипиды, белок, свободный холестерин. Фосфолипиды и неэстерифицированный холестерин расположены в наружной оболочке таким образом, что полярные группы фиксированы наружу, а гидрофобные жирно-кислотные «хвосты» - внутрь частицы, и какая-то их часть даже погружена в липидное ядро. Кроме фосфолипидов на поверхности находятся белки - апопротеины, которые синтезируются в процессе формирования структуры липопротеина и могут

передаваться от одного типа липопротеинов к другим, определяя дальнейшее превращение и выполняя разнообразные функции:

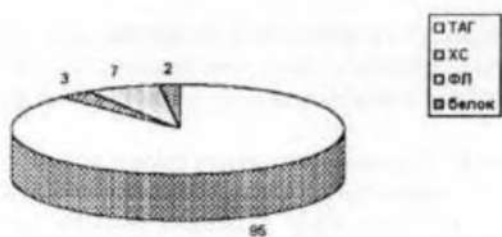
1. Помогают солюбилизовать эфиры холестерина и триглицериды, взаимодействуя с фосфолипидами.
2. Регулируют реакции липидов, липопротеинов с ферментами, такими как ЛХАТ (лецитинхолестеринацилтрансфераза), липопротеинлипаза, печеночная липаза.
3. Связываются с рецепторами на поверхности клеток, определяя место захвата и скорость деградации компонентов липопротеинов, в частности холестерина

Различают: апопротеины AI, AII, B - V100 и B48, C - CI, C II, C

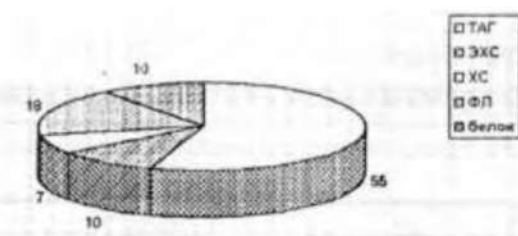
III, B. Они отличаются по молекулярной массе, строению, выполняемым функциям

Хиломикроны образуются в эпителии тонкого кишечника, транспортируют ТАГ экзогенного происхождения из кишечника в ткани. Это самые крупные (d - более 120 нм), но самые легкие частицы - их плотность колеблется от 0,92 до 0,98 г/мл. Белковая часть представлена apoB48, CII, E. Концентрация в плазме - 0,8-1,5

г/л



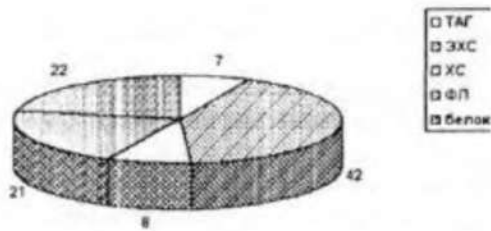
ЛПОНП синтезируются в клетках печени и транспортируют эндогенные ТАГ. Белковая часть представлена apoV100, CII, E (сле-ды), d= 30-100 нм, плотность 0,96 - 1,006 г/мл.



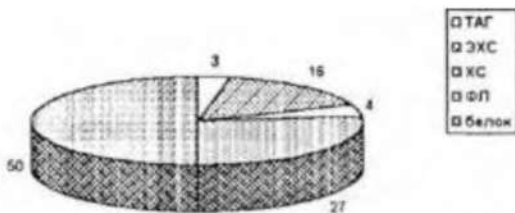


ЛППП - образуются в крови из ЛПОНП (промежуточная форма превращения ЛПОНП в ЛПНП). Плотность 1,006-1,019. Содержат 25% ТАГ, 30% ЭХС, 8% ХС, 23% ФЛ, 11% белка.

ЛПНП - синтезируются в плазме крови из ЛПОНП, являются транспортной формой холестерина в ткани. Белок представлен apoB100, d = >1-100 нм, удельный вес 1,019 - 1,063 г/мл. Концентрация в плазме - 3,2-4,5 г/л.



ЛПВП образуются в гепатоцитах. Белок, представлен apoA, Сп. E. d их колеблется от 7 до 15 нм (это самые маленькие, но самые тяжелые липопротеины), удельный вес 1,063-1,21. Синтезируются как предшественники в печени, обогащаются холестерином в крови, возвращают избыточный холестерин в печень и поставляют апопротеины в другие ЛП. (Например, apoC, E в хило-микроны). Концентрация в плазме - 1,3-4,2 г/л.



ЛПОВП - d - 5-30 нм удельный вес - выше 1,210. Содержат связанные с альбумином жирные кислоты, которые представляют собой транспортную форму липидов, мобилизованных из жировых депо при участии чувствительной к действию гормонов липазы жировой ткани (жирные кислоты в крови адсорбированы на поверхности сывороточного альбумина).

#### Метаболизм липопротеинов.

Ресинтезированные в эпителиальных клетках кишечника триглицериды и фосфолипиды, а также поступивший в эти клетки холестерин (здесь он частично этерифицируется), соединяются с основным белком хиломикрон apo B48, который синтезируется в энтероцитах и образуются незрелые хиломикроны. Они из-за своих больших размеров не способны проникать в кровеносные капилляры и диффундируют в лимфатическую систему, а затем в кровоток. В крови незрелые ХМ получают от ЛПВП апопротеины Сп. E, превращаясь в зрелые. Apo C, входящий в состав ХМ, взаимодействует с липопротеинлипазой, локализующейся на поверхности эндотелия сосудов, активирует ее и гидролизует ТАГ в составе ХМ до глицерина и свободных жирных кислот. Глицерин переносится в печень, СЖК окисляются в тканях или депонируются в виде ТАГ. Остаточные хиломикроны (структуры, образовавшиеся из ХМ после удаления основной части ТАГ) захватываются печенью через рецепторы, связывающие apoE. В гепатоцитах они подвергаются гидролитическому действию лизосомальных ферментов, в результате освобождаются холестерин, жирные кислоты, аминокислоты.

В печени холестерин, синтезированный гепатоцитами и поступивший из остаточных ХМ, вместе с другими липидами, включается в ЛПОНП, которые образуются с участием apo B100 (синтезируется в печени). В эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи липопротеины упаковываются в покрытые мембраной пузырьки и выводятся с помощью экзоцитоза. В кровь секреторуются незрелые ЛПОНП, и получая от ЛПВП apo C и apo E, становятся зрелыми, способными взаимодействовать с липопротеинлипазой. Липопротеинлипаза способствует гидролизу ТАГ, в липопротеинах возрастает относительное содержание холестерина и его эфиров, увеличивается плотность и уменьшаются линейные размеры. В результате ЛПОНП превращаются в ЛППП, а затем в ЛПНП.

Именно ЛПНП и ЛПОНП распознаются рецепторами клеток

- «ЛПНП-рецепторами», которые связываются с apoE и apoB100 и обеспечивают эндоцитоз. Клетки способны регулировать поступление холестерина путем увеличения, либо уменьшения количества свободных рецепторов. В норме взаимоотношение рецепторов эндотелиальных клеток с ЛПНП осуществляется по принципу обратной связи: активность рецепторов и, как следствие, количество холестерина, поступающего, обратно пропорционально его концентрации в клетках. Внутри клетки ЛПНП сливаются с лизосомой с образованием вторичных лизосом. Белки, ТАГ, ФЛ и ЭХ (компоненты ЛПНП и ЛПОНП) расщепляются, а продукты распада используются для нужд клетки.

Холестерин может накапливаться в цитозоле клеток в виде капель эфиров холестерина (этерификацию холестерина катализирует фермент ацетилхолестеринацилтрансфераза), он откладывается на мембране клетки, принимая участие в ее формировании, является ингибитором ключевого фермента синтеза холестерина

- ОМГ-КоА-редуктазы. Из-за большого содержания холестерина ЛПНП могут участвовать в формировании атеросклеротического повреждения артерий, потому они названы «атерогенными».

В печени происходит синтез ЛПВП, который начинается преимущественно в аппарате Гольджи клеток, где образуются диско-образные насцентные формы. В кровотоке они частично перераспределяются апопротеинами с другими транспортными формами липидов и поступают в различные органы. ЛПВП, имеющие примерно в 10 раз меньшую молекулярную массу, чем ЛПНП, легко проходят между клетками эндотелия и через стенку сосудов и активно «захватывают холестерин» (снимают его с поверхности клетки). ХС ЛПВП подвергается действию лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ), активируемой apoA; и происходит его этерификация. ЛХАТ катализирует перенос остатков жирных кислот с лецитина, присутствующего в ЛПВП, на холестерин. Фосфатидилхолин + холестерин  $\rightarrow$  лизофосфатидилхолин + эфир

ЛХАТ            холестерина

Образовавшиеся эфиры холестерина накапливаются в ядре частиц и ЛПВП превращаются в зрелые. С ЛПВП эфиры холестерина переносятся на ЛПОНП, ЛПНП с помощью особого белка-переносчика (белка, богатого аргинином). В их составе эфиры холестерина транспортируются в печень, где происходит катаболизм холестерина (используется на синтез желчных кислот). Таким образом, ЛПВП, освобождая ткани и кровь от избытка холестерина, оказывают антиатерогенное действие и получили название «антиатерогенные». Антиатерогенность ЛПВП связана также с высоким содержанием в них ФЛ, которые работают как антиоксиданты.

В норме концентрация общего холестерина = 3,9-6,5 ммоль/л ХС ЛПНП - 3,5-4,0 ммоль/л ХС ЛПВП у мужчин - 0,9-1,8 ммоль/л у женщин - 1,0-2,1 ммоль/л Повышение концентрации липопротеинов в плазме крови приводит к развитию гиперлипотеидемии (ГЛП). В 1970 г экспертами ВОЗ была предложена классификация ГЛП, разработанная Frederickson et al.

Тип	Нарушения липопротеинов	Холестерин плазмы	Триглицериды плазмы
I – гиперхиломикронемия	Избыток хиломикронов	повышен	повышены
II гипер-β-липопротеидемия	избыток ЛПНП	повышен или в норме	в норме
IIa	избыток ЛПНП	повышен	повышены
IIb	избыток ЛПНП и ЛПОНП	повышен	повышены

III тип – флотирующая гиперлипопротеидемия Или дис β-липопротеидемия	избыток ремнантов хиломикронов и ЛПНП	повышен	повышены
IV тип – гипер пре β-липопротеидемия	избыток хиломикронов и ЛПОНП	повышен или в норме	повышены
V тип – гипер пре β-липопротеидемия и хиломикронемия	избыток хиломикронов и ЛПОНП	повышен	повышены

Нарушение обмена холестерина приводит к атеросклерозу. В развитии данной патологии играет роль не только гиперлипопротеинемия, но и изменение соотношения ЛПНП и ЛПВП.

Существует несколько теорий развития атеросклероза:

\* Плазменная липидная концепция происхождения атеросклероза: повышение концентрации атерогенных липопротеинов (ЛПНП и их предшественников ЛПОНП) в плазме крови приводит к развитию заболевания. Сформулирована английским ученым Муант и отечественным биохимиком Климовым А.Н.

\* Аутоиммунная теория: мЛПНП (модифицированные ЛПНП) приобретают антигенные свойства (выступают в качестве антигена), на них вырабатываются антитела, образуется комплекс антиген (ЛПНП) - антитело, который повреждает сосудистую стенку.

Таким образом, при повышении концентрации ЛПНП и ЛПОНП, при модификации ЛПНП (мЛПНП - в них гликопротеины подвергаются десалированию, белок - гликозилированию, жирные кислоты - перекисному окислению липидов, происходит частичный протеолиз, агрегация или другие изменения), при образовании комплексов мЛПНП с антителами, они фагоцитируются моноцитами крови и с помощью «скавенджер» рецепторов поступают в интиму сосудов. Здесь они разрушаются, освобождая холестерин, который накапливается в цитозоле в виде капель эфиров холестерина, приводя к образованию «пенистых клеток». Нарушается функция клетки и субклеточных органелл, и она гибнет. «Пенистые» клетки, погибая, освобождают холестерин в межклеточное пространство и формируются атеросклеротические (липидные) пятна, а затем бляшки. Позже на их месте образуются фиброзные. Параллельно происходит агрегация тромбоцитов с образованием тромба, что ведет к сужению сосудов. В результате нарушается кровоснабжение органов, способствующих развитию различных осложнений: инсультов, инфарктов. Следовательно, в развитии атеросклероза ведущую роль играет повышение концентрации «атерогенных» липопротеинов (ЛПНП, ЛПОНП) и снижение «антиатерогенных» (ЛПВП).

## II. Цель деятельности студентов на занятии:

*Студент должен знать:*

1. Основные пути синтеза и распада холестерина.
2. Особенности регуляции его биосинтеза.
3. Роль нарушения обмена холестерина для понимания патогенеза заболеваний.
4. Какие транспортные формы липидов существуют; разновидности липопротеинов и их липидный состав.
5. Липопротеины, транспортирующие холестерин - атерогенные и антиатерогенные.
6. Содержание холестерина в плазме крови в ЛПНП, ЛПВП в норме, гиперлипопротеинемии.
7. Теории развития атеросклероза.

*Студент должен уметь:*

1. Определить концентрацию холестерина в сыворотке крови методом Илька.
2. . Оценить изменение качественного и количественного состава липопротеинов в норме и при атеросклерозе.

### III. Содержание обучения.

#### Основные вопросы:

1. Краткая характеристика холестерина, особенности его структуры, содержание холестерина в организме, во внутренних органах.
2. Соотношение свободного и этерифицированного холестерина в крови, тканях.
3. Экзогенный холестерин и его судьба
4. Источники эндогенного холестерина. Основные этапы холестериногенеза, их особенности.
5. Регуляция холестериногенеза в печени и стенке тонкой кишки.
6. Пути катаболизма холестерина
7. Нормальные величины концентрации холестерина в плазме крови
8. Нарушение обмена холестерина (гиперхолестеринемии, холестериноз) - атеросклероз.
9. Липопротеины, как транспортные формы липидов. Основные классы липопротеинов.
10. Характеристика отдельных классов липопротеинов.
11. Метаболизм липопротеинов.
12. Типы гиперлипидемий.
13. Изменение липопротеинового спектра плазмы крови при атеросклерозе. Теории развития атеросклероза

### IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

#### Лабораторные работы:

1. Количественное определение общего холестерина в крови, основанный на реакции Либермана-Бурхарда (метод Илька).

#### V. Наименование лабораторной работы.

Оснащение занятия:

1. Реактив Либермана-Бурхарда.
2. Стандартный (180 мг%) раствор холестерина.
3. Сыворотка крови.
4. Калибровочный график для определения холестерина.
5. ФЭК.

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

#### Количественное определение общего холестерина в крови, основанный на реакции Либермана-Бурхарда (метод Илька)

Принцип метода: Холестерин в присутствии уксусного ангидрида в смеси уксусной и серной кислот дает зеленое окрашивание. Интенсивность окраски прямо пропорционально концентрации холестерина.

Порядок выполнения работы: К 2,1 мл реактива Либермана-Бурхарда осторожно, очень медленно добавляют 0,1 мл негемолизированной сыворотки так, чтобы она стекла по стенке пробирки. Пробирку при этом энергично встряхивают 10-12 раз, после чего термостатируют 20 минут при + 37°C. Затем колориметрируют против реактива Либермана-Бурхарда на ФЭКе при красном светофильтре (630-690 нм) в кювете шириной 5 мм. Для перевода величины содержания холестерина в стандартной пробе, выра-

женной в мг, в значении концентрации (в мг %) общее количество холестерина, заключенное в пробе, умножают на 1000, так как сыворотку в опыт берут 0,1 мл, а расчет ведут на 100 мл ее.

Норма содержания холестерина в сыворотке крови - 115-240 мг%.

Определение этим методом содержание холестерина в сыворотке крови практически здоровых людей составляет 3,0-6,2 ммоль/л (в среднем 4,3 ммоль/л).

5,2-6,5 ммоль/л относят к пограничным значениям содержания этого липида и оно должно насторожить врача для более детального обследования с целью выявления прогрессирующего атерогенных нарушений в его организме.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.**

**VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.**

1. Особенности распределения холестерина в животном организме.
2. Локализация холестерина в клетке, соотношение свободно-го (НЭХС) и эстерифицированного (ЭХС).
3. Источники холестерина в организме человека (понятие об экзогенном и эндогенном холестерине).
4. Основные источники эндогенного холестерина.
5. В каких органах и тканях синтезируется холестерин?
6. Основные этапы биосинтеза холестерина.
7. Условия, необходимые для биосинтеза холестерина.
8. Мевалоновая кислота, ее роль в холестериногенезе.
9. ГМГ-КоА-редуктаза и регуляция синтеза холестерина.
10. Механизм действия лекарственных препаратов, подавляющих синтез холестерина.
11. Транспортные формы холестерина.
12. Пути катаболизма холестерина. Окисление холестерина в желчные кислоты и роль фермента 7 $\alpha$ -гидроксилазы в этом процессе.
13. Нарушения обмена холестерина, их причины.
14. Коэффициент атерогенности крови (КаК), его значение в норме и при атеросклерозе.
15. Методы определения холестерина в плазме крови.
16. Транспортные формы экзогенных липидов - хиломикроны, роль лимфы.
17. Транспортные формы липидов крови.
18. Липопротеины, их строение.
19. Характеристика апопротеинов.
20. Охарактеризуйте ЛПОНП, как основную транспортную форму ТАГ эндогенного происхождения.
21. Охарактеризуйте ЛПНП, как основную транспортную форму холестерина.
22. Атерогенные липопротеины, их характеристика.
23. Антиатерогенные липопротеины, их характеристика.
24. Какова концентрация холестерина в плазме крови и в ЛПНП и ЛПВП в норме?
25. Назовите типы гиперлипидопроteinемий.
26. Понятие о коэффициенте атерогенности.
27. Назовите факторы риска развития атеросклероза.
28. Какие теории возникновения атеросклероза вы знаете.

Тестовые задачи:

1. Атерогенными липопротеинами являются:

1) хиломикроны

2) ЛПОНП

3) ЛПНП

4) ЛПВП

5) 2,3

2. Антиатерогенными липопротеинами являются:

1) хиломикроны

2) ЛПОНП

3) ЛПНП

4) ЛПВП

5) 2,3

3. Хиломикроны являются основной транспортной формой :

1) ТАГ экзогенного происхождения

2) ТАГ эндогенного происхождения

3) холестерина

4) фосфолипидов

5) белка

6)

4. Какие из перечисленных функций выполняют ЛПВП:

1) холестеринакцепторная

2) задерживают перекисидацию ЛПНП

3) транспорт холестерина в клетку

4) транспорт ТАГ

5) всё вышеизложенное не верно

6) верно 3,4

5. Какие из перечисленных рецепторов участвуют в катаболизме ЛПНП:

1) Apo - CIII - рецепторы

2) Apo - AI - рецепторы

3) Apo - B100 - рецепторы

4) Apo - B48 - рецепторы

5) Apo - E - рецепторы

6) Apo - B100 E - рецепторы

6. Какое соединение тормозит синтез этих рецепторов?

- 1) холевая кислота;
- 2) холестерин;
- 3) жирные кислоты;
- 4) триацилглицерины;
- 5) все перечисленное выше не верно.

16. Холестерин синтезируется:

- 1) из бутирил КоА
- 2) из малонил КоА
- 3) из сукцинил КоА
- 4) из ацетил КоА

17. Синтез холестерина регулируется на уровне:

- 1) ГМГ КоА-синтетазы
- 2) ГМГ КоА-лиазы
- 3) ГМГ КоА-редуктазы
- 4) 7 α-гидроксилазы

18. Активность ГМГ КоА редуктазы регулируется:

- 1) Аллостерически по механизму ретроингибирования холестеринем, поступающим в цитозоль клетки в составе ЛНП.
- 2) Фосфо- и дефосфорилированием.
- 3) Изменением количества ферментов.
- 4) Ассоциацией-диссоциацией субъединиц.

19. Холестерин является:

- 1) Компонентом клеточных мембран.
- 2) Предшественником витамина Д3
- 3) Предшественником желчных кислот.
- 4) Предшественником стероидных гормонов (половых и коры надпочечников).

**Задача**

Какой из путей использования холестерина будет усилен у пациентов, получающих препараты, уменьшающие всасывание желчных кислот из кишечника, а так же у облученных животных в период восстановления?

**Вопросы для педиатрического факультета:**

1. Особенности обмена холестерина у новорожденных детей.

**VII. Хронокарта учебного занятия**

1. Программированный письменный самоконтроль - 15 минут.
2. Разбор теоретических вопросов темы - 20 минут.
3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ - 5 минут.
4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа - 80 минут.
5. Подведение итогов занятия - 15 минут.
6. Всего 135 минут.

IX. Самостоятельная работа студента:

Класс	Липидный компонент в %				Белок в%	Основные белки
	ФЛ	ХС	ЭХС	ТАГ		
Хиломикроны ЛПОНП (пре-Р-ЛП) ЛПНП (Р-ЛП) ЛПВП (а-ЛП)						

X. Список использованной литературы:

*Основная:*

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2012
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2015
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2012, «ГЭОТАР - медиа»
1. Ф.С. Дзугоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
2. Ф.С. Дзугоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

*Дополнительная:*

1. Е.А. Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия». 1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринстейн Б., Гринстейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия



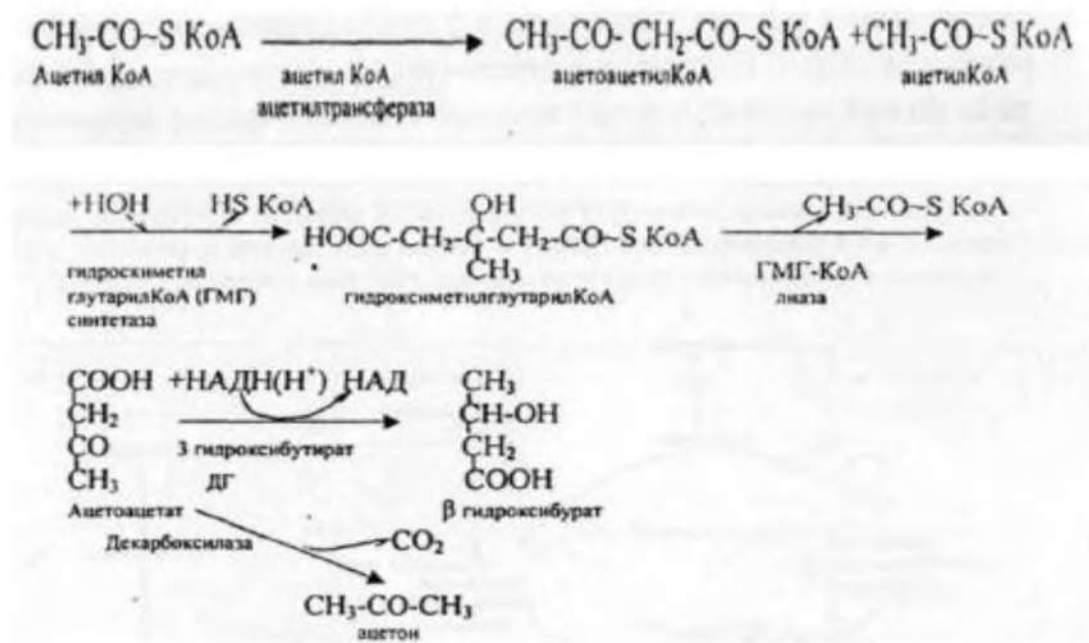
Тема: МЕТАБОЛИЗМ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ. КЕТОАЦИДОЗ. ПАТОЛОГИИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА.

I. Научно-методическое обоснование темы:

В условиях сниженной утилизации глюкозы как главного источника энергии: при голодании, при употреблении пищи, богатой жирами, но с низким содержанием углеводов, при длительной физической работе, сахарном диабете происходит активный синтез источников энергии - кетонных или ацетоновых тел. При голодании и на фоне физического стресса гормоны глюкагон и адреналин через аденилатциклязную систему стимулируют процесс липолиза тканевых липидов. Освобождающиеся свободные

жирные кислоты транспортируются с альбумином в печень, усиливается Р-окисление, образуется большое количество ацетил-КоА. Поскольку скорость окисления ацетил КоА в ЦТК снижена в результате ингибирования регуляторных ферментов цитратного цикла аллостерическими ингибиторами АТФ и НАДН+(Н+), то ацетил КоА идет на синтез ацетоновых или кетонных тел. Более того, при высокой концентрации НАДН+(Н+) ОАА восстанавливается до малата, переносится в цитоплазму, окисляется и используется в процессе глюконеогенеза. Это создает дефицит ОАА и усугубляет неадекватность функционирования ЦТК.

Синтез происходит в митохондриях печени из ацетил КоА, образующегося в результате Р-окисления жирных кислот. Основной путь синтеза - ОМГ-лиазный.



Возможен деацетилазный, но поскольку фермент деацетилаза мало активна, то этот путь недостаточно эффективен.

Утилизация кетонных тел как источников энергии происходит клетками периферических тканей: мышечной, почечной и мозговой. Кетонные тела проходят через гематоэнцефалический

барьер, являясь гидрофильными молекулами, и наряду с глюкозой используются нервной тканью. При катаболизме они распадаются до ацетил КоА, который не успевает окисляться в ЦТК, поэтому наблюдается кетонемия и кетонурия. Являясь умеренно сильными кислотами, диссоциируют при рН крови и вызывают метаболический ацидоз (сдвиг рН в кислую сторону). Присоединяя ионы Na, K, экскреция кетонных тел вызывает повышение выделения ионов и воды. Развивается обезвоживание и нарушение гидроионного баланса.

Метаболизм мембранных сфинголипидов, к которым относятся сфингомиелин, цереброзиды, ганглиозиды особенно подвержен нарушениям, обусловленным генетическими дефектами ферментов, их деградацией. При этом сфинголипиды или продукты их частичного распада накапливаются в ткани в больших количествах. Сфинголипидозами называются заболевания, связанные с накоплением в клетках организма сфингосодержащих липидов, что обусловлено нарушением распада этих соединений в лизосомах вследствие

врожденной недостаточности соответствующих ферментов. Накопление сфинголипидов нарушает нормальное функционирование клетки.

К сфинголипидозам относятся болезнь Гоше (накопление глюкоцереброзидов), болезнь Тея-Сакса (накопление ганглиозидов), болезнь Нимана-Пика (накопление сфингомиелина) и др. Данные заболевания характеризуются разнообразными симптомами, часты психические и неврологические симптомы.

При болезни Нимана-Пика сфингомиелин накапливается в мозгу, селезенке, печени. Болезнь проявляется у детей уже вскоре после рождения и приводит к задержке умственного развития и смерти в раннем возрасте. Причиной болезни Нимана-

Пика является генетический дефект, обусловленный нарушением процессов расщепления сфингомиелина ферментом сфингомиелиназой, который отщепляет холин от сфингомиелина. Значительно чаще встречается болезнь Тея-Сакса, при которой из-за отсутствия лизосомального фермента N-ацетилгексозаминидазы, осуществляющего гидролиз связи между остатками  $\alpha$ -галактозамина и D-галактозу в полярной головке молекулы ганглиозида, в мозгу и селезенке накапливаются ганглиозиды определенного типа. Развивается дегенеративный процесс в нервной системе, что приводит к задержке умственного развития, слепоте и смерти в раннем возрасте. Болезнь Гоше — характеризуется накоплением в мозговой и других тканях глюкоцереброзидов из-за дефицита фермента глюкоцереброзидазы. Дети погибают в раннем детском возрасте.

## II. Цель деятельности студентов на занятии:

*Студент должен знать:*

1. Пути образования кетоновых тел.
2. Ткани, утилизирующие кетоновые тела.

*Студент должен уметь:*

1. Определить кетоновые тела в моче и сделать соответствующие выводы.

## III. Содержание обучения.

**Основные вопросы:**

1. Пути образования кетоновых тел.
2. Ткани, утилизирующие ацетоновые или кетоновые тела.
3. Последствия кетогенеза.

## IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

**Лабораторные работы:**

1. Проба Легалья на ацетон.
2. Реакции Герхардта на ацетоуксусную кислоту.

**Оснащение занятия:**

**Оборудование, реактивы, исследуемый материал:**

1. Нитропруссид натрия - 10% раствор
2. Уксусная кислота, ледяная
3. Едкий натр - 10% раствор
4. Хлорное железо - 5 % раствор
5. Моча, содержащая ацетон и ацетоуксусную кислоту.

## Проба Легалья на ацетон

Принцип метода: Ацетон в щелочной среде образует с нитропруссидом натрия оранжево-красное окрашивание.

Порядок выполнения работы: В пробирку наливают 5 капель мочи, 5 капель 1%-ного раствора едкого натра и 5 капель свежеприготовленного нитропруссид натрия. Появляется оранжево-красное окрашивание. Добавляют 3 капли ледяной уксусной кислоты - появляется вишнево-красное окрашивание.

Предполагаемые результаты: появляется вишнево-красное окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

### Реакции Герхардта на ацетоуксусную кислоту

Принцип метода: Ацетоуксусная кислота с раствором хлорида железа дает вишнево-красное окрашивание. При стоянии окраска бледнеет вследствие самопроизвольного декарбонирования ацетоуксусной кислоты.

Порядок выполнения работы: К 5 каплям мочи прибавляют по каплям 5%-ный раствор хлорного железа; при этом выпадает осадок фосфатов в форме  $FePO_4$ . При наличии ацетоуксусной кислоты от дальнейшего прибавления хлорного железа появляется вишнево-красное окрашивание. Добавляют 3 капли ледяной уксусной кислоты - появляется вишнево-красное окрашивание.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

**VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.**

**VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.**

1. Ацетоновые тела, процесс их образования в норме и патологии.
2. Какие органы используют кетоновые тела в качестве источников энергии при длительном голодании?
3. Объясните почему при увеличении концентрации кетоновых тел в крови развивается ацидоз?
4. Превращение ацетоацетил КоА в норме и патологии.
5. Роль тиолазы и деацетилазы в этом процессе.

**Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.**

1. Причины склонности детей к кетозам.

**VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Программированный письменный самоконтроль - 15 минут.
2. Разбор теоретических вопросов темы - 20 минут.
3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ - 5 минут.
4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов, самостоятельная работа - 80 минут.
5. Подведение итогов занятия - 15 минут.
6. Всего 135 минут.

**IX. Самостоятельная работа студента:**

## Х. Список используемой литературы

### *Основная:*

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2012
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2015
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2012, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

### *Дополнительная:*

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия

