

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ  
РАЗВИТИЮ»

КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**РУКОВОДСТВО К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ  
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

Владикавказ 2008

*Руководство к практическим занятиям по биологической химии  
разработано коллективом кафедры биохимии ГОУ ВПО  
СОГМА Росздрава*

***Составители:*** профессор **Дзугкоева Ф.С.**  
доцент **Каряева Э.А.**

ассистенты:  
к.м.н. **Гурина А.Е.**;  
**Амбарцумян Н.М.**;  
**Можаева И.В.**;  
**Дзугкоев С.Г.**;  
**Такоева Е.А.**

***Рецензенты:*** зав. кафедрой патологической физиологии  
ГОУ ВПО СОГМА Росздрава, д.м.н.,  
профессор **Хетагурова Л.Г.**;  
зав. кафедрой зоологии Северо-Осетинского  
государственного университета  
им. К.Л. Хетагурова, д.б.н.,  
профессор **Чопикашвили Л.В.**

## ЗАНЯТИЕ №7

### Тема: ОБМЕН СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ

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

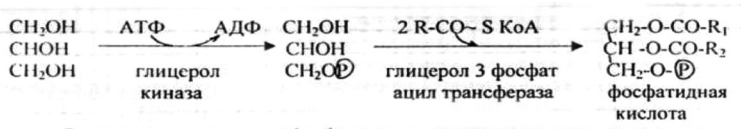
Фосфолипиды бывают глицерофосфолипиды, сфинголипиды. К глицерофосфолипидам относятся: фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины, фосфатидилсерины, фосфатидилинозитолы, плазмалогены, кардиолипины. К сфинголипидам относится сфингомиелин.

#### Биологические функции:

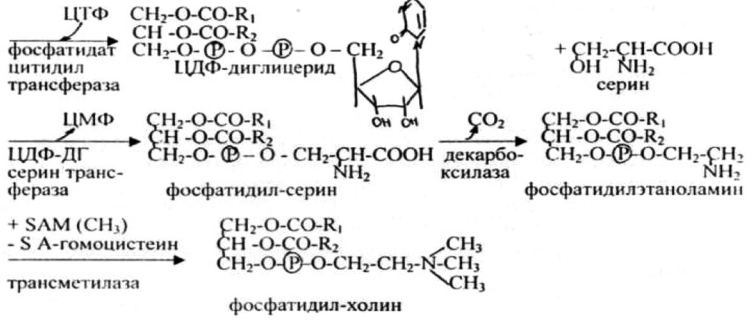
- пластическая, то есть являются компонентами клеточных мембран
- полиненасыщенные жирные кислоты — предшественники простагландинов.
- определяют проницаемость клеточных мембран (участвуют в процессе мембранного транспорта).
- являются антиоксидантами.
- снижают поверхностное натяжение альвеол – противостоит коагуляционному действию сурфактанта — дипальмитоилфосфатидилхолина.
- 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 митохондриях. Центральную роль играет фосфатидная кислота и цитидилтрансфераза.

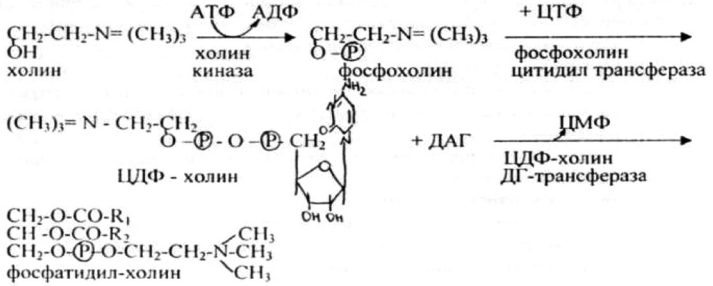
Фосфолипиды в  $\alpha$  положении содержат насыщенные жирные кислоты: пальмитиновую, стеариновую, а в  $\beta$ -ненасыщенные (олеиновую, линолевую, арахидоновую).



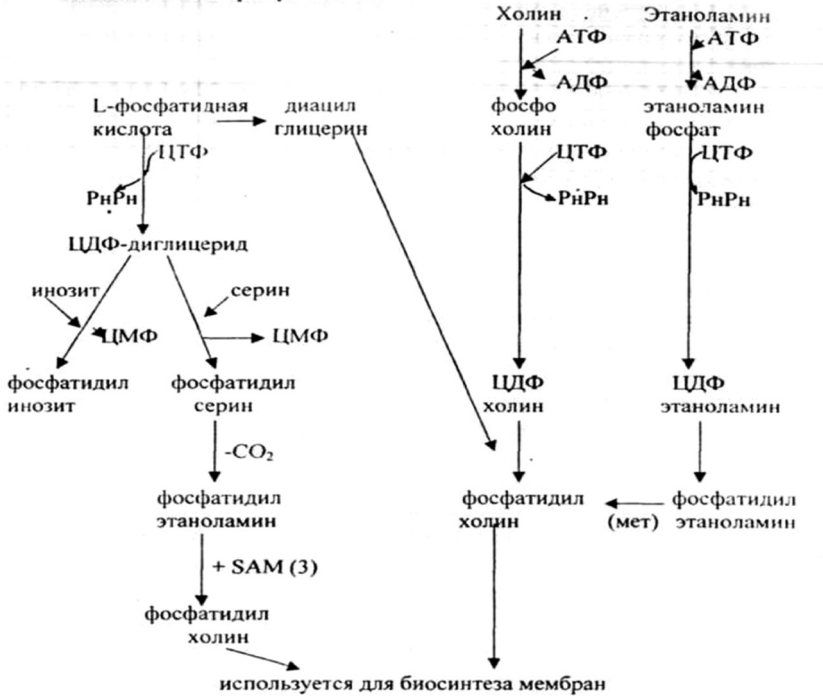
Высоким содержанием фосфолипидов отличаются мозг, нервы, сердце, почки.



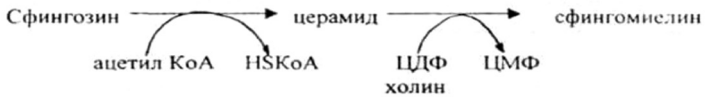
2-ой путь



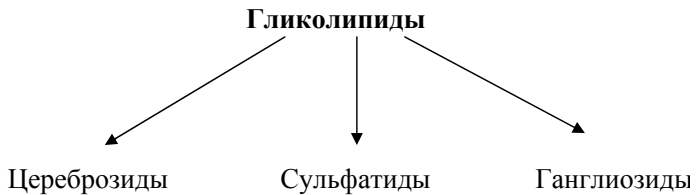
### Схема синтеза фосфолипидов



Сфингомиелин – основной компонент миелиновых оболочек, коры головного мозга



Отщепление фосфатидилхолина происходит сфингомиелиназой. 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. Цереброзиды миелина — моногликозилцерамиды, цереброзиды серого вещества — ди-, три-, тетрагликозилцерамиды.

Ганглиозиды находятся в основном в сером веществе и в органах: мозговом веществе надпочечников, плаценте, эритроцитах, селезенке, легких, почках печени, мышцах.

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

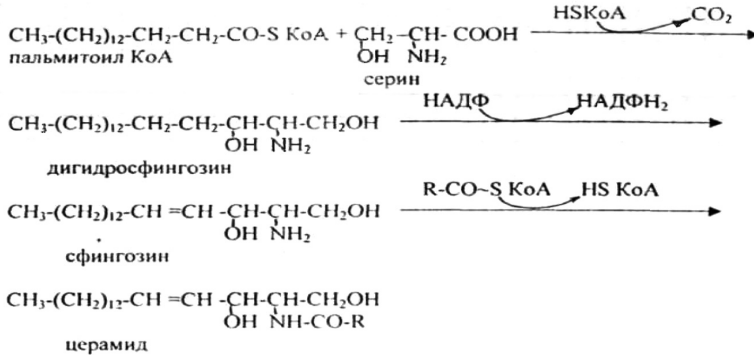
В регуляции транспорта катионов принимает участие взаимодействие с участием фермента — нейраминидазы, ее активность в нервной ткани высока.

Связывает токсины столбняка, инактивирует некоторые бактериальные яды (дифтерийный токсин, связывает вирусные частицы). Ганглиозиды придают мембране эритроцита характерную функциональную особенность.

Полярные липиды: фосфоглицеролы, сфинголипиды и гликолипиды не запасаются в жировых клетках, а встраиваются в клеточные мембраны. Фосфоглицеролы, синтезирующиеся ферментами ЭПР, встраиваются в основном в липидный бислой ретикулума. Мембраны ЭПР служат предшественниками мембран аппарата Гольджи. От аппарата Гольджи постоянно отшнуровываются мембранные пузырьки, в которых продуцируемый секрет транспортируется к плазматической мембране. Фосфоглицеролы мембран переносятся из ЭПР в митохондрии при помощи транспортных белков. Таким образом, в клетках существует поток вновь синтезированных липидов, направленных к различным типам клеточных мембран.

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

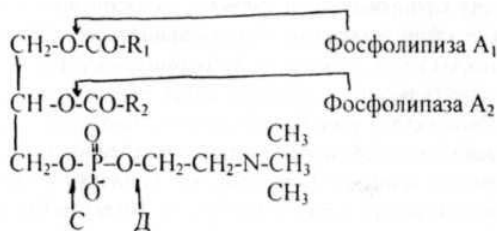
**Схема биосинтеза сфинголипидов, цереброзидов и ганглиозидов:**



Затем последующее присоединение:

- холина – с образованием сфингомиелинов
- сахаров с образованием цереброзидов
- сахаров и сиаловой кислоты с образованием ганглиозидов (компоненты биомембран)

Расщепление липидов катализируется гидролитическими ферментами, способными расщеплять строго определенные ковалентные 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  $O_2$  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  $NH_2$  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 (антиоксидант-ная система).

Метаболизм мембранных сфинголипидов, к которым относятся сфинго-миелин, цереброзиды, ганглиозиды особенно подвержен нарушениям, обусловленным генетическими дефектами ферментов, их деградацией. При этом сфин-голипиды 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 N-ацетил-D-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 биосинтеза фосфо- и гликолипидов.
2. Фосфатидная кислота — как общий предшественник в синтезе липидов.
3. Два пути образования фосфатидилхолина (роль метионина).
4. Углеводы, используемые для синтеза гликолипидов.
5. Образование церамида, как необходимого соединения для синтеза сфинголипидов, цереброзидов, ганглиозидов.
6. Механизмы обновления фосфо- и гликолипидов. Роль перекисного окисления липидов.
7. Сфинголипидозы.

### ***Студент должен уметь:***

1. Оценить изменение качественного и количественного состава липопротеинов в норме и при патологии.

## **III. Содержание обучения.**

### **Основные вопросы:**

1. Классификация сложных липидов.

2. Биологическая роль фосфолипидов.
3. Пути биосинтеза глицерофосфолипидов.
4. Биосинтез сфинголипидов и их биологическая роль.
5. Гликолипиды — биосинтез цереброзидов, роль церамида в процессе синтеза.
6. Характеристика ганглиозидов, основные реакции синтеза.
7. Катаболизм фосфолипидов — роль фосфолипазы  $A_2$ .
8. Роль перекисного окисления липидов в самообновлении фосфолипидов клеточных мембран.
9. Болезни накопления — липидозы.

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

##### **Лабораторные работы:**

#### **V. Наименование лабораторной работы.**

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

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

1. Перечислите и напишите представители фосфоглицеролов.
2. Перечислите биологические функции фосфоглицеролов.
3. Пути синтеза глицерофосфолипидов. Роль фосфатидной кислоты.
4. Запасной путь синтеза глицерофосфолипидов.
5. Ферменты, участвующие в катаболизме фосфолипидов.
6. Роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) в самообновлении фосфолипидов клеточных мембран.
7. Напишите синтез сфингомиелина, роль церамида.
8. Представители гликолипидов и их биологическая роль.
9. Напишите синтез цереброзидов.
10. Охарактеризуйте структурные особенности ганглиозидов и их биологическую роль.

11. 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. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М.: Медицина, 1998. 704 с.
2. Родуэлл и др. Биохимия человека. М.: Мир, 1993.
3. Камышников В.С. Справочник по клинической, биохимической, лабораторной диагностике. Минск: Беларусь, 2000.

#### ***Дополнительная:***

1. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липопротеиды, дислипидопротеинемии и атеросклероз. Ленинград: Медицина, 1984.

## РАЗДЕЛ VI «ОБМЕН БЕЛКОВ»

### ЗАНЯТИЕ 1

**Тема: ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ГНИЕНИЕ БЕЛКОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ. АНАЛИЗ ЖЕЛУДОЧНОГО И ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО СОКА**

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

Белковый обмен находится в динамическом состоянии, поскольку ежедневно разрушается и синтезируется до 400 г белков. Синтез эндогенных белков возможен при постоянном пополнении пула аминокислот полноценными экзогенными (пищевыми) белками. Поэтому полноценность потребляемых белков должна определяться их количественным поступлением и качеством потребляемого белка.

Количественная норма белков может быть представлена:

1. Минимальным поступлением белка, необходимого для восполнения распадающихся в организме белков (коэффициент изнашиваемости), равным 35-50 г/сут.

2. Для поддержания же азотистого равновесия требуется оптимальное количество пищевого белка с колебаниями 80-100 г/сут. Эти колебания зависят от возраста, пола, тяжести выполняемой работы, т.е. профессиональной группы. При усиленной мышечной нагрузке — 150 г/сут. У детей потребность белка определяется возрастом и массой тела.

Потребляемые белки должны быть полноценными: во-первых, включать полный набор аминокислот, особенно эссенциальных; во-вторых, белки должны быть легко усвояемые, что определяется соответствием аминокислотного состава пищевого белка и собственных белков организма. Наиболее полноценными являются белки животного происхождения (мясо, рыба, яйцо, сыр, творог).

Об интенсивности белкового обмена судят по азотистому балансу. У взрослого здорового человека при нормальном питании

сохраняется азотистое равновесие-первый вариант; второй — положительный азотистый баланс: потребляемого азота больше теряемого (растущий организм, потребление анаболиков, при беременности, выздоравливающий больной, заболеваниях печени и почек). Третий вариант — отрицательный азотистый баланс: азот вводимый меньше азота, теряемого (старение, белковое голодание, хронические заболевания, ожоги, онкопатология).

Пищевые белки в желудочно-кишечном тракте подвергаются ферментативному гидролизу комплексом протеолитических ферментов, которые относятся к III классу (гидролаз), подклассу пептидаз, подподклассу эндо- и экзопептидаз. Протеолитические ферменты обладают относительной субстратной специфичностью и к собственным белкам, поэтому синтезируются до проферментов (зимогенов). Активируются в полости желудка и кишечника путем частичного протеолиза. Процесс ферментативного расщепления начинается под влиянием желудочного сока, ферменты которого синтезируются главными клетками слизистой желудка и представлены эндопептидазами. Последние вырабатываются в виде зимогенов — пепсиногена и его производных.

Активируется пепсиноген (ММ — 40000 Да) соляной кислотой и аутокаталитически путем частичного протеолиза. Молекулярная масса пепсина 32000 Да. Высокая активность поддерживается резко кислой реакцией среды: рН желудочного сока натошак 1,0-1,5, на фоне пищеварения 2-2,5. Поддерживается такая среда НС1, которая синтезируется париетальными клетками слизистой желудка. Кроме того НС1 денатурирует белки пищи, оказывает бактерицидное действие, способствует усвоению железа, обеспечивает формирование химуса и переход пищи в 12-перстную кишку, способствует выработке секретина.

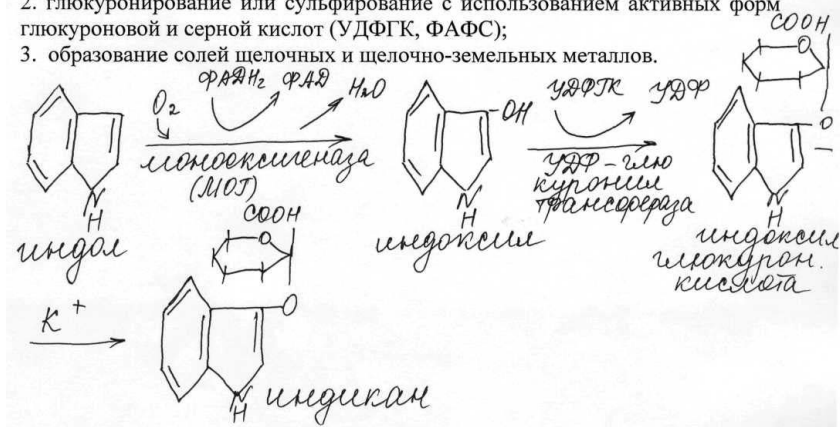
Пепсин катализирует гидролиз пептидных связей, образованных остатками ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин) связь лей-глу. Из пепсиногена образуется другой пепсиноподобный фермент — гастриксин (Мг- 31500 Да), оптимум рН (3,5 — 4,0). В нормальном желудочном соке соотношение пепсин/гастриксин 4:1. Реннин содержится в желудочном соке грудных детей, оптимум рН — 4,5. В присутствии ионов кальция реннин

переводит водорастворимый казеиноген в нерастворимый казеин. Конечными продуктами ферментативного гидролиза белков в желудке являются полипептиды и небольшое количество нерасщепленных белков.

Дальнейший гидролиз белков осуществляется в 12-перстной кишке группой сериновых протеиназ, которые поступают с соком поджелудочной железы в виде проферментов: трипсиноген (эндопептидаза) — активируется энтерокиназой с образованием затравочного трипсина, который аутокаталитически активирует остальной трипсиноген. Трипсин катализирует гидролиз пептидных связей, образованных остатками основных аминокислот (лизин, аргинин). Другой фермент химотрипсин (эндопептидаза) при участии трипсина образует активные формы. Катализируют химотрипсины гидролиз пептидных связей, образованных остатками ароматических аминокислот. Белки эластина и коллаген расщепляются специфическими ферментами эластазой и коллагеназой. Это полостное пищеварение, в результате которого образуются олигопептиды. Дальнейшее расщепление пептидов осуществляется на поверхности щеточной каймы слизистой кишечника (пристеночное пищеварение). На гликокаликсе экзопептидазы продолжают гидролиз олигопептидов. Экзопептидазы (карбоксипептидазы и аминопептидазы) — ферменты панкреатического и кишечного происхождения, причем карбоксипептидазы выделяются в виде зимогенов, а аминопептидазы, синтезируемые слизистой кишечника выделяются в активной форме. На 60% осуществляется пристеночное пищеварение. Гидролиз белков завершается образованием аминокислот, которые подвергаются абсорбции. Всасывание аминокислот осуществляется путем активного транспорта за счет градиента концентрации аминокислот и натрия. В процессах всасывания некоторых аминокислот большая роль принадлежит мембранному ферменту  $\gamma$ -глутамилтранспептидазе (кофактор — глутатион). Аминокислоты, пептиды, не подвергшиеся абсорбции в толстом кишечнике при участии ферментов микрофлоры используются как пластический материал, а избытки подвергаются декарбоксилированию и дезаминированию, об-

разуя токсические вещества (фенол, крезол, индол, аммиак, сероводород, углекислый газ и др.). В печени они подвергаются обезвреживанию в три этапа:

1. окисление токсического вещества;
2. глюкуронирование или сульфирование с использованием активных форм глюкуроновой и серной кислот (УДФГК, ФАФС);
3. образование солей щелочных и щелочно-земельных металлов.



Аминокислоты могут быть и эндогенного происхождения. Тканевые белки так же подвергаются протеолизу при участии лизосомальных гидролаз (катепсинов).

При патологии желудка нарушение секреторной функции желудка ведёт к патологии пищеварения и морфологическим изменениям самой слизистой (язвы, гастриты, полипы). В желудочном соке появляются патологические компоненты, органические кислоты (ПВК, молочная кислота), кровь.

## II. Цель деятельности студентов на занятии

### Студент должен знать:

1. Биологическое значение белков;
2. Физиологические нормы белка: качественные и количественные;
3. Показатели интенсивности белкового обмена;
4. Состав желудочного сока здорового человека, протеолитические ферменты;
5. Роль HCl в процессах переваривания белков;

6. Механизмы активации протеолитических ферментов, специфичность действия;
7. Патологические изменения кислотности желудочного сока. Патологические компоненты желудочного сока, их диагностическое значение;
8. Состав кишечного сока. Ферменты поджелудочной железы, активация, специфичность действия. Ферменты кишечника;
9. Конечные продукты ферментативного гидролиза и механизмы абсорбции аминокислот. Роль пристеночного пищеварения;
10. Гниение белков в толстом кишечнике, обезвреживание продуктов гниения в печени.

***Студент должен уметь:***

1. Написать формулы незаменимых аминокислот;
2. Изобразить в виде схемы процесс ферментативного гидролиза пищевых белков;
3. Указать роль HCl в процессе активации ферментов желудочного сока;
4. Определить активность пепсина исследуемого желудочного сока;
5. Обнаружить в исследуемом желудочном соке патологические компоненты (молочную кислоту, кровь) и интерпретировать полученные результаты
6. Определить оптимальные условия среды и температуры, при которых осуществляется протеолиз под действием трипсина;
  1. Написать процесс обезвреживания токсических веществ (индола) формулами.

**А. Содержание обучения:**

**Основные вопросы:**

1. Характеристика пищевых белков: количественная и качественная.
2. Азотистый баланс — критерии интенсивности белкового обмена.
3. Переваривание белков под влиянием желудочного сока.



Характеристика протеолитических ферментов желудочного сока. Особенности катализа под влиянием ферментов желудочного сока.

4. Определение активности пепсина желудочного сока.
5. Роль HCl в переваривании белков в желудке.
6. Патологические компоненты желудочного сока, методы обнаружения.
7. Переваривание белков в различных отделах тонкого кишечника.
8. Характеристика протеиназ: трипсина, химотрипсина, активация их.
9. Экзопептидазы, характеристика, роль в переваривании пептидов. Значение пристеночного пищеварения.
10. Механизмы всасывания аминокислот; значение  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы.
11. Гниение белков (аминокислот) в толстом кишечнике; обезвреживание продуктов гниения в печени.

#### **IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО. Лабораторные работы:**

1. Количественное определение активности пепсина желудочного сока.
2. Действие панкреатина на фибрин.
3. Обнаружение некоторых патологических компонентов желудочного сока (молочная кислота, кровь).

**Наглядные пособия:** *Таблицы*

#### **V. Наименование лабораторной работы.**

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1**

#### **Количественное определение активности пепсина желудочного сока**

**Принцип метода:** В основе метода лежит способность пепсина в желудочном соке створаживать белок молока — казеиноген. Створаживание молочно-ацетатной смеси при pH 4,9 и при t

25<sup>0</sup>С пепсином происходит строго параллельно его способности переваривать белки. За единицу активности пепсина принимают то его количество, которое при указанных условиях створаживает 5мл молочно-ацетатной смеси за 60 секунд (это условная единица соответствует 0,01 мл кристаллического пепсина). Желудочный сок в норме в 1 мл содержит 40-60 ед. пепсина.

**Методика выполнения:** На дно пробирки с помощью микропипетки наливают 0,1 мл желудочного сока, а в другую пробирку наливают 5 мл молочно-ацетатной смеси. Помещают обе пробирки в водяную баню, нагретую до 25<sup>0</sup>С на 5 минут. Быстро переливают молочно-ацетатную смесь в пробирку с испытуемым желудочным соком и одновременно включают секундомер, пробирку встряхивают. Момент приливания смеси отмечают по секундомеру. Пробирку со смесью держат в водяной бане, наклоняют и следят за появлением на её стенках первых хлопьев казеина. В момент их появления секундомер останавливают и записывают время створаживания смеси в секундах.

**Расчёт:** Для расчёта активности пепсина в 1 мл желудочного сока делят 60/П, где П — количество найденных секунд. Умножая на 10, определяем активность пепсина в 1 мл желудочного сока.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

### Обнаружение некоторых патологических компонентов желудочного сока (молочная кислота, кровь)

**Принцип метода:** В желудочном соке при ряде заболеваний могут появляться другие вещества: молочная кислота, кровь, летучие жирные кислоты, желчные пигменты. Молочную кислоту определяют в желудочном содержимом реакцией Уффельмана, принцип которой заключается в том, что молочная кислота в присутствии фенолята железа образует лактат железа желто-зеленого цвета.

Кровь обнаруживается бензидиновой пробой. Реакция обусловлена способностью гемоглобина катализировать окисление

бензидина перекисью водорода. Бензидин, окисляясь, приобретает синюю окраску.

**Методика выполнения:** 1. *Обнаружение молочной кислоты:* к реактиву Уффельмана добавляют 5 капель желудочного патологического сока до появления жёлто-зелёного окрашивания (лактат железа).

2. *Обнаружение крови:* к 5 каплям 1% раствора бензидина приливают 5 капель 3% раствора  $H_2O_2$  и 5 капель патологического желудочного сока. При попадании крови в желудочный сок в желудочном соке появляется синее окрашивание (окисленный бензидин).

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3

#### Переваривание фибрина панкреатином

**Принцип метода:** О действии панкреатина можно судить по расщеплению белка фибрина, окрашенного генциановым фиолетовым, так как краска при этом переходит в раствор.

**Методика выполнения:** В три пробирки наливают по 3 мл панкреатина или вытяжки из поджелудочной железы слабощелочной реакции на лакмус. 1 пробирку оставляют без изменений, содержимое 2 пробирки кипятят 2-3 минуты и охлаждают, а содержимое третьей пробирки подкисляют 2% раствором уксусной кислоты до слабокислой реакции на лакмус. Во все пробирки добавляют по 100 мг окрашенного фибрина и помещают в термостат при  $+38^{\circ}C$  на 15-20 минут.

Результаты опыта занести в таблицу.

Фермент	Субстрат	Условия реакции		Результаты реакции	Выводы
		t°C	pH среды		
Трипсин	фибрин	+37	8		
Трипсин	фибрин	+100	8		
Трипсин	фибрин	+37	5		

### ***Предполагаемые результаты:***

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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

1. Назвать источники белков.
2. Дать количественную и качественную характеристику нормы белков.
3. Критерии, определяющие полноценность потребляемых белков.
4. Перечислить и написать незаменимые аминокислоты.
5. Охарактеризовать понятие «резервные белки».
6. Азотистый баланс, его варианты — как критерии интенсивности белкового обмена.
7. Характеристика протеолитических ферментов, условия и механизмы их активации.
8. Роль HCl в пищеварении.
9. Пристеночное пищеварение.
10. Механизмы всасывания аминокислоты.
11. Гниение белков в толстом кишечнике. Обезвреживание токсических веществ в печени.

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

1. Дайте характеристику протеолитическим ферментам желудочно-кишечного тракта.
2. Назовите протеолитические ферменты желудочного сока, механизмы их активации.
3. Роль HCl в активации протеолитических ферментов и поддержании оптимальной среды.
4. Назовите пептидные связи, подвергающиеся гидролизу пепсином, трипсином, химотрипсином.
5. Напишите полипептид и покажите действие пепсина
6. Методы обнаружения патологических компонентов желудочного сока.
7. Экзопептидазы, назовите и охарактеризуйте их. Роль пристеночного пищеварения.

8. Каковы механизмы абсорбции аминокислот, роль  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы в этом процессе.

9. Напишите структуру УДФГК и ФАФС, их участие в процессах обезвреживания токсических веществ.

10. Напишите процесс обезвреживания индола, фенола и др.

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

1. Белки в питании детей. Особенности переваривания белков у детей различных возрастных групп.

### **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 студентов**

1. Биологическая ценность белков.

2. Роль печени в обезвреживании токсических продуктов гниения белков.

3. Современные представления о механизмах транспорта аминокислот через клеточные мембраны.

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

#### ***Обязательная:***

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.

3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С. Северина и проф. А.Я. Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.

4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986

5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 стр.

6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука, 1980

7. Уайт А и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

*Дополнительная:*

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед. факультета (Под редакцией Ермолаева) 1977.

## ЗАНЯТИЕ № 2

### Тема: МЕТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ. ПЕРЕАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

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

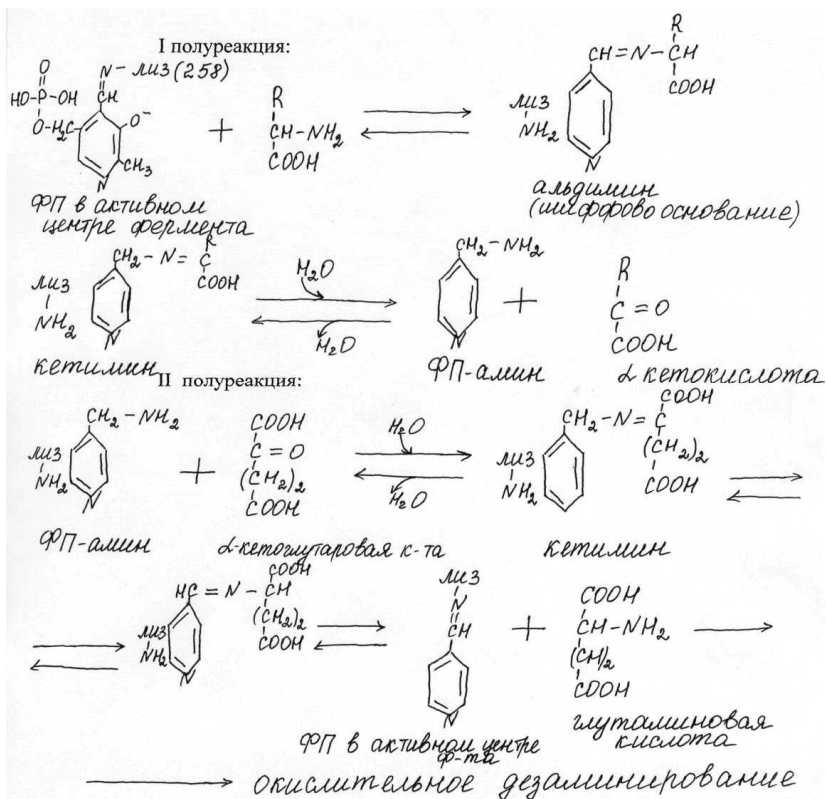
Аминокислоты с током крови попадают в клетки, где прежде всего включаются в процессы синтеза сложных соединений белковой и небелковой природы. Основные пути потребления аминокислот в клетке:

1. Синтез пептидов и белков (основной путь).
2. Синтез небелковых азотсодержащих соединений (пуринов, пиримидинов, НАД, фолиевой кислоты, КоА), тканевых биорегуляторов, (гистамин, серотонин), медиаторов (адреналин, ацетилхолин), гормонов.
3. Синтез углеводов (глюкогенез) с использованием углеродных скелетов некоторых аминокислот.
4. Синтез липидов.

Другая (небольшая) часть аминокислот включается в процессы катаболизма. Поскольку аминокислоты бифункциональные соединения, содержащие аминную и карбоксильную группы, то реакции по этим группам являются общими для различных аминокислот, а реакции по радикалу являются специфичными для каждой аминокислоты. К общим путям катаболизма относятся: трансаминирование, дезаминирование, декарбоксилирование.

**Трансаминирование (переаминирование)** реакции межмолекулярного переноса аминогруппы от  $\alpha$ -аминокислоты (донор) на  $\alpha$ -кетокислоту с образованием новой аминокислоты и кетокислоты без промежуточного образования аммиака. Основными кетокислотами, участвующими в реакции переаминирования, являются пируват, ЩУК,  $\alpha$ -кетоглутарат. Катализируют этот процесс и определяют специфичность ферменты — аминотрансферазы (трансаминазы), которые локализуются в цитоплазме и митохондриях клеток. Реакции трансаминирования обратимы. Коферментом трансаминаз является метаболическая форма Витамина В<sub>6</sub> (пиридоксальфосфат), который ковалентно присоединяется к активному центру фермента. Поскольку трансаминазы сложные

ферменты, то процесс протекает в виде 2-х полуреакций, по ходу которых образуется аминопроизводное витамина В<sub>6</sub> (фосфопиридоксамин) — временный акцептор NH<sub>2</sub> и шиффовы основания. Схема фосфопиридоксалевого катализа:



В настоящее время известно около 50 аминотрансфераз, но наиболее активными являются АЛАТ и АСАТ.

Реакции трансаминирования играют большую роль в обмене аминокислот:

1. Путём трансаминирования образуются заменимые аминокислоты.
2. Трансаминирование собирает весь пул NH<sub>2</sub> в виде глутамата, который идёт на процесс окислительного дезаминирования.

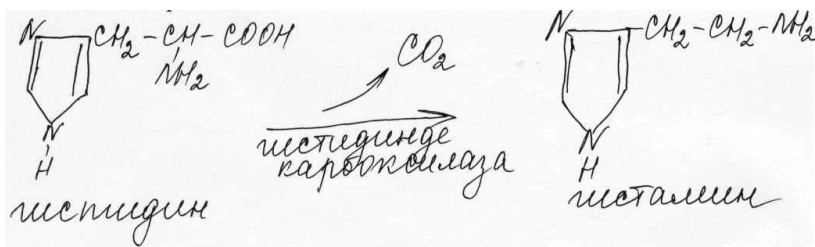


3. Осуществляется перераспределение аминного азота в органах и тканях.

Для лабораторной практики особое значение имеют две аминотрансферазы — АлАТ и АсАТ. Их активность в клетке значительно выше, чем в сыворотке крови. Появляются они в сыворотке при повреждении тканей. При повреждении сердечной мышцы преимущественно повышается активность сывороточного АсАТ, а при повреждении гепатоцита АлАТ. Для дифференциальной диагностики используется коэффициент Де Ритиса  $\text{АсАТ/АлАТ} = 1,33$ . Коэффициент  $> 1,33$  — поражение сердечной мышцы, если  $< 1,33$  — поражение печёночной паренхимы.

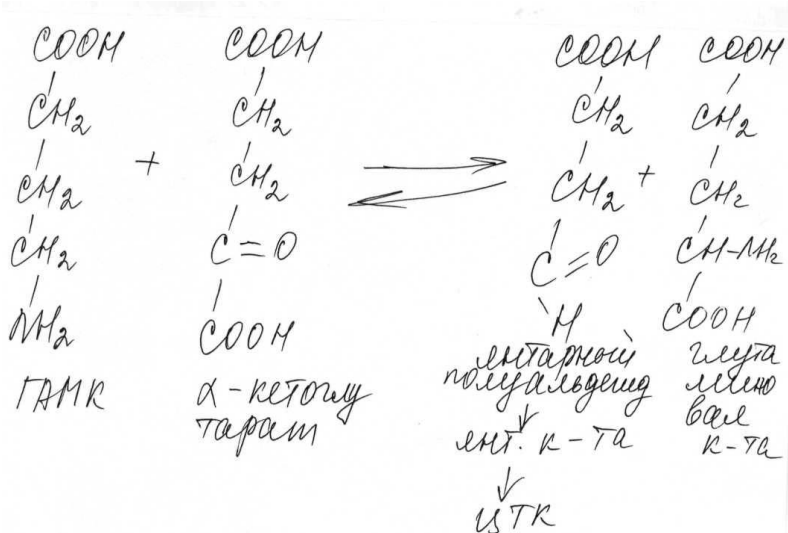
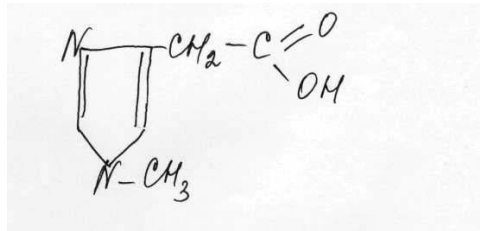
Другой важный путь катаболизма — **декарбоксилирование** — процесс отщепления карбоксильной группы в виде  $\text{CO}_2$ . Катализируются реакции декарбоксилирования декарбоксилазами с коферментом (фосфопиридоксаль).

Реакции необратимы. Продуктами декарбоксилирования являются биогенные амины, обладающие биологической и фармакологической активностью. Важным биогенным амином является гистамин — продукт декарбоксилирования циклической аминокислоты гистидина; катализирует фермент гистидиндекарбоксилаза:



Депонируются гистамины в тучных клетках, лейкоцитах крови. Биологические эффекты гистамин реализует через гистаминовые рецепторы  $\text{H}_1$  и  $\text{H}_2$ . Гистамин считают медиатором воспаления, поскольку он повышает проницаемость сосудов, увеличивает кровенаполнение, повышает экссудацию и диapedез лейкоцитов, способствует активации защитных сил в организме, понижает артериальное давление. Через  $\text{H}_2$  рецепторы гистамин стимулирует

секрецию HCl в желудке, через H<sub>1</sub> — рецепторы стимулирует сокращение гладкой мускулатуры бронхов и кишечника, участвует в сенсibilизации организма. Повышение концентрации гистамина опасно, поэтому он разрушается под действием специфической гистаминазы (DAO). Сначала гистамин метилируется, а затем дезаминируется и окисляется до 1-метилимидазол-4-ацетата, который выводится с мочой:



ДОФ-амин — важный амин, продукт декарбоксилирования ДОФА. Активность фермента обнаруживается в почках, печени, надпочечниках, синаптических образованиях, стриопаллидарной системе. Указанный амин — предшественник катехоламинов; тормозной медиатор крупных проводящих путей, нейроны которых находятся в черной субстанции. Участвует в регуляции коор-

динации тонких двигательных актов. При нарушении его синтеза развивается болезнь Паркинсона.

ГАМК — продукт декарбоксилирования глутаминовой кислоты. Процесс катализируется высокоспецифичной глутамат-декарбоксилазой и интенсивно протекает в тормозных синапсах ЦНС. Используется для снятия возбуждения при судорожных состояниях (эпилепсия). ГАМК включается в процесс трансминирования с  $\alpha$ -кетоглутаратом, что ведёт к образованию глутамата и янтарного полуальдегида, который превращается в сукцинат и окисляется в ЦТК с образованием энергии (ГАМК-шунт), оказывает тормозящее действие в ЦНС, вызывает гиперполяризацию постсинаптической мембраны и ТПСР.

## **II. Цель деятельности студентов на занятии**

### ***Студент должен знать:***

1. Пути использования аминокислот клетками.
2. Общие пути катаболизма.
3. Трансаминирование, ферменты, катализирующие этот процесс.
4. Локализация процесса и его этапы.
5. Основные кетокислоты, используемые в трансминировании.
6. Биологическое значение трансминирования.
7. Диагностическое значение определения трансаминаз при патологии сердца и печени. Роль коэффициента Де Ритиса.
8. Процесс декарбоксилирования, ферменты, локализация процесса.
9. Продукты декарбоксилирования, биогенные амины, их биологическая роль.
10. Синтез гистамина, характеристика ферментов.
11. Рецепторы, чувствительные к гистамину, биологические эффекты.
12. Пути разрушения гистамина.
13. ДОФ-амин, ГАМК, синтез, биологическое действие, пути утилизации.

***Студент должен уметь:***

1. Написать полуреакции трансаминирования (схему пиридоксалевого катализа).
2. Указать соответствующие ферменты.
3. Воспроизвести переаминирование в пробирке, интерпретировать полученные результаты.
4. Написать кофермент трансаминаз.
5. Объяснить биологическое значение трансаминирования.
6. Объяснить диагностическое значение трансаминирования.
7. Объяснить диагностическое значение коэффициента Де Ритиса.
8. Используя свои знания, уметь объяснить биологические эффекты гистамина, ДОФ-амина, ГАМК.
9. Написать пути разрушения гистамина и других биогенных аминов.
10. Объяснить использование ГАМК и L-ДОФА в медицинской практике.

**III. Содержание обучения.**

**Основные вопросы:**

1. Трансаминирование — основная реакция аминокислотного обмена.
2. Аминотрансферазы, кофермент (Вит.В<sub>6</sub>), специфичность аминотрансфераз. Схема фосфопиридоксалевого катализа.
3. Аминотрансферазы сыворотки крови, диагностическое значение, определение активности последних.
4. Декарбоксилирование, биогенные амины, их роль в организме.
5. Пути утилизации биогенных аминов.

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

**Лабораторные работы:**

1. Переаминирование

**Наглядные пособия:** *Таблицы*

**V. Наименование лабораторной работы**

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

### Переаминирование

**Принцип метода:** Перенос  $\text{NH}_2$  с аминокислоты аланина на кетокислоту (α-кетоглутарат) ускоряется ферментами — трансаминазами. При этом образуется пируват и глутаминовая кислота. Образовавшаяся при этом пировиноградная кислота обнаруживается при обработке раствором динитрофенилгидрозина (образуются фенилгидрозоны). Экстракт динитрофенилгидрозина пировиноградной кислоты окрашивается при добавлении спиртового раствора едкого калия в красный цвет.

**Методика выполнения:** В 2 центрифужные пробирки вносят по 5 капель сыворотки крови или гомогената в качестве источника фермента. После этого в каждую пробирку добавляют по 5 капель субстратной смеси и помещают пробирку в водяную баню на 15-20 минут при  $+37^\circ\text{C}$ . В пробирку 1 добавляют 1 каплю ТХУК. Во время инкубации в пробирке 2 происходит переаминирование, в результате чего образуется пируват. Затем в обе пробирки вносят по 5 капель раствора 2,4 — динитрофенилгидразина. Пробирки встряхивают и оставляют на 5 минут стоять. В каждую пробирку добавляют по 20 капель раствора толуола для экстракции денилгидрозина. Закрывают пробирки и перемешивают содержимое. Толуольный экстракт отделяют центрифугированием в течение 5 минут при 2000 об/мин. Верхний слой — толуольный экстракт. Пипеткой 3-4 капли переносят в другую пробирку. В каждую добавляют по 5 капель спиртового раствора едкого калия. Присутствие пирувата, образовавшегося при переаминировании, узнаётся по красному окрашиванию. В контрольной пробирке, где аминотрансфераза инактивирована ТХУК, окрашивание раствора слабее.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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

1. Использование аминокислот клетками тканей.
2. Назвать общие пути катаболизма.

3. Трансаминирование, ферменты процесса.
4. Локализация процесса трансаминирования.
5. Назвать наиболее активные трансаминазы.
6. Структурная организация трансаминаз.
7. Полууреакции фосфопиридоксалевого катализа.
8. Биологическое значение трансаминирования.
9. Коэффициент Де Ритиса, клинико-диагностическое значение.
10. Синтез гистамина, рецепторы гистамина.
11. Биологические эффекты гистамина.
12. Пути разрушения гистамина и выделения конечных продуктов.
13. Синтез ДОФ-амина, ГАМК, биологическое действие.
14. Пути утилизации ГАМК.
15. Серотонин, синтез, биологическое действие.
16. Пути окисления серотонина.

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

1. Написать (конкретно) реакции, воспроизведённого в пробирке процесса трансаминирования (фосфопиридоксальный катализ).
2. Указать ферменты процесса, источники их в эксперименте (АлАТ).
3. Каково клиническое значение определения АлАТ и АсАТ в сыворотке крови при патологии миокарда и печени?
4. Какова их активность в норме и как изменяется активность при патологии сердечной мышцы и печени? Коэффициент Де Ритиса, его значение в норме и при патологии.
5. Биологическое значение трансаминирования.
6. Декарбоксилирование, ферменты, локализация процесса.
7. Синтез гистамина, его депо.
8. Факторы, способствующие секреции гистамина.
9. Рецепторы гистамина, его биологические эффекты.
10. Разрушение гистамина, роль ДАО.

11. Образование серотонина, его биологические эффекты, пути утилизации.

ДОФ-амин, ГАМК, синтез, биологические эффекты, пути утилизации.

Распад ГАМК. ГАМК — шунт.

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

1. Возрастные особенности синтеза витамина В<sub>6</sub> и нарушение этого процесса в патологии.

### **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 студентов**

1. Распад биогенных аминов.

2. Биогенные амины, их роль в деятельности ЦНС.

3. Механизм секреции гистамина, его роль в биологических реакциях.

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

#### **Обязательная:**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.

3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.

4. Строев Е.А. Биологическая химия, Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А.
6. Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 стр.
7. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука, 1980.
8. Уайт А. и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

*Дополнительная*

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983.
2. Биологическая химия для студентов педфакультета. Под редакцией Ермолаева) 1977.



## ЗАНЯТИЕ № 3

### Тема: ПУТИ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ АММИАКА В ОРГАНИЗМЕ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВИНЫ В ИССЛЕДУЕМОЙ МОЧЕ

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

Деаминация — один из общих путей катаболизма, при котором от аминокислоты отщепляется аминогруппа в виде  $\text{NH}_3$ . В организме человека и животных основным видом деаминации является окислительное. Окислительное деаминация может быть прямым и непрямым.

Прямое окислительное деаминация осуществляется высокоактивной оксидазой (глутаматдегидрогеназой)  $\alpha$ -глутаминовой кислоты. Она НАД или НАДФ-зависимый фермент и локализуется в митохондриях различных клеток.

Глутаматдегидрогеназная реакция легко обратима. Синтез  $\alpha$ -глутамата из  $\alpha$ -кетоглутарата и аммиака называется восстановительным аминированием (чаще кофермент НАДФ). Глутаматдегидрогеназа играет ключевую роль во взаимосвязи метаболизма аминокислот и общего пути катаболизма. Фермент регулируется: активируется АДФ, ГДФ; ингибиторы — АТФ, ГТФ, НАДФ, тироксин, эстрогены.

Непрямое деаминация (транздеаминация) идет в два этапа:

1. Трансаминация — аминные группы принимаются кетоглутаратом, образуя глутаминовую кислоту; катализируют реакцию соответствующие трансаминазы.

2. Образовавшийся глутамат в митохондриях подвергается прямому деаминации; катализирует реакцию глутаматДГ. В результате реакций деаминации образуются аммиак и  $\alpha$ -кетокислоты, которые могут вступать в процесс глюконеогенеза («гликогенные» аминокислоты), используются на синтез жирных кислот, заменимых аминокислот, кетонных тел («кетогенные» аминокислоты) либо окисляются до воды и углекислоты с образованием энергии.

Аммиак высоко токсичное вещество. Токсичность проявляется: а) в снижении активности ЦТК, поскольку аммиак способен к реакции восстановительного аминирования  $\alpha$ -кетоглутарата с образованием глутаминовой кислоты. В результате  $\alpha$ -кетоглутарат отвлекается от ЦТК, что может привести к снижению образования оксалоацетата, накоплению ацетил-КоА, кетонемии и ацидозу. Кроме того, ослабляется поток протонов и электронов в дыхательную цепь, снижается продукция АТФ. Это приводит к нарушению функции мозга и развитию комы.

б) аммиак протонируется, образуется  $\text{NH}_4^+$ , обладающий основными свойствами и может произойти сдвиг рН в щелочную сторону (алкалоз).

в) реакции восстановительного аминирования  $\alpha$ -кетоглутарата приводят к образованию глутаминовой кислоты, а затем глутамина. Накопление глутамина в клетках ЦНС приводит к отёку мозга.

г) снижение глутаминовой кислоты в ЦНС может нарушать синтез ГАМК — основного тормозного медиатора, что может сопровождаться судорожным синдромом.

д) аммиак взаимодействует с ионами натрия и калия в процессе трансмембранного переноса и может влиять на генерацию процесса возбуждения, что способствует развитию коматозного состояния.

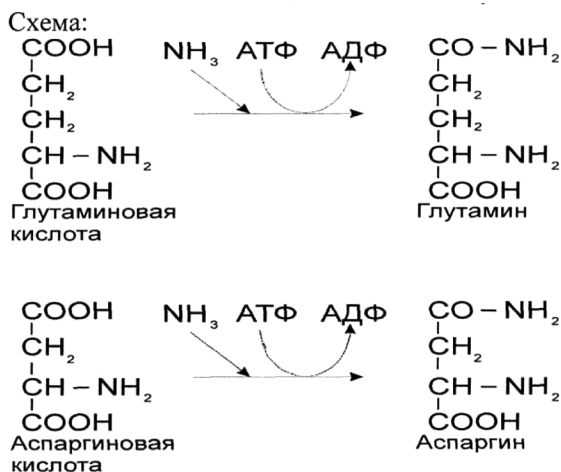
Свободный  $\text{NH}_3$  образуется при:

1. Окислительном дезаминировании аминокислот.
2. Трансдезаминировании аминокислот.
3. Дезаминировании амидов (глутамина и аспарагина).
4. Дезаминировании биогенных аминов.
5. Распада пуриновых и пиримидиновых оснований.
6. Распаде аминосахаров и азотсодержащих липидов.
7. Синтезе гема.
8. В процессе гниения аминокислот на уровне толстого кишечника и поступлении  $\text{NH}_3$  из кишечника в портальную вену.

Поскольку в организме есть пути обезвреживания аммиака, его концентрация в крови низка (0,05 ммоль/л), и токсичное действие в норме не проявляется. Условно различают: временные и окончательные механизмы обезвреживания аммиака.

Временное обезвреживание аммиака осуществляется в тканях (мозг, мышцы, печень, почки и др.) путём:

1. Амидирование — связывание аммиака с дикарбоновыми кислотами (аспаргатом и глутаматом) с образованием соответствующих амидов глутамина и аспарагина (транспортные формы аммиака). В частности глутамин является донором амидной группы азотосодержащих оснований (пуриновых и пиримидиновых), глюкозамина, триптофана, основным источником амидной группы для конечного обезвреживания  $\text{NH}_3$  в почках в виде аммонийных солей, а в печени — образования мочевины.

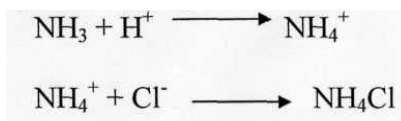


2. Восстановительного аминирования  $\alpha$ -кетоглутарата и оксалоацетата с образованием заменимых аминокислот. Этот процесс особенно активен в мышцах и в печени.

3. Глутамат в реакциях трансаминирования с пируватом образует аланин (особенно в мышцах). Аланин транспортирует аммиак в виде аминокруппы в печень, где используется для синтеза мочевины, а углеводный скелет используется на синтез глюкозы, (глюкозо-аланиновый путь). Конечными путями обезвреживания являются:

1. Образование аммонийных солей (в почках).
2. Синтез мочевины в печени.

3. Синтез креатина и креатинина в печени и мышцах. Образовавшийся глутамин в почках с участием фермента глутаминазы высвобождает  $\text{NH}_3$ , который протонируется в  $\text{NH}_4^+$  (ион аммония). Ионы аммония присоединяя анионы  $\text{Cl}^-$ , фосфорной кислоты и др. и образуют соли, которые экскретируются с мочой.



За сутки удаляется с мочой до 1-2 г солей. Очень важно, что при этом сберегаются ионы Na, K, Mg, и др.

Основным механизмом обезвреживания аммиака является синтез мочевины в печени (уреогенез). Открыт в 1932 году Кребсом и Гензелейтом.

Циклический процесс, именуемый орнитиновым циклом, протекает от начальной реакции и до конечного результата в печени (гепатоците). Ферменты процесса локализуются в митохондриях и в цитозоле. Транспортируется аммиак к гепатоциту в виде аланина и глутамина, а так же свободного  $\text{NH}_3$ .

На первом этапе синтеза мочевины образуется активная форма  $\text{NH}_3$ , на что расходуется энергия АТФ. Карбамоилфосфат (активная форма) взаимодействует с орнитинном, образует цитрулин, катализирует процесс фермент — орнитинкарбамоилтрансфераза.

Дальнейшие реакции протекают в цитоплазме. Цитрулин при участии аргининосукцинатсинтетазы взаимодействует с аспаратом, образуя аргининосукцинат, при этом затрачивается АТФ. Аргининосукцинат ферментом аргининосукцинатлиазой расщепляется на аргинин и фумарат. Аргинин аргиназой расщепляется на орнитин и мочевины. Орнитин вновь включается в уреогенез, мочевины простой диффузией по градиенту концентрации выходит из клеток в кровь и выделяется с мочой (около 30г/сут). Фумарат через малатдегидрогеназную реакцию в ЦТК окисляется до оксалоацетата с образованием 1 молекулы

НАДН<sup>+</sup>(Н<sup>+</sup>), продуцирующей 3 АТФ. Образовавшийся оксалоацетат включается в трансаминирование с глутаматом, образуя аспарат, который и включается в цикл, путь анаплероза. Два азота мочевины имеют следующее происхождение: один азот поступает из кишечника и периферических тканей и включается через карбоамилфосфат. Другой азот поступает в цикл мочевины через аспарат. Лимитирующими реакциями синтеза мочевины являются:

- 1) карбоамилфосфатсинтетазная;
- 2) орнитинкарбоамилтрансферазная;
- 3) аргиназная.



Врожденная недостаточность одного из ферментов уреогенеза приводит к развитию гиперазотемии. К гиперазотемии могут привести также: печеночная недостаточность, почечная патология, патологически активные процессы тканевого катаболизма (опухоль, травмы и др.), патология кишечника.

В клинико-лабораторной практике концентрация небелковых азотсодержащих веществ именуется остаточным азотом, в норме концентрация колеблется 15-25 ммоль/л. Азот мочевины составляет около 50%.

## **II. Цель деятельности студентов на занятии**

### ***Студент должен знать:***

1. Общий путь катаболизма — дезаминирование.
2. Основные источники аммиака.
3. Признаки токсичности аммиака.
4. Основные пути нейтрализации аммиака.
5. Уреогенез, локализация, ферменты этого процесса.
6. Взаимосвязь цикла синтеза мочевины с ЦТК
7. Причины повышения концентрации аммиака в организме (гиперазотемия).
8. Колебания остаточного азота в норме и в патологии.

### ***Студент должен уметь:***

1. Написать реакции окислительного прямого дезаминирования и трансдезаминирования.
2. Дезаминирование.
3. Изобразить схематично пути нейтрализации аммиака.
4. Написать реакции амидирования.
5. Написать уравнения реакций синтеза мочевины, нуждающихся в энергии АТФ.
6. Объяснить источники атомов азота молекулы мочевины.
7. Описать наследственные патологии — энзимопатии в цикле синтеза мочевины.
8. Определить содержание мочевины в исследуемой моче, рассчитать суточное выделение мочевины, интерпретировать полученные результаты.

## **III. Содержание обучения:**

### **Основные вопросы:**

1. Источники и пути образования аммиака.
  - а). Дезаминирование аминокислот;
  - б). Гидролитическое дезаминирование пуриновых оснований.
2. Пути обезвреживания аммиака:
  - а) амидирование аминокислот;
  - б) восстановительное аминирование;

- в) синтез мочевины;
- г) глюкозо-аланиновый путь;
- д) образование аммонийных солей;
- е) синтез креатинина.

3. Глутамин — транспортная форма аммиака. Биологическая роль глутамина.

4. Мочевинообразование (орнитинный цикл) — основной путь детоксикации аммиака. Значение мочевины в метаболических процессах.

5. Функциональная взаимосвязь ЦТК и цикла мочевинообразования.

6. Гиперазотемия, причины.

#### **IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО. Лабораторные работы:**

1) Определение мочевины в исследуемой моче

**Наглядные пособия:** *Таблицы*

#### **V. Наименование лабораторной работы**

### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1**

#### **Определение мочевины в моче**

**Принцип метода:** Метод основан на способности мочевины, содержащей аминогруппы, образовывать с парадиметиламинобензальдегидом в кислой среде комплексные соединения, окрашенные в желтый цвет. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации мочевины в исследуемой моче и определяется фотометрически.

**Методика выполнения:** Пипетки и пробирки должны быть обязательно сухими. В пробирку наливают микропипеткой 0,2 мл мочи, добавляют 1,2 мл 2%-ного раствора парадиметиламинобензальдегида и тщательно перемешивают. Через 15 минут пробу фотометрируют в сухих кюветах шириной 3 мм с синим светофильтром против воды. По калибровочному графику определяют концентрацию мочевины в 100 мл мочи. Рассчитывают мочевины

в г/сут. Коэффициент пересчёта в единицы СИ (ммоль/сут.) равен 16,65. В N за сутки выделяется 20-30 грамм или 333-583 ммоль/л, мочевины.

***Предполагаемые результаты:***

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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

1. Пути образования аммиака в организме.
2. Временные пути нейтрализации аммиака. Транспортные формы аммиака.
3. Уреогенез, ферменты, локализация ферментов, осуществляющих этот процесс.
4. Написать синтез мочевины.
5. Энзимопатии, связанные с дефектами ферментов уреогенеза.
6. Синтез аммонийных солей.
7. Функциональная взаимосвязь ЦТК и цикла мочевинообразования.

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

1. Диагностическое значение определения мочевины в крови и моче.
2. Понятие об остаточном азоте, колебания в норме и патологии. Гиперазотемия.
3. Назвать причины, вызывающие отклонения от нормального содержания азотистых шлаков.

**Тестовые задачи.**

**1 вопрос. Указать пути обезвреживания аммиака:**

1. Синтез глутамина
2. Восстановительное аминирование
3. Синтез мочевины.
4. Образование аммонийных солей
5. Верно 2,4.



6. Все верно.

Ответ : 6.

**2 вопрос. Глутамин используется для:**

1. Синтез аминсахаров
2. Синтез пуринов
3. Синтез пиримидинов
4. Образование аммиака в почках
5. Верно 2,3.
6. Верно 1,4.
7. Все верно.

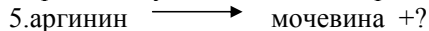
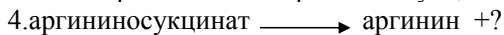
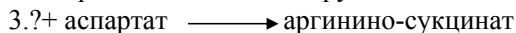
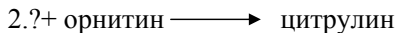
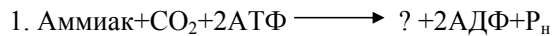
Ответ : 7

**3 вопрос. Синтез мочевины происходит:**

1. В нервной ткани
2. В сетчатке глаз
3. В печени
4. В почках
5. Все верно

Ответ: 3

**4 вопрос. В схемах реакций синтеза мочевины подобрать нужный компонент:**



А) Орнитин

Б) Карбамоилфосфат

В) Фумарат

Г) Цитрулин

Ответ: 1 – Б, 2 – Б, 3 – Г, 4 – В, 5 – А.

**5 вопрос. Нормальное содержание мочевины в крови (моль/л) 1). 1,5-3,5 2). 3,0-5,0 3). 3,3 — 8,3 4). 5,0- 10,0**

Ответ: 3.

**6 вопрос. Указать источники в норме мочевины при ее синтезе:**

1. Аммиак
  2. Амидный азот
  3. Аминогруппа аспартата
  4. Аминогруппа орнитина
  5. Верно 1,2
  6. Верно 1,3
  7. Верно 3,4
- Ответ: 6.

**7 вопрос. Основными конечными метаболитами азотистого обмена, удаляемыми из организма являются:**

1. Мочевина.
  2. Аммонийные соли.
  3. Креатинин.
  4. Мочевая кислота.
  5. Верно 1,4.
  6. Верно 2, 3.
  7. Все верно.
- Ответ: 7.

*Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.*

1. Белки в питании детей. Особенности переваривания белков у детей различных возрастных групп.

### **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 студентов**

1. Возможные варианты изменения концентрации в моче и крови.

2. Нарушения синтеза мочевины (энзимопатии).

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

#### ***Обязательная***

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.

2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.

3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М: Гэотар-мед, 2001. 441с.

4. Строев Е.А. «Биологическая химия», Москва, 1986

5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е.,

6. Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 стр.

7. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука, 1980.

8. Уайт А. и соавт. Основы биохимии. М.: Мир 1979.

#### ***Дополнительная***

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983.

2. Биологическая химия для студентов пед. факультета / Под редакцией Ермолаева. 1977.

## ЗАНЯТИЕ № 4

### Тема: ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ. СИНТЕЗ КРЕАТИНА И КРЕАТИНИНА И ЕГО КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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

Процессы деградации аминокислот могут осуществляться по специфическим путям катаболизма. Существует около двадцати наборов ферментов, катаболизирующих превращения аминокислот по специфическому радикалу. Установлено, что углеродные скелеты, как минимум 12 аминокислот могут превращаться в углеводы, так называемые «гликогенные» аминокислоты (аланин, аргинин, глицин, серин, метионин, треонин и др.), в жиры, кетонотела, «кетогенные» аминокислоты (лейцин), смешанные аминокислоты, способные превращаться в глюкозу и кетонотела (лизин, изолейцин, тирозин и др.). В процессы синтеза углеводов и липидов включаются аминокислоты в виде метаболитов общих путей катаболизма: ацетила КоА,  $\alpha$ -кетоглутарата, оксалоацетата. К указанным метаболитам аминокислоты приходят через процессы трансаминирования, декарбоксилирования, дезаминирования. Окисление углеводородных скелетов аминокислот осуществляется НАД, НАДФ, ФАД, ФМН зависимыми оксидоредуктазами, но аминокислоты могут включаться и в реакции гидроксирования, осуществляемые гидроксилазами, монооксигеназами, а разрыв ароматических колец — специальными диоксигеназами. Особый интерес представляет процесс введения в структуру метильной группы (трансметилирование, метилирование). Последние катализируются ферментами трансметилазами, а переносчиками  $\text{CH}_3$  групп служат активные формы фолиевой кислоты (ТГФК).

Донором метильных групп является активная форма метионина — SAM (S-аденозил метионин).

В реакциях трансметилирования образуются низкомолекулярные соединения: норадреналин  $\rightarrow$  адреналин, гликоциамины  $\rightarrow$  креатин, креатинин

фосфатидилэтаноламин  $\rightarrow$  фосфатидилхолин  $\rightarrow$   
 $\alpha$ -аминомасляная кислота  $\rightarrow$  карнитин.

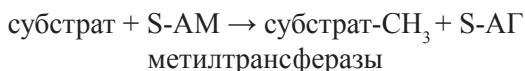
Кроме того, метилированию подвергаются многие биологически активные вещества при их инактивации, некоторые ксенобиотики обезвреживаются путем метилирования.

Процесс метилирования протекает в несколько реакций:

В реакциях метилирования универсальным донором метильной группы является S-аденозил метионин (SAM).

1. Образование S-аденозилметионина (S-AM) из метионина:  
метионин+АТФ+Н<sub>2</sub>О → S-аденозилметионин+PP<sub>н</sub>+P<sub>н</sub>

2. S-AM отдаёт CH<sub>3</sub> на метилирование субстратов (ферменты метилтрансферазы ) при этом образуются метилированные производные SK-субстрата и освобождается S-аденозилгомоцистеин (8-АГ):

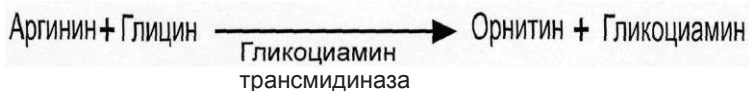


3. S-АГ распадается на аденозил + гомоцистеин



4. Метилирование гомоцистеина в метионин катализируется ферментом гомоцистеинметилтрансферазой при участии двух коферментов 5-метил ТГФК и метилкобаламина. Примером процесса трансметилирования является синтез креатинина, который идёт в три стадии:

1) На уровне почек идет процесс переноса гуанидиновой группы аргинина на глицин с образованием гуанидинуксусной кислоты и орнитина



2) На втором этапе гликоциамин в печени и поджелудочной железе подвергается трансметилированию с образованием креатина. Источник метильной группы S-AM:



3) Затем креатин с током крови разносится к другим органам, но больше его поглощают миоциты. В мышцах, особенно сердечной, креатин подвергается фосфорилированию, используя АТФ,

с образованием дополнительного аккумулятора энергии в виде креатинфосфата. Катализирует процесс креатинфосфокиназа. Этот же фермент подвергает креатинфосфат дефосфорилированию с высвобождением энергии и образованием азотсодержащего шлака креатинина. Последний выводится с мочой. У взрослого человека за сутки выводится 4,4-17,6 ммоль/сут. Креатин выделяется с мочой в норме только у детей.

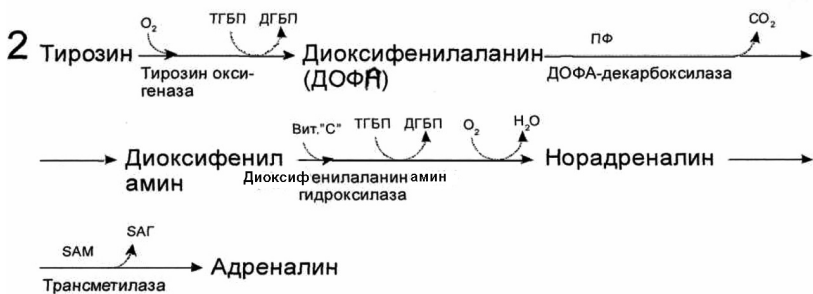
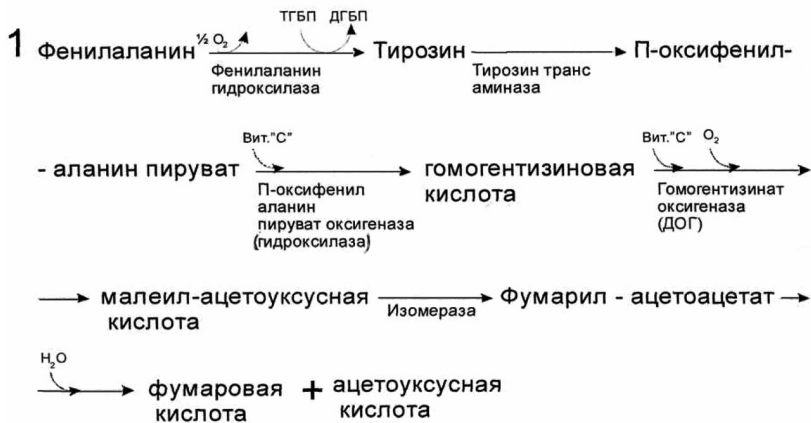
### **Специфические пути распада фенилаланина и тирозина.**

Фенилаланин — незаменимая аминокислота используется на синтез белка, превращается в тирозин. Реакция образования тирозина катализируется ферментом фенилаланингидроксилазой (микросомальный фермент). Используя восстановительные эквиваленты, фермент вводит атом кислорода в виде ОН-группы;

Затем тирозин подвергается трансаминированию с образованием п-гидроксифенилпирувата. Это п-оксокислота превращается в гомогентизиновую кислоту с помощью диоксигеназной ферментативной системы. Ароматическое кольцо гомогентизиновой кислоты расщепляется ферментом гомогентизатоксидазой и через ряд реакций образуются конечные продукты — фумарат и ацетоацетат. Но тирозин может подвергаться гидроксированию в диоксифенилаланин (ДОФА), который может быть началом синтеза катехоламинов в мозговом слое надпочечников и нервной ткани, а в коже, радужке глаза, волосах при участии тирозиназы образуется через дофахром пигмент меланин, в щитовидной железе тирозиновые остатки тиреоглобулина, подвергаясь йодированию используются в синтезе  $T_4, T_3$ .

Возможны наследственные энзимопатии, связанные с дефектом определенных ключевых ферментов специфических путей катаболизма фенилаланина и тирозина. Так, наследственные нарушения синтеза фермента фенилаланингидроксилазы, ведут к развитию заболевания фенилпировиноградной олигофрении, встречающейся с частотой 1:10000-1:20000. Больные, не получающие соответствующего лечения отличаются выраженной умственной отсталостью. Иногда эта патология завершается летальным исходом.

При дефекте гидроксилазы параоксифенилпирувата накапливается тирозин (тирозиноз). У детей обнаруживается отставание в развитии.



При дефекте гомогентизинатоксидазы в крови и моче резко повышается количество гомогентизиновой кислоты (0,5г/сут) — алкаптона, который мочу окрашивает в темный цвет. Эта энзимопатия протекает доброкачественно, называется алкаптонурией.

При дефекте тирозиназы не синтезируется пигмент меланин, развивается альбинизм.

## II. Цель деятельности студентов на занятии

### Студент должен знать:

1. Процессы катаболизма, осуществляемые по специфическому радикалу.

2. Процессы трансметилирования, источники метильных групп, основные реакции трансметилирования. Синтез креатина.

3. Продукты трансметилирования, гидроксилирования, ферменты.
4. Специфические пути катаболизма фенилаланина и тирозина.
5. Энзимопатии, связанные с дефектами определённых ферментов специфических путей катаболизма фенилаланина и тирозина.

***Студент должен уметь:***

1. Написать реакции синтеза креатинина.
2. Объяснить значение этого процесса, роль метионина в этом процессе.
3. Объяснить значение фолиевой кислоты и витамина В<sub>12</sub> в процессе трансметилирования.
4. Уметь определять креатинин в моче, интерпретировать полученные данные.
5. Написать специфические пути катаболизма фенилаланина и тирозина, указать основные ключевые ферменты процесса.
6. Назвать энзимопатии, связанные с дефектом ключевых ферментов специфических путей катаболизма фенилаланина и тирозина.
7. Уметь определить гомогентизиновую кислоту в исследуемой моче, объяснить полученные данные.

**III. Содержание обучения:**

**Основные вопросы:**

1. Особенности обмена фенилаланина и тирозина. Врожденные энзимопатии при обмене указанных аминокислот (фенилкетонурия, алкаптонурия).
2. Трансметилирование. Ферменты, участвующие в этом процессе. Роль метилирования в метаболизме аминокислот.
3. Синтез креатина и креатинина. Метионин как донор метильных групп в этом процессе.

**IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО. Лабораторные работы:**

1. Определение креатинина в моче по Фолину.
2. Качественная реакция на гомогентизиновую кислоту.



## Наглядные пособия:

Таблицы

## V. Наименование лабораторной работы

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

#### Определение креатина в моче по Фолину

**Принцип метода:** Креатин при взаимодействии с пикриновой кислотой в щелочной среде образует окрашенные соединения, интенсивность окраски которых пропорциональна концентрации креатина в моче.

**Методика выполнения:** в цилиндр вместимостью 10-25мл наливают 0,1 мл мочи, прибавляют 4 капли (0,1 мл) 10% раствора щелочи и 0,15 мл насыщенного раствора пикриновой кислоты. Одновременно ставят один контроль с водой, наливая в цилиндр 0,1 мл дистиллированной воды и все реактивы, как и для мочи. Взбалтывают. Оставляют на 5 минут, доводят дистиллированной водой до объёма 10 мл, тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Фотометрируют против контроля на ФЭКе.

#### **Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

### ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

#### Качественная реакция на гомогентизиновую кислоту

**Принцип метода:** Гомогентизиновая кислота обнаруживается в моче больного алкаптонурией. Принцип метода основан на восстанавливающей способности гомогентизиновой кислоты. Так, при добавлении к моче содержащей гомогентизиновую кислоту, фосфомолибденовой кислоты, последняя восстанавливается в соединение синего цвета.

**Методика выполнения:** В две пробирки вносят в первую — 1 каплю мочи здорового человека; во вторую — каплю мочи боль-

ного алкаптонурией. В каждую пробирку добавляют по 5 капель воды и по 2 капли раствора фосфата калия и молибденового реактива. Содержимое пробирок смешивают встряхиванием и отмечают результаты.

***Предполагаемые результаты:***

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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

1. Какова биологическая роль фенилаланина и тирозина?
2. Написать специальный путь катаболизма фенилаланина и тирозина до фумарата и ацетоацетата.
3. Написать специальный путь катаболизма до дофамина.
4. Дальнейшая судьба дофамина. Синтез катехоламинов.
5. Как используется клеткой фумарат, ацетоацетат?
6. Превращения тирозина в щитовидной железе.
7. Назовите энзимопатии в специальных путях катаболизма фенилаланина и тирозина.
8. Биологическая роль метионина, его активной формы SAM.
9. Понятие о трансметилировании, ферменты процесса. Источники метильных групп.
10. Написать синтез креатинина, указать реакции трансметилирования в этом процессе.
11. Какова роль витамина В<sub>12</sub>, фолиевой кислоты?
12. Назовите конечные продукты превращения гомоцистеина.
13. Превращения цистеина. Как используется активная серная кислота (ФАФС)?

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

1. Назовите метаболиты, образующиеся из тирозина.
2. Какова судьба фумарата и ацетоацетата?
3. Причины возникновения фенилкетонурии.
4. Причины развития алкаптонурии.
5. Напишите активную форму метионина, покажите его использование в процессе синтеза креатинина.

6. Напишите реакции синтеза креатина
7. Объясните роль ТГФК и вит. В<sub>12</sub>.
8. Схема образования цистеина и его дальнейшее превращение.

*Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.*

1. Фенилпировиноградная олигофрения
2. Гомоцистинурия, причины

**VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени — 3 часа (135).
2. Переключка — 5 минут.
3. Разбор основных вопросов темы — 60 минут.
4. Тестовый опрос — 20 минут.
5. Проведение лабораторной работы.
6. Оформление протоколов — 10 минут.

**IX. Самостоятельная работа студентов**

1. Креатинфосфат — дополнительный источник энергии мышечного сокращения.
2. Особенности обмена триптофана.
3. Молекулярные болезни распада отдельных аминокислот.

**X. Список используемой литературы**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М., 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия. М.: 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 с.

6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека М.: Наука, 1980.

7. Уайт А. и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

*Дополнительная*

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983.

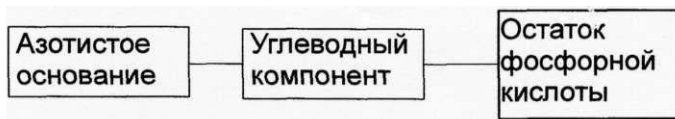
2. Биологическая химия для студентов педфакультета. Под редакцией Ермолаева. 1977.

## ЗАНЯТИЕ № 5

### Тема: ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИДОВ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В МОЧЕ (КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ)

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

Нуклеопротеиды — сложные белки, простетическая группа которых представлена нуклеиновыми кислотами (ДНК, РНК). Последние — высокомолекулярные биополимеры, построенные из мононуклеотидов, соединенных между собой 3'-5'-фосфоэфирными связями. Мономеры построены по схеме:



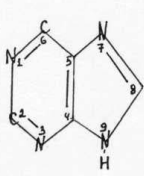
Азотистые основания могут быть производными пурина (аденин, гуанин), пиримидина (урацил, тимин, цитозин). Соответственно мономеров, которые используются в биосинтезе РНК, ДНК пять: АМФ, ГМФ, ЦМФ, ТМФ, УМФ.

Мононуклеотиды ДНК: АМФ, ГМФ, ЦМФ, ТМФ.

Мононуклеотиды РНК: АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ.

Активно синтез пуриновых нуклеотидов осуществляется в печени. Она снабжает пуринами некоторые ткани, где их синтез идет медленно, а в некоторых тканях вовсе не идет.

Основной путь синтеза пуриновых нуклеотидов начинается с синтеза 5-фосфорибозил-1-пирофосфата (ФРПФ), который подвергается амидированию с образованием 5-фосфорибозил-1-амина. Катализируется эта реакция ферментом ФРПФ — амидотрансферазой. В дальнейшем синтезе пуринового кольца используются следующие соединения:



N<sub>1</sub> - аспартам

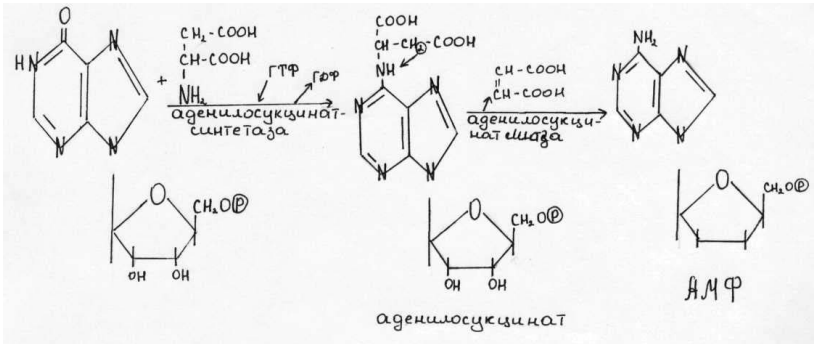
C<sub>2</sub>C<sub>8</sub> - метенил формилпроизводное ТГФК

N<sub>3</sub>N<sub>9</sub> - амидный азот глутамина

C<sub>4</sub>C<sub>5</sub>N<sub>7</sub> - глицин

C<sub>6</sub> - CO<sub>2</sub>

Формирование структуры пуринового нуклеотида происходит на фосфорибозилфосфоамине. В процессе синтеза образуется первый нуклеотид 5-ИМФ, который через ряд последовательных реакций превращается в 3-АМФ и 5-ГМФ. Схема превращения ИМФ в АМФ:



Пуриновые нуклеотиды могут синтезироваться «запасными путями». В первом варианте в синтез вовлекаются азотистые основания и нуклеозиды, а также азотистые основания, образующиеся в процессе катаболизма нуклеиновых кислот. Катализируют эти реакции ферменты:

1) Аденилфосфорибозилтрансфераза, отвечающая за образование АМФ.



2). Гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансфераза, которая использует в качестве субстрата гипоксантин и гуанин

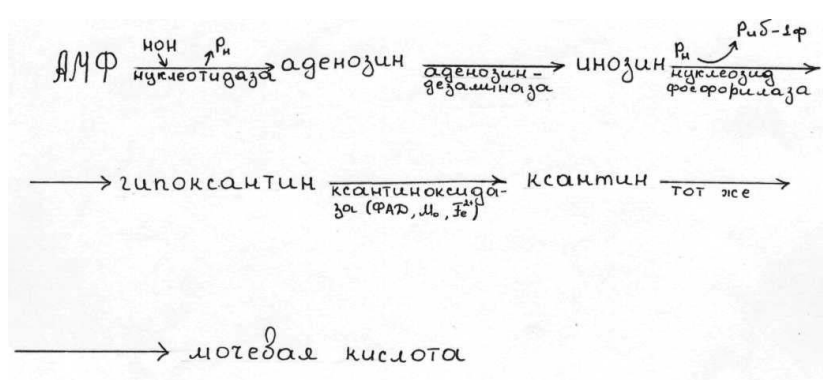


Этот путь синтеза нуклеотидов снижает выход конечного продукта катаболизма пуринов — мочевой кислоты, накопление которой опасно для жизни.

Второй «запасной путь» синтеза нуклеотидов включает процесс фосфорилирования нуклеозидов с помощью АТФ. Так аденозин аденозинкиназой превращается в АМФ.

Процессы синтеза нуклеотидов пуринового ряда регулируются собственно продуктами синтеза (АМФ, ГМФ, ИМФ) по механизму отрицательной обратной связи.

Катаболическим процессам подвергаются пуриновые нуклеотиды экзогенного (пищевого) и эндогенного происхождения. Пищевые нуклеотиды подвергаются ферментативному гидролизу в ЖКТ, в основном в тонком кишечнике. Осуществляют этот процесс специфические нуклеазы (РНК-азы, ДНК-азы), нуклеотидазы и нуклеозидазы кишечного сока. Образовавшиеся мононуклеотиды превращаются путем дефосфорилирования специфическими фосфатазами в нуклеозиды. Нуклеозиды, свободные азотистые основания, пентозы, фосфаты усваиваются. На клеточном уровне последние могут включаться в синтез поли — олигонуклеотидов, либо подвергаются дальнейшему разрушению. В условиях клетки аналогично разрушаются и эндогенные полинуклеотиды. Однако, образовавшиеся мононуклеотиды подвергаются более основательному разрушению и конечным продуктом является мочевая кислота.



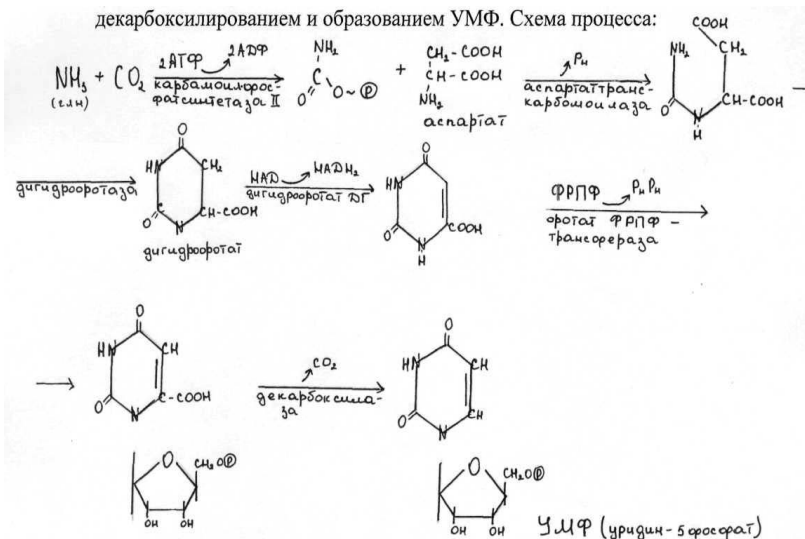
Мочевая кислота поступает в кровь, затем выводится с мочой. В норме содержание мочевой кислоты не превышает 0,15-0,47 ммоль/л, а в суточной моче 400-600 мг. Мочевая кислота слабая органическая кислота, плохо растворяется в воде. Повышение ее концентрации 0,47-1,1 ммоль/л (гиперурикемия) способствует кристаллизации уратов в мягких тканях и связках, где замедлен кровоток. Развивается воспалительный процесс, что ограничивает движения в суставах, особенно мелких. Эта патология называется подагрой. Урикемия возможна:

- 1) при повышении активности ксантиноксидазы;
- 2) несостоятельности процессов реутилизации, связанной с малой активностью соответствующих трансфераз или отсутствием их синтеза. Несостоятельность ферментов «запасных путей» синтеза пуриновых нуклеотидов приводит к наследственной патологии: синдрому Леша-Нихана, при котором отмечается резкое снижение активности или даже полное отсутствие гипоксантин-гуанин-фосфорибозилпирофосфаттрансферазы. При этом уратов синтезируется в 3-6 раз больше, что приводит к активному образованию камней в паренхиматозных органах, умственной отсталости, агрессивному поведению и нанесению себе увечий. Такие дети нежизнеспособны. Основным препаратом, который используется при гиперурикемии — аллопуринол, который по структуре аналогичен пурину. Аллопуринол — конкурентный ингибитор ксантиноксидазы, поэтому катаболизм пуриновых нуклеотидов завершается гипоксантином, растворимость которого выше.

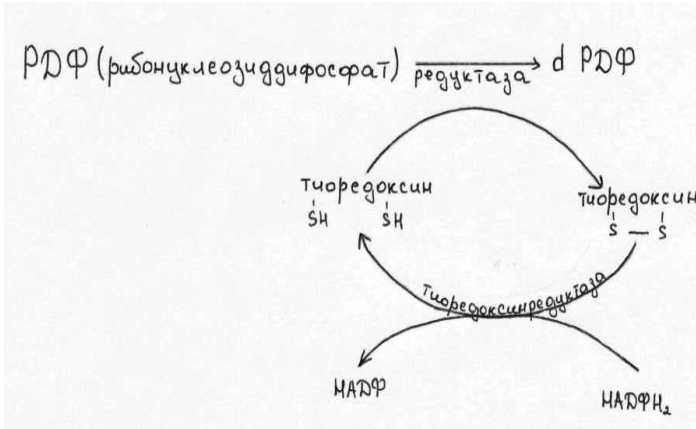
Синтез пиримидиновых оснований идет в основном *de novo*, и локализуется в цитоплазме. Осуществляется при участии трех ферментов, два из которых полифункциональны. Первый полифункциональный фермент состоит из трех доменов, обладающих ферментативной активностью и обеспечивают ход первых трех реакций: образование активной формы  $\text{NH}_3$ , перенос этой активной формы на аспартат, и, наконец, отщепление молекулы воды, что ведет к образованию пиримидинового кольца. Образовавшийся дигидроуротат окисляется в оротовую кислоту.



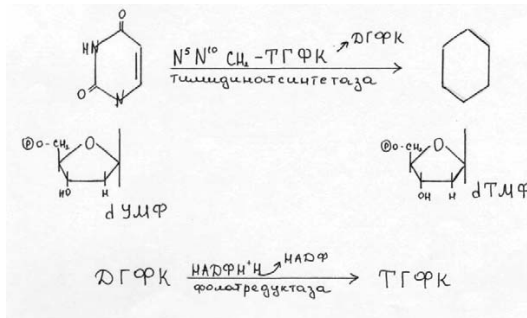
Третий фермент также полифункциональный, осуществляет перенос ФРПФ на оротовую кислоту, образуя нуклеотид с его дальнейшим аминированием УМФ превращается в ЦТФ с участием фермента ЦТФ-синтаза, используя амидную группу глн и энергию АТФ.



Очень важен синтез ТМФ, поскольку он является мономером ДНК. Синтез ТМФ начинается с восстановления рибонуклеотида (УМФ) в дезоксирибонуклеотид. Процесс восстановления рибозы в d-рибозу требует восстановительных потенциалов. Непосредственным источником последних является восстановленный белок-тиоредоксин, содержащий в своей структуре 2 свободные SH-группы. Этот белок окисляется в S-S форму. Для восстановления этого белка есть ФАД-зависимый фермент тиоредоксинредуктаза, требующая наличия восстановленного НАДФН. Схема представлена:



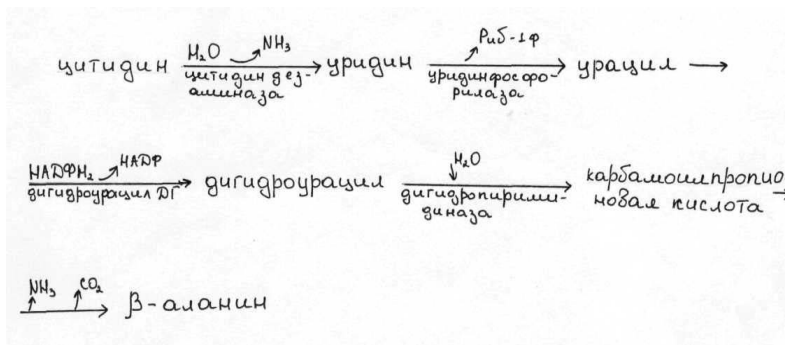
Далее для синтеза ТМФ необходимо иметь метилированное производное урацила — тимин. В клетке имеется особый фермент тимидилатсинтетаза, катализирует метилирование не свободного урацила, а 5-УМФ. Донором метильной группы в этой реакции является метилпроизводное ТГФК. Схема:



Пиримидиновые азотистые основания могут превращаться в нуклеотиды «запасными путями». Ферменты, участвующие в этом процессе: пиримидинфосфорилтрансфераза и уридинцитозинкиназа. Процессы синтеза пиримидиновых нуклеотидов регулируются через изменение активности аллостерических ферментов: карбамоилфосфатсинтетаза II, аспарататранскарбамоилаза. Первый ингибируется ЦТФ, активируется ФРПФ, второй

ингибируется ЦТФ, но активируется АТФ. Ферментные системы организма способны разрушать пиримидиновые нуклеотиды до простых соединений: мочевины, углекислый газ, β-аланин или, β-аминоизобутират.

Схема:



При разрушении ТМФ конечные продукты представлены мочевиной,  $\text{CO}_2$ , β-аминоизобутиратом. (β-аланин может превращаться в α-аланин в реакции трансаминирования с ПВК. α-аланин включается в синтез белка. Кроме того, может включаться в состав мышечных пептидов карнозина и ансерина. Бактериальные клетки используют β-аланин на синтез пантотеновой кислоты, входящей в состав HSKoA. Р-аминоизобутират превращается в метилмалонил КоА, а затем в сукцинил КоА и сгорает в ЦТК.

## II. Цель деятельности студентов на занятии

### Студент должен знать:

1. Структурную организацию нуклеотидов.
2. Мономеры, используемые на синтез ДНК, РНК.
3. Основной синтез мононуклеотидов (АМФ, ГМФ).
4. «Запасные пути» синтеза нуклеотидов. Ферменты этих процессов.
5. Ферментативный гидролиз экзогенных нуклеотидов в ЖКТ, конечные продукты, их судьба.
6. Катаболизм нуклеотидов на уровне клетки.

7. Конечный продукт катаболизма пуриновых нуклеотидов, его физико-химические свойства, концентрация в крови в норме.
8. Роль процессов «реутилизации» пуриновых нуклеотидов в сохранении малых концентраций мочевой кислоты.
9. Патобиохимические основы развития подагры и синдрома Леша-Нихана.
10. Основные принципы лечения подагры.
11. Синтез УМФ.
12. Особенности синтеза ТМФ.
13. Роль ТГФК в синтезе ТМФ.
14. «Запасные пути» синтеза пиримидиновых нуклеотидов.
15. Распад пиримидиновых нуклеотидов.
16. Конечные продукты катаболизма пиримидиновых нуклеотидов, их судьба.

***Студент должен уметь:***

1. Написать структуры мононуклеотидов (АМФ, ГМФ, УМФ, ЦМФ, ТМФ).
2. Отобразить фрагмент первичной структуры РНК, связи, стабилизирующие первичную структуру полинуклеотида.
3. Написать пуриновое ядро, указать соединения, образующие это ядро.
4. Объяснить начало синтеза пуринового мононуклеотида, особенности этого процесса.
5. «Запасные пути» синтеза пуриновых нуклеотидов, ферменты.
6. Назвать ферменты, расщепляющие пищевые полинуклеотиды в ЖКТ.
7. Указать конечные продукты гидролиза и их судьбу.
8. Написать катаболизм мононуклеотида в условиях клетки.
9. Назвать конечные продукты тканевого катаболизма АМФ.
10. Обнаружить в исследуемой моче мочевую кислоту, используя качественные методы на мочевую кислоту.
11. Объяснить значение количественного определения мочевой кислоты.
12. Написать синтез УМФ, ферменты, локализация процесса.

13. Объяснить особенности синтеза ТМФ. Роль ТГФК в синтезе ТМФ.

14. Написать распад УМФ и ТМФ.

15. Отобразить конечные продукты катаболизма нуклеотидов пиримидинового ряда и их судьбу.

### **III. Содержание обучения:**

#### **Основные вопросы**

1. Гидролитическое расщепление нуклеопротеидов в ЖКТ, ферменты этого процесса.

2. Синтез и распад пуриновых нуклеотидов на тканевом уровне.

3. Синтез и распад пиримидиновых нуклеотидов в тканях. Роль оротовой кислоты в этом процессе.

4. Конечные продукты метаболизма нуклеотидов, их судьба.

5. Молекулярная патология (подагра, синдром Леша-Нихана, оротатацидурия).

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

#### **Лабораторные работы:**

1. Обнаружение мочевой кислоты в моче.

2. Мурексидная реакция.

#### **Наглядные пособия:**

*Таблицы*

### **V. Наименование лабораторной работы**

#### **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1**

##### **Обнаружение мочевой кислоты в моче**

**Принцип метода:** мочевая кислота образует с катионами серебра труднорастворимую соль (мочекислое серебро).

**Методика выполнения:** В две пробирки вносят: в первую — 5 капель мочи, во вторую — 5 капель раствора мочекислого на-

трия. В каждую пробирку добавляют по 2 капли раствора аммиака и азотнокислого серебра. В пробирках возникают аморфные осадки мочекислового серебра.

***Предполагаемые результаты:***

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

### Мурексидная реакция

***Принцип метода:*** кристаллы мочевой кислоты превращаются при обработке их азотной кислотой и аммиаком в мурексид — соединение, окрашенное в пурпурный цвет.

***Методика выполнения:*** На предметное стекло помещают шпателем несколько кристаллов мочевой кислоты и на них помещают небольшую каплю азотистой кислоты. Осторожно нагревают стекло над пламенем спиртовки. Азотная кислота испаряется и остаётся коричнево-красный осадок. Добавляют к осадку по каплям водный раствор аммиака до появления пурпурного, окрашивания.

***Предполагаемые результаты:***

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Азотистые основания пуринового и пиримидинового ряда, входящие в структуру мононуклеотидов.
2. Структурная организация ДНК.
3. Структурная организация РНК.
4. Гидролитическое расщепление пищевых нуклеотидов, ферменты.
5. Конечные продукты гидролиза, их судьба.
6. Распад АМФ в клетке, ферменты, локализация процесса.
7. Конечный продукт тканевого распада пуриновых нуклеотидов, его физико-химические свойства, концентрация в крови в норме.

8. Причины гиперурикемии и соответственно развитие подагры и синдрома Леша — Нихана.
9. Написать основной путь синтеза пуриновых нуклеотидов.
10. «Запасные пути синтеза» пуриновых нуклеотидов.
11. Регуляция процессов синтеза и катаболизма пуриновых нуклеотидов.
12. Написать синтез УМФ, ферменты, локализация процесса.
13. Синтез ТМФ, особенности синтеза, роль ТГФК.
14. Регуляция ферментов синтеза пиримидиновых нуклеотидов.
15. Что такое оротацидурия?
16. Написать пути катаболизма пиримидиновых нуклеотидов.
17. Конечные продукты катаболизма пиримидиновых нуклеопротеидов, их судьба.

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

1. Назовите основные соединения, включающиеся в процесс синтеза пуриновых оснований.
2. Напишите синтез ТМФ. Какова роль витамина В12 и ТГФК в этом процессе?
3. Назовите конечные продукты распада пуриновых и пиримидиновых оснований.
4. Методы определения мочевой кислоты в моче. Содержание мочевой кислоты в моче в норме.
5. Назовите причины развития подагры, синдрома Леша-Нихана.

### *Дополнительные вопросы для педиатрического факультета*

1. Метаболические и клеточные основы роста.

## **VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени: 3 часа (135).
2. Переключка 5 минут.
3. Разбор основных вопросов темы 60 минут.

4. Тестовый опрос 20 минут.
5. Проведение лабораторной работы.
6. Оформление протоколов 10 минут.

## **IX. Самостоятельная работа студентов**

1. Предшественники пуринового ядра.
2. Регуляция синтеза пуриновых и пиримидиновых мононуклеотидов.
3. Подагра как молекулярная болезнь обмена нуклеиновых кислот.

## **X. Список используемой литературы**

### ***Обязательная***

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 стр.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука 1980.
7. Уайт А. и соавт. Основы биохимии. М.: Мир 1979.

### ***Дополнительная***

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983.
2. Биологическая химия для студентов педфакультета (Под редакцией Ермолаева), 1977.



## ЗАНЯТИЕ № 6

### Тема: ОБМЕН ХРОМОПРОТЕИДОВ. РАСПАД ГЕМА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ В КРОВИ И МОЧЕ ЖЕЛЧНЫХ ПИГМЕНТОВ

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

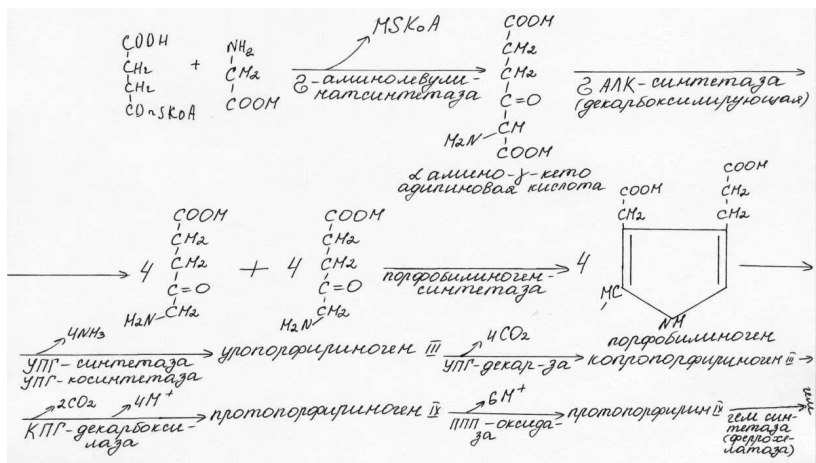
Хромопротеиды — класс белков, простетическая группа которых представлена пигментом. Важным подклассом его являются гемопротеиды -небелковая группа гем. К гемопротеидам относятся: гемоглобины, миоглобины, транспортирующие кислород и углекислый газ, цитохромы, обеспечивающие движение электронов в дыхательной цепи, делая кислород реакционноспособным; каталаза и пероксидаза, защищающие клеточные мембраны от перекисного окисления.

Сложный белок — гемоглобин наиболее активно синтезируется в печени и красном костном мозге. Для этого клетка должна иметь полный набор аминокислот для синтеза белковой и небелковой части (глобина, гема), весь комплекс ферментов, ионизированное железо. Лимитируют реакции образования гемоглобина ферменты процесса и  $Fe^{2+}$ . В организме человека содержится 4,5-5,0 г железа. Оно поступает экзогенно (пищевой) и эндогенно. Содержание железа в организме регулируется главным образом интенсивностью всасывания в кишечнике пищевого железа. Всасывается из вне более 10% железа пищи. Усвоение  $Fe^{2+}$  в кишечнике сложный процесс и начинается прежде всего с освобождения  $Fe^{2+}$  из органических веществ, затем в присутствии аскорбиновой кислоты (оксидазы) превращается  $Fe^{3+}$ . В энтероците железо связывается с апоферритином, образуя ферритин — депо железа в организме. По мере необходимости с помощью редуктаз энтероцита, железо становится двухвалентным, способствуя диссоциации ферритина. Поступая в кровь, железо вновь окисляется фероксидазой и связывается с транспортным ( $\beta_1$ -глобулином) трансферрином и поступает в печень. В клетках печени связывается железо с апоферритином и депонируется в виде ферритина. По мере необходимости железо используется органами кроветворения.

Источниками эндогенного железа являются эритроциты, подвергающиеся постоянному разрушению (25 мг в сутки). Освобождающееся железо включается в процессы реутилизации.

Синтез гема начинается в аэробных условиях (в митохондриях). Происходит конденсация сукцинил-Ко А и глицина с образованием δ-аминолевулиновой кислоты. Катализирует фермент синтетаза δ-аминолевулиновой кислоты, коферментом является витамин В<sub>6</sub>, активная форма — фосфопиридоксаль. Фермент имеет аллостерическую регуляцию: ингибирует гем, активируют стероиды и препараты барбитуровой кислоты.

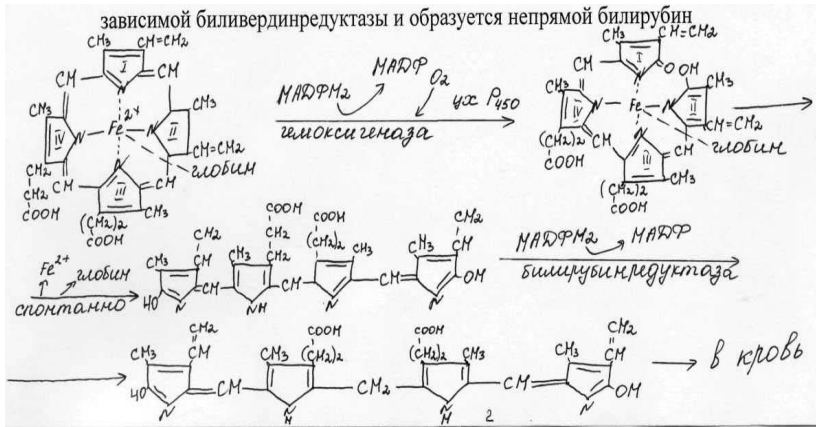
δ-аминолевулиновая кислота поступает в цитоплазму, где происходит конденсация 2-х молекул с образованием порфириногена. Катализирует фермент — порфириноген-синтетаза.



В процессе жизнедеятельности гемоглобин подвергается многократным обратимым конформационным изменениям, которые позволяют выполнять основную функцию клетки (эритроцита). Однако могут наступить необратимые структурные изменения гемоглобина (80 дней), клетка теряет свои функции и подвергается фагоцитозу.

Эритрофагами являются клетки РЭС, где гемоглобин подвергается катаболизму. В присутствии фермента гемоксигеназы гемоглобин в микросомах, с участием цитохрома P<sub>450</sub> окисляет-

ся. В результате реакции происходит разрыв метинового мостика между I и II пиррольными кольцами выделяется  $\text{CO}_2$  и образуется вердоглобин- пигмент сине- красного цвета. Вердоглобин спонтанно распадается на белок — глобин, железо и биливердин. Биливердин восстанавливается в присутствии НАДФН<sub>2</sub>-



Непрямой (динамический, свободный, прегепатический) билирубин поступает в кровь, где связывается с альбумином и транспортируется к гепатоциту. Прегепатический билирубин — гидрофобен, токсичен, непрямой — дает непрямую реакцию с диазореактивом Эрлиха. Он хорошо растворяется в липидах, поэтому может проникать через гематоэнцефалический барьер и клеточные мембраны. В гепатоцитах этот билирубин подвергается обезвреживанию. Обезвреживание осуществляется следующими реакциями

1. Захват билирубина гепатоцитом специфическим рецептором-ферментом.
2. Транспорт билирубина в микросомы специальным белком лигандином.
3. Конъюгация с УДФ — глюкуроновой кислотой ферментом УДФ-глюкуронилтрансферазой с образованием моно- и диглюкуронидов.
4. Экскреция в желчные капилляры, используя энергию АТФ. Конъюгированный билирубин — диглюкуронид — прямой

билирубин (дает прямую реакцию с диазореактивом Эрлиха), гепатический, связанный, он гидрофилен, менее токсичен, пороговое вещество. Прямой билирубин вместе с желчью выводится в верхний отдел тонкого кишечника, где ферментом глюкуронидазой отщепляется глюкуроновая кислота, а сам билирубин восстанавливается до мезобилиногена (уробилиногена). Незначительная часть мезобилиногена всасывается в кровь и по системе воротной вены с током крови относится к печени, где окисляется до моно-дипиролов.

Основная же часть уробилиногена поступает в толстый кишечник, где восстанавливается до стеркобилиногена. С калом выделяется за сутки около 250-300 мг, малая часть стеркобилиногена всасывается в большой круг кровообращения в нижнем отделе прямой кишки и по системе гемморoidalных вен попадает в почки и выделяется с мочой (1-4 мг/сутки). В норме в крови содержится общий билирубин 1,7-20,5 мкмоль/л, на долю непрямого билирубина приходится 75% — 1,7 — 17,1 мкмоль/л; а 25% — на долю прямого 0,86 — 4,3 мкмоль/л.

## **II. Цель деятельности студентов на занятии**

### ***Студент должен знать:***

1. Структурную организацию гемопротеидов (гемоглобина).
2. Функции гемопротеидов.
3. Где синтезируется гемоглобин.
4. Условия синтеза
5. Процесс усвоения экзогенного железа.
6. Источники эндогенного железа
7. Схему синтеза гема. Нарушения синтеза.
8. Роль макрофагов в процессах катаболизма гемоглобина.
9. Условия и ферменты окисления гема.
10. Промежуточные соединения катаболизма гема, их судьба.
11. Понятие «прямого» и «непрямого» билирубина.
12. Процессы обезвреживания непрямого билирубина.
13. Нормы концентрации билирубина прямого и непрямого в крови.

***Студент должен уметь:***

1. Написать структуру гема
2. Отобразить схему усвоения железа на уровне желудочно-кишечного тракта.
3. Уметь объяснить значение апоферритина, ферритина.
4. Написать схему синтеза гема.
5. Показать на схеме возможные дефекты ферментов и соответствующие нарушения процесса.
6. Написать схему катаболизма гемоглобина.
7. Определить концентрацию прямого билирубина в исследуемой сыворотке крови. Интерпретировать полученные результаты.
8. Определить желчные пигменты в исследуемой моче. Объяснить полученные результаты.
9. Написать реакции обезвреживания непрямого билирубина.
10. Назвать концентрацию общего билирубина, непрямого, связанного билирубина в крови здорового человека.

**III. Содержание обучения:**

**Основные вопросы**

1. Распад гемоглобина в тканях.
2. Образование прегепатического и гепатического билирубина.
3. Обезвреживание билирубина в тканях печени и роль глюкуронилтрансферазы в этом процессе.
4. Судьба железа, образовавшегося в процессе деградации гемоглобина.
5. Дальнейшая судьба гепатического билирубина.

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

**Лабораторные работы:**

1. Определение связанного билирубина в сыворотке крови.
2. Определение желчных пигментов в исследуемой моче.

**Наглядные пособия:**

*Таблицы*

**V. Наименование лабораторной работы**

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

### Определение связанного билирубина в сыворотке крови

**Принцип метода:** При взаимодействии сульфатной кислоты с азотисто-кислым натрием образуется диазофенилсульфоновая кислота, которая реагируя со связанным билирубином сыворотки даёт розово-фиолетовое окрашивание. По интенсивности его судят о концентрации билирубина, вступающего в прямую реакцию.

**Методика выполнения:** В две пробирки опытную и контрольную добавляют по 0,5 мл исследуемой сыворотки. В опытную добавляют 1,75 мл физраствора и 0,25 мл диазосмеси. В контрольную — 2,0 мл физраствора. Пробы колометрируют и расчёт ведут по калибровочной кривой.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

### Определение желчных пигментов в исследуемой моче

**Принцип метода;** Желчный пигмент билирубин, окисляясь дает соединения зеленого, синего и желтого цвета.

**Методика выполнения:** 1. Проба Гмелина. В пробирку вносят 10-15 капель азотной кислоты и по стенке — 5 капель мочи. В пробирке образуется два слоя. На границе слоев возникает осадок белка и желчных кислот и цветные кольца — зелёное, синее, фиолетовое, красное и желтое.

2. Проба Розенбаха. Исследуемую мочу — 5 капель, вносят в пробирку, добавляют уксусную кислоту — 1 каплю и 5 капель раствора Люголя. Возникает зелёное окрашивание.

Результаты оформляют в виде вывода.

**Предполагаемые результаты:**

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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

1. Что такое хромопротеиды, представители, подклассы.

2. Функции хромопротеидов.
3. Где синтезируется гемоглобин, условия?
4. Как усваивается железо в желудочно-кишечном тракте?
5. Изобразить схему синтеза.
6. Как и где расщепляется гемоглобин? Отобразить таблицу.
7. Что такое вердоглобин?
8. Понятие «прямого» и «непрямого» билирубина.
9. Как определить прямой билирубин в крови?
10. Судьба непрямого билирубина, пути обезвреживания его в гепатоците.
11. Образование уробилирубина, стеркобилиногена, его судьба.
12. Сколько в норме содержание общего билирубина в крови?

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

1. Как и где идёт синтез гема?
2. Особенности усвоения  $Fe^{2+}$  в желудочно-кишечном тракте.
3. Где разрушается в организме гемоглобин?
4. Написать схему распада гемоглобина.
5. Как образуется не прямой билирубин?
6. Обезвреживание билирубина в печени.
7. Судьба глюкуроноидов (моно — ди).
8. Как определить концентрацию билирубина в крови?
9. Что такое уробилин, где образуется?
10. Сколько в норме за сутки выделяется стеркобилиногена?

### *Дополнительные вопросы для педиатрического факультета*

1. Особенности синтеза и распада гемоглобина в детском возрасте.

## **VIII. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени: 3 часа (135).
2. Переключка 5 минут.
3. Разбор основных вопросов темы 60 минут.

4. Тестовый опрос 20 минут.
5. Проведение лабораторной работы.
6. Оформление протоколов 10 минут.

## **IX. Самостоятельная работа студентов**

1. Обмен железа в процессе метаболизма гемоглобина.
2. Основные этапы синтеза гема.

## **X. Список используемой литературы**

### ***Обязательная***

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С.Северина. М.: Гэотар-мед, 2003. 784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Москва, 1998. 740 с.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. М.: Гэотар-мед, 2001. 441 с.
4. Строев Е.А. Биологическая химия. Москва, 1986.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003. 170 с.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека. М.: Наука, 1980.
7. Уайт А. и соавт. Основы биохимии. М.: Мир, 1979.

### ***Дополнительная***

1. Вельтищев Ю.Е. и соавт. Обмен веществ у детей. М.: Медицина, 1983
2. Биологическая химия для студентов пед факультета / Под редакцией Ермолаева. 1977.