

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
высшего образования
«Северо-Осетинская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра биологической химии

Учебно-методическое пособие

Биохимия

Владикавказ 2017

В учебно-методическом пособии представлены современные данные биологической химии. Каждый раздел содержит теоретические вопросы, справочный материал, написаны методики, согласно которым проводятся лабораторные исследования. В разделах имеются перечень вопросов и тестовых заданий для самостоятельной работы.

Структура составлена таким образом, что помогает получить современные знания по биологической химии.

Предназначено для аспирантов по направлению подготовки Биологические науки, направленность «Биохимия» предназначено для аспирантов

Тема: Строение и свойства аминокислот и пептидов. Протеиногенные аминокислоты.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Молекулярная архитектура живых клеток составляет ту основную черту, которая отличает их от неживой материи. Из всех макромолекул, участвующих в создании этой уникальной биологической суперструктуры, белки играют наиболее значимую роль. Разнообразие белковой структуры и их высокая упорядоченность, удивительная способность к самовоспроизведению, сократимость - неперенный атрибут живой системы. Они не только наиболее щедро представлены в организме человека (составляют более половины растворимого содержимого большей части клеток), но и характеризуются также наибольшим диапазоном вариаций размеров (величины молекулярного веса варьируют от нескольких тысяч до миллионов), формы и физических свойств (от водорастворимых или жирорастворимых до нерастворимых). В этом структурно-функциональном единстве организма, составляющем сущность жизни, белки играют важную роль, незаменимую другими веществами.

Белки - высокомолекулярные азотсодержащие вещества, молекулы которых построены из остатков аминокислот.

Жизнь немыслима без обмена веществ, без постоянного обновления составляющих компонентов живого организма, без *анаболизма* и *катаболизма*, в основе которой лежит деятельность катаболически активных белков - ферментов. Таким образом, белки являются основой структуры и функций живой системы. По образному выражению одного из основоположников молекулярной биологии Ф.Крика, белки важны потому, что они могут выполнять самые разнообразные функции:

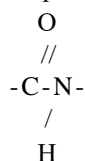
1. Структурная (пластическая) - белки образуют основу протоплазмы живой клетки, в комплексе с липидами они являются основным структурным материалом всех цитоплазматических мембран и оргanelл.
2. Каталитическая - все биохимические реакции катализируются белками-ферментами.
3. Дыхательная - белок крови гемоглобин транспортирует кислород от легких и углекислый газ из клеток органов к легким, т.е. органам дыхания.
4. Транспортная - в транспорте липидов принимают участие альбумины сыворотки крови. Ряд других сывороточных белков образует комплексы с жирами, медью, железом, тироксином, витамином А и др. соединениями, обеспечивая их доставку в соответствующие органы-мишени.
5. Защитная - важнейшие факторы иммунитета - иммуноглобулины и система комплемента являются белками. Процесс свертывания крови, защищающий организм от чрезмерной кровопотери происходит с участием белков свертывающей системы.
6. Сократительная - в акте мышечного сокращения и расслабления участвуют специфические белки мышечной ткани - актин и миозин.
7. Рецепторная - функция восприятия различных воздействий из вне и из внутренней среды осуществляется гликопротеидами.
8. Гормональная - гуморальная регуляция осуществляется белковыми гормонами.

Подсчитано, что в природе существует от 10^{11} до 10^{12} различных белков, обеспечивающих существование $1,2 \times 10^8$ видов живых организмов. По мнению академика Ю.Овчинникова белки являются «законодателями моды» в организме человека.

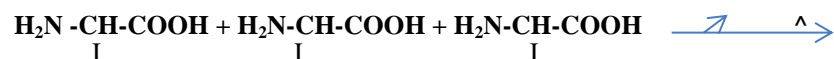
Структурными единицами белков являются *аминокислоты*, определяющие индивидуальность белковых молекул и несущие информацию о построении пространственной структуры и функции данного белка. В составе белков в организме человека встречаются 20 аминокислот, 2 амида, т.е. 22 аминокислоты.

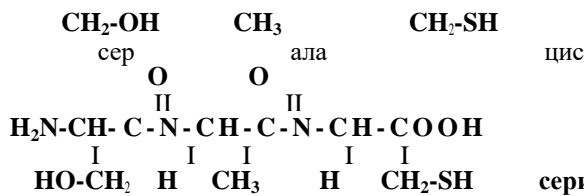
Согласно полипептидной теории Фишера а карбоксильная группа одной аминокислоты взаимодействует с а аминогруппой другой аминокислоты с выделением элементов молекулы воды и образуется амидная или пептидная связь. Неподделенная пара электронов атома азота вступает в сопряжение с π электронами карбонильной группы $C=O$, атомы N, C, O образуют жесткую сопряженную систему, находящуюся в одной плоскости.

В составе пептидной группы атом углерода находится в гибризованном состоянии:



Электронное строение предопределяет плоскую, жесткую структуру пептидной связи. Поэтому биосинтез пептидной связи требует притока свободной энергии, тогда как гидролиз идет с высвобождением энергии.





Полипептидная цепь имеет остов или скелет, состоящий из повторяющихся функциональных групп -CH-CO-NH-, а переменные части включают боковые радикалы, которые и определяют физико-химические свойства белковой молекулы. Помимо пептидной связи иногда встречаются *дисульфидные*.

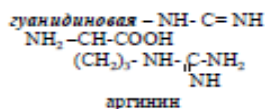
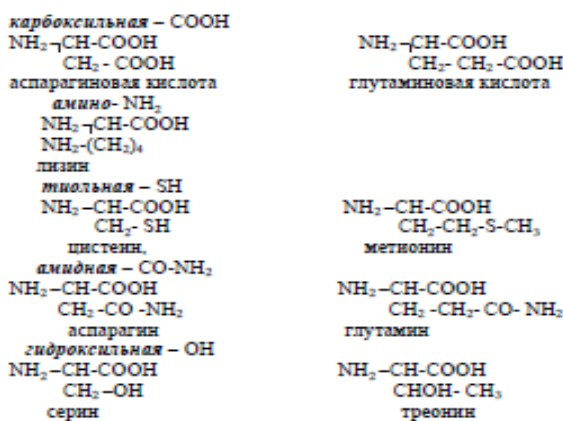
19 из 20 аминокислот содержат в α-положении асимметричный атом углерода, с которым связаны 4 разные замещающие группы. В результате эти аминокислоты в природе могут находиться в двух разных изомерных формах L и D. Исключение - глицин, так как его радикал представлен только атомом водорода. В нашем организме присутствуют только L-изомеры аминокислот.

КЛАССИФИКАЦИЯ АМИНОКИСЛОТ:

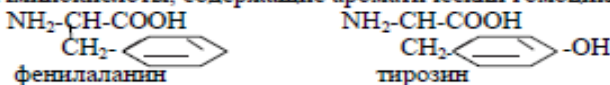
по химическому строению радикала:

Аминокислоты с алифатическими радикалами (глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин).

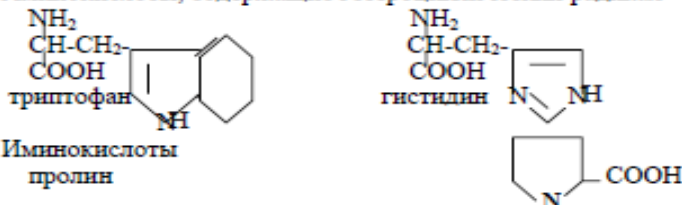
Аминокислоты, содержащие в алифатическом радикале замещенную группу:



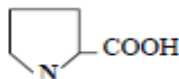
3. Аминокислоты, содержащие ароматический гомоциклический радикал



4. Аминокислоты, содержащие гетероциклический радикал



5. Иминокислоты
 пролин



По биологическому значению:

1. Незаменимые,
2. Заменяемые
3. Частично заменяемые.

По растворимости их радикалов в воде:

1. Аминокислоты с неполярными радикалами (гидрофобные) – аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, метионин, фенилаланин, триптофан.
2. Аминокислоты с полярными незаряженными радикалами: серин, треонин, тирозин, аспарагин, глутамин, цистеин
3. Аминокислоты с полярными отрицательно заряженными радикалами – аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота.
4. Аминокислоты с полярными положительно заряженными радикалами – лизин, аргинин, гистидин

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Строение, свойства и функции белков.
2. Понятие заменимые и незаменимые аминокислоты.
3. Общие свойства аминокислот, обусловленные наличием amino- и карбоксильной групп.

Обучающийся должен уметь:

1. Написать представителей отдельных аминокислот.
2. Определить свойства аминокислот, обусловленные наличием amino- и карбоксильной групп.
3. Определить pH водных растворов аминокислот.
4. Анализировать полученные результаты и делать соответствующие выводы.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Основные функции белков:

- а) структурная (пластическая)
- б) каталитическая
- в) транспортная
- г) защитная
- д) сократительная
- е) рецепторная
- ж) гормональная

2. Классификация аминокислот, входящих в состав белков.

3. Общие свойства аминокислот:

- а) свойства аминокислот, обусловленные наличием аминогруппы.
- б) свойства аминокислот, обусловленные карбоксильной группой.
- в) кислотно-основные свойства.

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО

Наглядные пособия:

Таблицы

1. Классификация аминокислот.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знания

1. Подберите правильные характеристики

- | | | |
|--------|--------|----------------------------------|
| 1. Иле | 5. Сер | А. Полярная с катионной группой. |
| 2. Асн | 6. Про | Б. Полярная с анионной группой. |
| 3. Глу | 7. Мет | В. Полярная незаряженная. |
| 4. Цис | 8. Гис | Г. Неполярная. |

Ответ: 1-Г; 2-В; 3-Б; 4-В; 5-В; 6-Г, 7-Г; 8-А.

2. Подберите правильные характеристики АМК:

- | | |
|--------|---|
| 1. Мет | А. Циклическая аминокислота. |
| 2. Арг | Б. Гидрокси АК. |
| 3. Тре | В. Серосодержащая АК. |
| 4. Тир | Г. Диаминомонокарбоновая АМК с (+) зарядом. |
| 5. Вал | Д. Входит в состав фибриллярных белков. |

Ответ: 1-В; 2-Г; 3-Б; 4- А; 4-Б; 5-Д.

3. Подберите правильные характеристики АМК:

- | | |
|--------|--|
| 1. Лиз | А. Содержит индольное кольцо |
| 2. Сер | Б. Иминокислота |
| 3. Гис | В. АМК с (+) зарядом |
| 4. Три | Г. Входит в состав коллагеновых белков |
| 5. Про | Д. Входит в состав фосфо- и гликопротеидов |

Ответ: 1-В; 2-Д; 3-В, 4-А; 5-Б, Г

4. Подберите правильные характеристики АМК

- | | |
|--------|-------------------------------------|
| 1. Гис | А. Гидрофильная с анионной группой |
| 2. Лей | Б. Гидрофильная с катионной группой |
| 3. Сер | В. Гидрофильная незаряженная |
| 4. Лиз | Г. Гидрофобная |
| 5. Глу | Д. Входит в состав альбуминов |
| 6. Тир | |
| 7. Три | |

Ответ: 1-Б; 2-Г; 3-В; 4-Б; 5-А, Д; 6-В; 7-Г.

5. Напишите и назовите формулы дипептидов, которые могут быть получены из аминокислот:

- треонина и цистеина
- фенилаланина и аспарагина.
- аргинина и лейцина.

6. Напишите формулы протеиногенных аминокислот, содержащих серу.

7. Напишите формулы протеиногенных аминокислот, имеющих в своем составе гетероциклическое кольцо.

8. Напишите проекционные формулы D и L-фенилаланина.

9. Классифицируйте аминокислоты по полярности радикалов:

- | | |
|---------|----------------------------------|
| 1. Иле. | А. Полярная с катионной группой. |
| 2. Асн. | Б. Полярная с анионной группой. |
| 3. Глу. | В. Полярная незаряженная. |
| 4. Гис. | Г. Неполярная. |
| 5. Сер. | |

Ответ: 1-Г; 2-В; 3-Б; 4-А; 5-В.

10. Напишите формулу пентапептида:

Асп-Вал-Глу-Фен-Лиз.

Обозначьте в пептиде N- и C-концы. Подчеркните пептидные связи.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

- Что такое белки и какие основные функции они выполняют в животных организмах?
- Аминокислоты, как структурная единица белка.
- Классификация аминокислот.
- Представители алифатических аминокислот и их характеристика. Напишите формулы ациклических аминокислот.
- Гомоциклические аминокислоты.
- Гетероциклические амино- и иминокислоты.
- Рациональная классификация аминокислот, основанная на полярности радикалов.
- Общие свойства аминокислот.

9. Напишите формулы дикарбоновых аминокислот. Дайте им рациональные и тривиальные названия. Обозначьте углеродные атомы греческими буквами.

VIII. Самостоятельная работа обучающийся:

Определение аминокислотного состава белков и хроматографический анализ УИРС:

1. Методы фракционирования и очистки белков:

- a) электрофорез;
- b) ультрацентрифугирование;
- c) гель-фильтрация.

2. Хроматография аминокислот и значение в клинической биохимии.

3. Изменение белкового состава плазмы крови в онтогенезе.

IX. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Структурная организация белковой молекулы: первичная, вторичная, третичная, четвертичная.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Прежде чем рассматривать механизм и значение функций белка, следует ознакомиться с основами его «анатомии». Существует четыре важнейших уровня организации белковых молекул:

Первичная структура - это уникальная аминокислотная последовательность, детерминированная генетически и образованная пептидными или амидными связями. В первичной структуре заложен весь план дальнейшей пространственной укладки белковой молекулы.

Правильность полипептидной теории Фишера строения белковой молекулы доказана следующими факторами:

- В природных белках мало титруемых карбоксильных и аминогрупп, поскольку они участвуют в образовании пептидных связей.
- В процессе кислотного или щелочного гидролиза образуются свободные амино- или карбоксильные группы, то же самое происходит под влиянием ферментативного гидролиза, реакция биурета положительная на пептидные связи.
- Рентгеноструктурный анализ подтверждает полипептидную структуру белка, то же самое доказывается возможностью лабораторного синтеза белка. Последовательность аминокислот в первичной структуре определяется методами Сенгера и Эдмана.

В 1953 г. Сенгер в Кембридже впервые открыл последовательность аминокислотных остатков в инсулине (молекулярная масса 5700), спустя несколько лет Мур и Стейн (Нью-Йорк) - других белков в частности, рибонуклеазы с молекулярной массой 13700. Исследование аминокислотной последовательности важно, так как она определяет видовую специфичность белка, то есть одни и те же белки разных видов животных имеют разную аминокислотную последовательность.

Например: инсулин человека в А цепях в положениях

	-8	9	10
человека	тре	сер	лей
свиньи	тре	сер	лей
лошади	тре	глен	лей
крупного рогатого скота	стJlct	сер	вал
барана	стJlct	глен	вал

Вторичная структура - это пространственная конфигурация полипептидных цепей, которые стремятся уменьшить свободную энергию, то есть способ скручивания полипептидных цепей в пространстве. Различаем *a* спирализацию и β -структуру, беспорядочный клубок.

a спирализация - это закручивание полипептидной цепи вокруг мнимого цилиндра по ходу часовой стрелки, поскольку аминокислоты являются L изомерами. Шаг спирали - 5,3 А на каждом витке располагается 3,6 аминокислотных остатка, то есть происходит взаимодействие между 1 и 4 аминокислотным остатком и образование большого числа водородных связей:



Некоторые фибриллярные белки образуют конформацию **R-структуры** - структуры складчатого листа, то есть, последовательный ряд листков, расположенных под углом друг к другу. Она может сформироваться между отдельными полипептидными цепями и может быть параллельной и антипараллельной. Вторичная структура поддерживается большим числом слабых связей, энергия которых мала - от 1 до 7 кал. Слабые связи: водородные, электростатические, гидрофобные, Ван-дер-вальсовы:

- Слабые связи:
- а) электростатическое взаимодействие;
 - б) гидрофобные взаимодействия неполярных групп;
 - в) водородные связи;

Третичная структура - это способ укладки полипептидной цепи в определенном объеме пространства. Она, прежде всего, зависит от характера боковых групп аминокислотных остатков - радикалов. Каждая из этих групп стремится к наиболее выгодным энергетическим взаимодействиям с другими группами и атомами. Каждая специфическая последовательность аминокислот в полипептидной цепи всегда занимает определенное нативное положение в пространстве, обеспечивающее максимально выгодное число связей между атомами полимера и его окружением. Силы, которые способствуют формированию - это разновидности слабых связей, но поддерживается третичная структура ковалентными дисульфидными связями. Дисульфидные связи не определяют характер свертывания полипептидной цепи, но несомненно стабилизируют конформацию молекулы после завершения процесса свертывания.

Например: фермент рибонуклеаза состоит из одной полипептидной цепи (124 аминокислотных остатка) содержит 4 дисульфидных мостика. В положениях 26-84, 72-65, 40-95, 58-110.

При формировании третичной структуры гидрофобные группировки располагаются во внутренней области молекулы.

Некоторые белки имеют четвертичную структуру. Белковая молекула состоит из отдельных протомеров или субъединиц, каждая из которых имеет свои первичную, вторичную и третичную структуры.

Четвертичная структура - это способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих

одинаковой или разной первичной, вторичной, третичной структурой и формирующих единое макромолекулярное образование в структурном и функциональном отношении.

Эту способность белок приобретает при определенном способе пространственного объединения входящих в его состав протомеров образовавших молекулу называемую мультимером, (построены из четного числа протомеров от 2 до 4, реже от 6 до 10,12...).

Субъединица - функционально активная часть молекулы мультимерного белка. Молекула гемоглобина состоит из α -, и β -субчастиц, каждая из которых состоит из 2-х одинаковых α -, и β -полипептидных цепей т.е. молекула гемоглобина состоит из 4-х полипептидных цепей, каждая из которых окружает группу гем.

Классическим примером олигомерной молекулы является вирус табачной мозаики (гигантская молекула с молекулярной массой $\sim 40.000.000$, состоящая из 1 молекулы рибонуклеиновой кислоты и 2130 белковых субъединиц, m каждой ~ 17.500 длина вируса 300 нм., ширина - 17 нм.).

Многие ферменты обладают четвертичной структурой (фосфоорилаза а).

Мультимерным ферментом является лактатдегидрогеназа (катализирует обратимое превращение пировиноградной кислоты в молочную. Этот фермент, благодаря различным сочетаниям субъединиц, может существовать в 5-и формах, такие формы получили название **изоферментов или множественных форм ферментов.**

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Структурную организацию белковой молекулы.
2. Связи, стабилизирующие структуры белка.
3. Специфические свойства аминокислот.
4. Качественные и количественные реакции. Реакции на отдельные аминокислоты. Количественные методы определения белков в исследуемых растворах.

Обучающийся должен уметь:

1. Анализировать качественные реакции на определение аминокислот.
2. Определить количественное содержание белка в плазме крови.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Структурная организация белков
 - первичная
 - вторичная
 - третичная
 - четвертичная
2. Специфические свойства аминокислот
3. Методы химического определения белка
4. Определение N-концевых и C-концевых аминокислот

IV. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Уровни организации белковой молекулы.
2. Первичная структура белка. Теория Фишера.
3. Связи, стабилизирующие первичную структуру.
4. Пространственная конфигурация полипептидной цепи. Вторичная структура и связи ее стабилизирующие.
5. Надвторичная структура. Понятие «домен».
6. Третичная структура белка, связи, стабилизирующие ее, их характеристики.
7. Четвертичная структура белка, понятие об олигомерных белках.
8. Понятие об «изоферментах».

V. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Каково строение белковой молекулы? Что такое α -спираль и β -структура полипептидной цепи?
2. Дайте определение первичной структуры белка. Какая связь её формирует, как она возникает?
3. Что такое вторичная структура, какие связи ее стабилизируют, изобразите.
4. Дайте определение третичной структуре, какие связи участвуют в ее формировании, как они возникают?
5. Дайте определение четвертичной структуре. Какие связи участвуют в ее формировании.
6. Охарактеризуйте принцип комплементарности при формировании четвертичной структуры.
7. Охарактеризуйте эффект Бора.
8. Какие вещества называют пептидами, как обозначаются концы полипептидной цепи.
9. Опишите ксантопротеиновую реакцию.
10. Опишите реакцию Миллона.
11. Перечислите химические связи, которые могут возникать между функциональными группами радикалов

аминокислот внутри одной полипептидной цепи, а также между отдельными полипептидными цепями в белках.

12. Какие белки называют глобулярными, а какие фибриллярными?

VI. Самостоятельная работа Обучающийся

1. Химический состав и химические свойства протаминов и гистонов.
2. Альбумины и глобулины.
3. Самосборка клеточных органелл и вирусных частиц.

УИРС:

- 1) Третичная, четвертичная структура белка и их роль в функциональной активности белков.
- 2) Методы качественного определения белка.
- 3) Роль гистонов в синтезе нуклеопротеидов.
- 4) Методы определения N-концевых и C-концевых аминокислот.

VII. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Химия простых белков, методы их выделения и определения. Хроматография. Физико-химические свойства белков. Методы качественного и количественного анализа белков. Количественное определение белка по методу «Биурета»

I. Научно-методическое обоснование темы:

Для белков наиболее характерны следующие основные физико-химические свойства: высокая вязкость, диффузия, диализ, оптическая активность, подвижность в электрическом поле, осмотическое давление, денатурация белков, молекулярная масса белков.

Белки амфотерны, благодаря наличию свободных NH_2 - и COOH - групп. Для них характерны все свойства кислот и оснований. Белки обладают явно выраженными гидрофильными свойствами. Растворы белков имеют очень низкое осмотическое давление, высокую вязкость и незначительную способность к диффузии. Белки способны к набуханию в очень больших пределах.

Молекулярная масса белков.

Белки - высокомолекулярные соединения, в состав которых входят сотни и даже тысячи аминокислотных остатков, объединенных в макромолекулярную структуру. Молекулярная масса колеблется от 6000 до 1000000Д и выше, и зависит от количества полипептидных цепей в составе единой молекулярной структуры белка. Такие полипептидные цепи называют субъединицами. Их молекулярная масса варьирует от 6000 до 100000 и более.

Для огромного количества встречающихся в природе белков химическое строение не выявлено, поэтому основными методами определения молекулярной массы все еще остаются физико-химические методы (гравиметрические, осмометрические, вискози- метрические, электрофоретические, оптические и др.).

Определение молекулярной массы белков методами седимен- тационного анализа проводят в ультрацентрифугах, в которых удается создать центробежные ускорения (g), превышающие в 200000 и более раз ускорение земного притяжения. Вычисляют по скорости седиментации молекул белка или седиментационно- му равновесию. По мере перемещения молекул от центра к периферии образуется резкая граница растворитель-белок (регистрируется автоматически). Оптические свойства растворителя и белка используются при определении скорости седиментации; последнюю выражают через константу седиментации S, которая зависит как от массы, так и от формы белковой частицы:

$$W^2 - r$$

где V - скорость перемещения границы растворитель-белок, см/с; W - угловая скорость ротора, рад/с, r - расстояние от центра ротора до середины ячейки с раствором белка, см.

Константа седиментации имеет размерность времени (в сек.). Величина константы седиментации равна $1 \cdot 10^{13}$ с, условно принята за единицу и названа сведбергом (S).

Значения констант седиментации большинства белков лежат в пределах 1-50 S, хотя в ряде случаев эти значения превышают 100 S. Для вычисления M необходимы сведения о плотности растворителя и белка и другие согласно уравнению Сведберга:

$$M = \frac{D(l - v\rho)}{R T s}$$

где R-газовая постоянная орг/(моль град), T - абсолютная t (по шкале Кельвина), S - константа седиментации, ρ - плотность растворителя, "v-парциальный удельный объем молекулы белка, D-коэффициент диффузии.

Определение M белков методом ультрацентрифугирования требует много времени и сложной, дорогостоящей аппаратуры. Разработаны 2 более простых метода (гель-хроматография и электрофорез). При использовании диск-электрофореза в полиакриламидном геле для определения M белков строят график зависимости между логарифмом молекулярной массы калибровочных белков и подвижностью белковых частиц в полиакриламидном геле, а затем, определив подвижность исследуемого белка, по графику находят его массу.

Электрофорез проводят в присутствии детергента додецил- сульфата натрия, т.к. только в этом случае наблюдается прямая пропорциональная зависимость между молекулярной массой и подвижностью белков.

Масс-спектрометрический метод (лазерный десорбционноионизационный метод) позволяет определить М небольших пептидов (инсулин, вазопрессин) и крупных биополимерных молекул и, кроме того, структуру биомолекул.

Форма белковых молекул

По форме молекул белки делятся на глобулярные и фибриллярные.

Глобулярные белки имеют более компактную структуру, их гидрофобные радикалы в большинстве своем спрятаны в гидрофобное ядро, и они значительно лучше растворимы в жидкостях организма, чем фибриллярные белки (исключение составляют мембранные белки).

Благодаря применению сканирующей микроскопии и рентгеноструктурного анализа удалось в деталях расшифровать не только полную пространственную структуру, форму, но и степень асимметрии белковых молекул во всех трех измерениях.

Изоэлектрическая и изоионная точки белков

В изоэлектрической точке суммарный заряд белков, обладающих амфотерными свойствами, равен 0 и белки не перемещаются в изоэлектрическом поле. Зная аминокислотный состав белка, можно приближенно определить изоэлектрическую точку (р_i); р_i является характерной константой белков.

Изоэлектрическая точка лежит в пределах от 5,5 до 7,0, что свидетельствует о частичном преобладании кислых аминокислот. Однако в природе имеются белки, у которых значения изоэлектрических точек лежат в крайних значениях рН среды, р_i пепсина равна 1, а сальмина - почти 12.

В изоэлектрической точке белки наименее устойчивы в растворе и легко выпадают в осадок.

Раствор белка называется изоионным, если он не содержит никаких других ионов, кроме ионизированных остатков аминокислот белковой молекулы и ионов, образующихся при диссоциации воды. Для освобождения белка от посторонних ионов, раствор пропускают через колонку, наполненную смесью анионо- и катионообменников. Изоионной точкой данного белка принято называть значение рН изоионного раствора этого белка:

$$[H]^+ + [P]_Z = [OH]^-$$

где P - молярная концентрация белка, Z - средний заряд молекулы.

Изоионная точка белка зависит от его концентрации.

Денатурация белков.

Под влиянием различных физических и химических факторов белки подвергаются свертыванию и выпадают в осадок, теряя нативные свойства. Под денатурацией следует понимать нарушение общего плана уникальной структуры нативной молекулы белка, преимущественно ее третичной структуры, приводящее к потере характерных для нее свойств (растворимость, электрофоретическая подвижность, биологическая активность). Большинство белков денатурирует при нагревании их растворов до 50-60 С.

Наиболее характерным признаком денатурации является резкое снижение или полная потеря белком его биологической активности (каталитической, антигенной или гормональной).

При денатурации белка, вызванной 8М мочевиной или другим агентом, разрушаются в основном нековалентные связи (в частности, гидрофобные взаимодействия и водородные связи).

Дисульфидные связи в присутствии восстанавливающего агента меркаптоэтанола разрываются, в то время как пептидные связи самого остова полипептидной цепи не затрагиваются. В этих условиях разворачиваются глобулы нативных белковых молекул и образуются случайные и беспорядочные структуры.

При непродолжительном воздействии и быстром удалении денатурирующих агентов возможна ренатурация белка с полным восстановлением исходной трехмерной структуры и нативных свойств его молекулы, включая биологическую активность.

При денатурации белковая молекула полностью теряет биологические свойства, демонстрируя тем самым тесную связь между структурой и функцией.

Для практических целей иногда используют процесс денатурации в «мягких» условиях (в условиях низкой t, в присутствии солей, и соответствующем значении рН) например, при получении ферментов или других биологически активных белковых препаратов.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Основные физико-химические свойства белков.
2. Методы осаждения белка.

Обучающийся должен уметь:

1. Произвести высаливание белков.
2. Анализировать результаты практических работ.
3. Осаждать белки различными веществами.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Основные физико-химические свойства:
 - а) высокая вязкость
 - б) диффузия, диализ.
 - в) оптическая активность
 - г) подвижность в электрическом поле
 - д) осмотическое давление
 - е) денатурация белков (факторы денатурации)
 - ж) молекулярная масса белков
 - з) необратимое осаждение.
2. Методы осаждения:
 - а) необратимое
 - солями тяжелых металлов
 - алкалоидными реактивами
 - минеральными кислотами
 - органическими кислотами
 - при нагревании
 - б) обратимые реакции осаждения
 - органическими растворителями
 - концентрированными растворами нейтральных солей.

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО

Наглядные пособия:

Таблицы

III. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Какие физико-химические свойства вы знаете?
2. От чего зависит степень ионизации функциональных групп?
3. Что такое изоэлектрическая точка? Какова биологическая активность и устойчивость в растворе белков, находящихся в изоэлектрическом состоянии?
 1. От каких свойств зависит растворимость белков в воде?
 2. При какой t и pH среды можно использовать метод избирательной денатурации?
 3. От чего зависит концентрация соли при высаливании бел-
 4. Какие принципы положены в основу хроматографических методов?
 5. При какой t производят выделение и очистку белков? С чем это связано?
 6. В чем выражается амфотерность белков?
 7. От чего зависит заряд частиц белков в растворе?

IV. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Физико-химические свойства белка.
2. Сущность процесса денатурации и факторы ее вызывающие.
3. Методы выделения, очистки и фракционирования белков.
4. Что такое денатурация?
5. Что такое диализ? Для чего служит диализ?
6. Чем обусловлены реакции осаждения белков? Что такое обратимое и необратимое осаждение.
7. Перечислите способы осаждения белков.

V. Самостоятельная работа обучающихся:

1. Определение молекулярной массы белков методами седиментационного анализа.

УИРС

1. Физико-химические характеристики и функциональные свойства первичной структуры и ее роль в формировании биологической активности белков.
2. Физико-химические характеристики и функциональные свойства вторичной структуры и методы ее изучения.

VI. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Химия сложных белков. Определение нуклео-, хромо-, липо- и гликопротеинов. Качественные реакции на определение сложных белков: гидролиз нуклеопротеинов дрожжей; качественное определение геминной группировки гемоглобина; обнаружение фосфата в казеине.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Сложные белки - протеиды, состоят из белковой части и небелковой - простетической группа, кофермент, кофактор. В зависимости от характера простетических групп сложные белки классифицируются на:

1. Хромопротеиды:
 - а) гемопротеиды (гемоглобин, миоглобин, цитохромы, пероксидоза, каталаза).
 - б) флавопротеиды: ФАД, ФМН (производные витамина В₂).
 - в) металлопротеиды: трансферрин, церулоплазмин и др.
2. Нуклеопротеиды:
 - а) дезоксирибонуклеопротеиды (простетическая группа в виде ДНК);
 - б) рибонуклеопротеиды (простетическая группа в виде РНК).
3. Фосфопротеиды, то есть содержащие остатки фосфорной кислоты - казеиноген, фосвитин, ихтулин и др.
4. Липопротеиды (хиломикроны, ЛПОНП, ЛИНИ, ЛПВП, ЛПОВП).
5. Гликопротеиды - цереброзиды, цереброзидсульфатиды, ганглиозиды.

Характеристика простетических групп

Гемопротеиды - простетической группой гемопротеидов является гем, производное протопорфирина - форма IX, который состоит из 4 пиррольных колец, соединенных метановыми (СН) связями. На вершине каждого пиррольного кольца имеется атом азота, который двумя координационными и двумя ковалентными связями присоединяется к двухвалентному железу. В составе гема имеются замещенные радикалы: 4 метальных, 2 винильных и 2 остатка пропионовой кислоты. Следовательно, по химической структуре гем представляет собой 1, 3, 5, 8 тетраметил, 2, 4 дивинил, 6, 7 дипропионовокислый порфирин. Такая структура гема характерна для гемоглобина, миоглобина, цитохрома с и с₁. Гем цитохрома а₃ или цитохромоксидазы имеет следующие отличия: во втором положении вместо винильного радикала имеет место изопреноидная цепь и в 8 положении метальный радикал замещается на формильную группу С - ОН. Гем гемоглобина и миоглобина обладает свойствами взаимодействия с газами в частности с кислородом, который присоединяется через координационную связь, при этом валентность железа не изменяется, то есть гем этих соединений имеет свободную координационную связь. Гемоглобин превращается в оксигемоглобин образуется НвО₂. На уровне органов и тканей он диссоциирует на кислород и восстановленный гемоглобин, последний присоединяет углекислый газ и превращается в карбогемоглобин. Следовательно, в нормальном здоровом организме существуют следующие формы гемоглобина НвО₂, Нв Н, Нв СО₂

Кроме этого, гем Нв обладает способностью реагировать с угарным газом, причем сродство Нв к угарному газу в 300 раз больше, чем к кислороду. Небольшая примесь угарного газа в закрытом помещении активно связывает железо гема гемоглобина, при этом валентность железа не изменяется, но образуется прочное соединение карбоксигемоглобин, что сопровождается нарушением процесса дыхания. Под влиянием сильных окислителей (анилиновые краски, бертолетова соль, красная кровяная соль, железо) Нв окисляется и превращается в метгемоглобин (Мет (ОН)). При этом останавливается тканевое дыхание и наступает удушье - смерть. Гемоглобин был первым белком, полученным в кристаллическом виде, он способен кристаллизоваться, в присутствии соляной кислоты и хлористого натрия образуются кристаллы гемоглобина, которые получены впервые Тейхманом, они имеют видоспецифичность, то есть кристаллы человека имеют ромбическую форму. Нв животных приобретают другие формы, поэтому данное свойство Нв используется в судебной практике для идентификации пятен крови человека и животных.

Гем цитохромов в отличие от гема гемоглобина и миоглобина не имеет свободной координационной связи, так как двумя координационными связями присоединяется к белковой молекуле, поэтому железо гема цитохромов может окисляться и восстанавливаться, принимая и отдавая электроны. На этом свойстве основано участие цитохромов в ЦПЭ.

Флавопротеиды - производные рибофлавина - витамина В₂, в основе структуры простетической группы лежит изоаллоксазиновое кольцо, к которому присоединяется пятиатомный спирт рибитол и активная форма называется ФМН, если через остаток фосфорной кислоты к ФМН присоединяется адениловая кислота, то образуется другой кофермент - ФАД. Оба кофермента участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. ФМН - с ферментами - оксидазами, а ФАД с дегидрогеназами.

Мет ал л о пр о т е и д ы.

Трансферрин в своем составе имеет атом железа, является транспортной формой железа.

Ферритин - это депонированная форма железа, которая откладывается в энтероците и гепатоците.

Церулоплазмин - медь содержащий белок, который принимает участие в метаболизме ионов меди, доставляет их в гепато-цит, подвергается там метаболизму и экскретируется с желчью, поэтому при недостаточности развивается болезнь Вильсона-Ко- новалова - гепатолентикулярная недостаточность.

Нуклеопротеины состоят из белков и нуклеиновых кислот. В природе обнаружено 2 типа нуклеопротеинов, отличающихся друг от друга по составу, размерам и физико-химическим свойствам: дезоксирибонуклеопротеины (ДНП)

и рибонуклеопротеины (РНП). У РНП углевод представлен рибозой, у ДНП - дезоксирибозой. Термин «нуклеопротеины» связан с названием ядра клетки, однако ДНП и РНП содержатся и в других субклеточных структурах. ДНП преимущественно локализованы в ядре, а РНП

- в цитоплазме. В то же время ДНП открыты в митохондриях, а в ядрах и ядрышках обнаружены также высокомолекулярные РНП.

Биохимики имеют достаточно оснований для утверждения, что природа синтезированных в клетках белков зависит в первую очередь от природы ДНП, точнее ДНК, а свойства живых организмов, как и структурная организация субклеточных органелл, клеток и целостного организма, определяются свойствами синтезированных белков.

ДНК хранит наследственную информацию. Подтверждением этого служит явление трансформации, наблюдаемое у бактерий и открытое также в культуре клеток человека. Сущность заключается в превращении одного генетического типа клеток в другой путем изменения природы ДНК. С нуклеопротеинами и соответственно нуклеиновыми кислотами непосредственно связаны такие биологические процессы, как митоз, мейоз, эмбриональный и злокачественный рост.

У большинства клеток эукариот, когда ядро находится в интерфазе, из ДНК и белковых молекул образуются филаменты - нити, имеющие меняющуюся толщину (в среднем около 10 нм, реже 2 нм). Толщина филаментов определяется наличием или отсутствием белков, окружающих двухспиральную структуру ДНК, а длина их - молекулярной массой ДНК. Известно, что одна хромосома содержит одну молекулу ДНК, имеющую длину несколько сантиметров. ДНП входит в состав мононуклеосом, являющихся составной частью хромосомы. В состав хроматина входят молекула ДНК, пять различных классов белков-гистонов и так называемые негистоновые белки. Количество ДНК в ядре составляет до 6 пг на одну клетку у животных. У *E.coli* содержание ДНК равно 0,01 пг.

Относительно белкового состава ДНП известно, что все 5 классов гистонов различаются по размерам, аминокислотному составу и величине заряда (всегда положительный). Выделяют гистоны, богатые лизином (H1), молекулярная масса которых составляет в среднем 20000, и богатые аргинином с мол. массой до 15000.

Фосфопротеиды.

К белкам этого класса относятся казеиноген молока, вителлин, вителлинин и фосвитин, выделенные из желтка куриного яйца; ихтулин, содержащийся в икре рыб. Большое количество фосфопротеинов содержится в клетках ЦНС. Характерной особенностью структуры фосфопротеинов является то, что фосфорная кислота оказывается связанной сложноэфирной связью с белковой молекулой через гидроксильные группы В-оксиаминокислот. Главным образом серина и в меньшей степени треонина. На 1 молекулу белка приходится 2-4 остатка фосфата. В клетках фосфопротеины синтезируются в результате пространственной модификации, подвергаясь фосфорилированию при участии протеинкиназ. Фосфопротеины содержат органически связанный, лабильный фосфат абсолютно необходимый для выполнения клеткой ряда биологических функций. Они являются ценным источником энергетического и пластического материала в процессе эмбриогенеза и дальнейшего постнатального роста и развития организма.

Липопротеины - состоят из белка и простетической группы, представленной каким-либо липидом. В составе ЛП открыты нейтральные жиры, свободные жирные кислоты, фосфолипиды, холестериды. ЛП входят в состав клеточной мембраны и внутриклеточных биомембран ядра, митохондрий, микросом (структурированные ЛП), а также присутствуют в свободном состоянии (в плазме крови). Различают ЛП сыворотки крови низкой плотности, очень низкой плотности, высокой плотности, очень высокой плотности и промежуточной плотности.

К ЛП относятся тромбопластический белок ткани легких, липовителлин желтка куриного яйца, некоторые фосфолипиды молока и т.д. ЛП участвуют в структурной, комплексной организации миелиновых оболочек, нервной ткани, хлоропластов, фоторецепторной и электронно-транспортной систем, палочек и колбочек сетчатки.

Большинство ЛП синтезируются в печени или слизистой оболочке кишечника. Они содержат гидрофобное липидное ядро, окруженное полярными липидами и оболочкой из белков, получивших название апобелки. Различают восемь типов апобелков (apo- A1, AII, B, C1, CII, CIII, D, E). Обычно ЛП содержат до 5% углеводов (глюкоза, галактоза, гексозамины, фукоза, сиаловая кислота), поэтому некоторые из них являются и гликопротеинами.

Гликопротеины - сложные белки, содержащие, помимо простого белка или пептида, группу гетероолигосахаридов (или гликоконъюгатов). В их состав входит углеводный компонент (гликановая фракция), ковалентно связанный с неуглеводной частью (агликановая фракция), представленной белком, пептидом, аминокислотой или липидом. Нарушение реакции гликозилирования двух главных классов гликоконъюгатов (гликопротеинов и ганглиозидов) приводит или к накоплению предшественников этих веществ, или к синтезу «укороченных» сахарных цепей гликоконъюгатов. При взаимодействии между некоторыми вирусами и клетками-мишенями главную роль играют углеводные компоненты. Помимо гликопротеинов различают также протеогликаны, состоящие из белка и гликозаминогликанов (или мукополисахаридов). Они состоят из цепей сложных углеводов: аминсахаров, урсонных кислот, серной кислоты и отдельных моносахаридов. Типичными гликозаминогликанами являются гиалуриновая кислота, хондроитинсерная кислота и гепарин.

К гликопротеинам относят большинство белковых гормонов, секреторируемых в жидкие среды организма вещества, мембранные сложные белки, все антитела (иммуноглобулины), белки плазмы крови, молока, овалбумин, интерфероны, факторы комплемента, группы крови, рецепторные белки и др.

Они выполняют специфические функции: обеспечивают клеточную адгезию, молекулярное и клеточное узнавание, антигенную активность опухолевых клеток, оказывают защитное и гормональное, а также антивирусное действие.

Синтез гликопротеинов осуществляется в рибосомах эндоплазматического ретикулума (в цитронах), затем присоединяются сахарные цепи (постсинтетическое гликозилирование), и далее белок транспортируется до биомембран клетки и включается в состав мембранных белков или секретируется. Синтезированные гликопротеины далее переносятся в аппарат Гольджи, где осуществляются окончательное гликозилирование и сортировка по назначению.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Классификацию сложных белков.
2. Нуклеопротеиды, характер простетических групп.
3. Глико- и липопротеиды.
4. Хромопротеиды. Характер простетических групп, представители.
5. Фосфопротеиды, структура, представители.

Обучающийся должен уметь:

1. Обнаружить в гидролизате дрожжей:
 - а) полипептиды Биуретовым методом;
 - б) пуриновые и пиримидиновые основания серебряной пробой;
 - в) пентозу качественной реакцией;
 - г) фосфорную кислоту молибденовой пробой.
2. Обнаружить геминовую группировку гемоглобина бензидиновым методом.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы:

1. Общая характеристика сложных белков.
2. Классификация сложных белков
3. Структура и свойства простетических групп.
4. Физико-химические свойства сложных белков.
5. Строение и свойства липопротеидов, гликопротеидов, фос- фопротеидов, металлопротеидов, хромопротеидов, нуклеопротеидов.

II. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Дайте определение сложным белкам.
2. Классификация сложных белков.
3. Назовите представителей гемопротеидов.
4. Напишите структуру гема гемоглобина и охарактеризуйте его связи.
5. Охарактеризовать структурную организацию гемоглобина.
6. Что такое эффект Бора.
7. Гемоглинозы и их характеристика.
8. Флавопротеиды, их представители и характеристика.
9. Нуклеопротеиды, строение, свойства, представители.
10. Липопротеиды, классификация и их биологическая функция.
11. Фосфопротеиды структура и биологические функции.
12. Гликопротеиды, строение, представители и биологические функции.

III. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Как классифицируются сложные белки? Что такое простетическая группа? Перечислить простетические группы всех классов сложных белков.
2. Охарактеризуйте хромопротеиды. Каково строение и биологическая роль гемоглобина? Назовите соединения гемоглобина с O_2 , CO, что такое метгемоглобин?
3. Назовите ферменты, относящиеся к хромопротеидам.
4. Каково строение и биологическое значение фосфопротеидов? Назовите представителей фосфопротеидов.
5. Каково строение и биологическое значение металлопротеидов? Назовите представителей металлопротеидов.
6. Каково строение и биологическое значение гликопротеидов? Назовите представителей глико протеидов.
7. Каково строение и биологическая роль липопротеидов
8. Что такое нуклеопротеиды? Каково их строение?
9. Какова биологическая роль нуклеопротеидов? Какие протеины входят в состав нуклеопротеидов и какова особенность их аминокислотного состава?
10. Какие нуклеиновые кислоты входят в состав нуклеопротеидов? Чем отличаются по своему строению ДНК и РНК.

IV. Самостоятельная работа Обучающийся

1. Гидролиз сложных белков.
2. Нуклеопротеиды и их химическое строение.
3. Строение и свойства ДНК.
4. Строение и свойства РНК,

5. Химическое строение гемоглобина
- 4 Свойства гемоглобина и его производных.
1. Строение и свойства липопротеидов, глико протеидов, фосфопротеидов, металлопротеидов.

УИРС

1. Структурно-аномальные гемоглобины. Гемоглобинопатии.
2. Особенности структуры гемоглобина, кооперативность связывания кислорода и дыхательная функция.

V. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Ферменты как биологические катализаторы. Строение и общие свойства ферментов. Классификация ферментов. Коферменты. Определение ферментативной активности в биологических жидкостях.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Основу жизнедеятельности любого организма составляют биохимические процессы.

Практически все реакции в живом организме протекают с участием природных биокатализаторов, называемых ферментами или энзимами. Они представляют собой высокоспециализированный класс веществ белковой природы, используемых живыми организмами для осуществления многих тысяч взаимосвязанных химических реакций, включая синтез, распад и взаимопревращение разнообразия и огромного множества химических соединений.

Жизнь и многообразие ее проявлений - сложная совокупность химических реакций, катализируемых специфическими ферментами. Важнейшим свойством живого организма является обмен веществ, ускоряющим и направляющим аппаратом, основой молекулярных механизмов которого являются ферменты.

Учение о ферментах выделено в самостоятельную науку - энзимологию или ферментологию. Теоретические и практические достижения энзимологии занимают ведущее место в решении многих проблем биохимии и молекулярной биологии, включая их сравнительное и эволюционное рассмотрение.

Энзимология в своем современном физико-химическом и молекулярном понимании решает две главные, неразрывно связанные между собой проблемы, касающиеся, с одной стороны структурной макромолекулярной организации ферментов, с другой - природы химических взаимодействий, лежащих в основе ферментативного катализа.

Изучение ферментов имеет огромное значение для любой области биологии: химической, пищевой и фармацевтической индустрии, занятых приготовлением катализаторов, антибиотиков, витаминов, лекарственных препаратов и других биологически- активных веществ.

Успехи общей и молекулярной энзимологии способствуют развитию медицинской энзимологии, цели и задачи которой связывают с решением проблем энзимопатологии, энзимодиагностики и энзимотерапии

II. Цель деятельности обучающихся на занятии.

Обучающийся должен знать:

1. Роль ферментов, значение ферментов в химических реакциях как биокатализаторов;
2. Структурную организацию ферментов;
3. Понятие о коферментах, кофакторах и простетических группах;
4. Значение активного центра в ферментативном катализе, специфичность действия ферментов;
5. Отличие ферментативного катализа от действия неорганических катализаторов;
6. Механизм и кинетику ферментативного катализа.

Обучающийся должен уметь:

1. Определять активность амилазы слюны;
2. Определять влияние различных температурных режимов на активность амилазы слюны;
3. Определять специфичность действия амилазы слюны и сахаразы дрожжей;
4. Исследовать влияние реакции среды на активность пепсина желудочного сока;
5. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

III. Содержание обучения.

1. Структурная организация ферментов. Понятие «апофермент» и «холофермент». Кофермент, кофактор и простетическая группа. Их роль в ферментативном катализе.
3. Реагирующая часть фермента «апофермент». Свойства активного центра, специфичность действия ферментов.
4. Особенности ферментативного катализа.
5. Механизм ферментативного катализа. Теории Фишера и Кошленда.
6. Кинетика ферментативных реакций. Закон Михаэлиса- Ментен.
7. Зависимость скорости ферментативных реакций от t и pH.

IV. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Ферменты как биокатализаторы. Охарактеризовать биологическую роль ферментов.
2. Ферменты простые и сложные. Дайте определение понятия «апофермент», «холофермент», «кофермент», «кофактор» и «простетическая группа».
3. Перечислите и охарактеризуйте коферменты - производные витаминов.
4. Назовите металлы, которые выполняют роль кофактора.
5. Назовите функции белковой части молекулы фермента.
6. Понятие об активном центре, свойства активного центра; охарактеризуйте участие активного центра в ферментативном катализе.
7. Особенности ферментативного катализа; отличие ферментов от неорганических катализаторов.
8. Что называют энергетическим барьером реакции? Что такое «энергия активации», понятие «переходное

состояние».

9. Назовите и охарактеризуйте две теории действия ферментов.
10. Изобразите схематически протекание реакции превращения субстрата в продукт реакции по теории промежуточных соединений.
11. Объясните в общем виде механизм действия ферментов, исходя из теории фермент-субстратной комплементарности.
12. В чем заключается биологическая роль ступенчатости биохимических процессов в живых организмах?
13. С помощью каких связей происходит присоединение субстрата к активному центру фермента, какого значения «многоочечного» контакта фермента с субстратом?
14. В чем сущности кислотно-основного, а также нуклеофильного и электрофильного катализа ферментативных реакций?
15. Назовите нуклеофильные группы. Радикалы каких аминокислот встречаются в активном центре?
16. Что представляют собой электрофильные группы, встречающиеся в активном центре ферментов, как они действуют в акте катализа?
17. Перечислите факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций.
18. Как изменяется скорость ферментативной реакции при изменении концентрации фермента.
19. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Закон Михаэлиса-Ментен.
20. Что такое константа Михаэлиса и ее биологическая роль.
21. Как изменяется скорость ферментативной реакции при изменении температуры, что такое термолабильность?
22. Зависимость ферментативной активности от pH. Чем обусловлено влияние pH среды на скорость ферментативной реакции. Укажите оптимум pH для следующих ферментов: пепсин, трипсин, амилаза.

V. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Охарактеризуйте ферменты как биокатализаторы. Опишите строение ферментов. Дайте определение простым и сложным ферментам.
2. Классификация ферментов по химической структуре и биологической роли.
3. Написать несколько коферментов, производных витаминов НАД, ФАД, ФМН; охарактеризовать их реагирующую часть молекулы.
4. Охарактеризовать коферменты, производные витаминов В В₆, фолиевой кислоты; написать структуры и объяснить, в каких процессах метаболизма они участвуют.
5. Охарактеризовать и написать формулы биотина, липоевой кислоты и в каких процессах метаболизма они участвуют.
6. Охарактеризовать роль аскорбиновой кислоты. Коферментом каких ферментов она является.
7. Назовите кобамидные коферменты. Производным какого витамина являются. Какова функция ферментов, содержащих кобамидные коферменты.
8. Чем отличается ферментативный катализ от неферментно-
9. Охарактеризуйте реагирующую часть апофермента. Опишите, как формируется активный центр, из каких групп состоит, какими свойствами обладает.
10. Охарактеризуйте влияние температурного режима и pH на активность ферментов.

VI. Самостоятельная работа обучающихся.

1. Современные представления о механизмах каталитической деятельности ферментов.
2. Структурная организация рибонуклеазы.
3. Желтухи новорожденных, вызванные энзимопатиями.

VII. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринстейн Б., Гринстейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000

6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия
14. Дюга Г., Пенни К. химические подходы к механизму действия ферментов, М.:Мир, 1983

Тема: Регуляция активности ферментов: активирование и ингибирование. Медицинские аспекты энзимологии.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Активность ферментов в организме человека и высших животных регулируется, что обеспечивает приспособление интенсивности обмена веществ к скорости протекания жизненных процессов. Регуляция скорости ферментативных реакций в клетке - основной механизм не только контроля и координации метаболических путей, но и особенностей течения метаболизма в клетках различных органов и их адаптация к изменениям окружающей среды.

Живая клетка - открытая система, постоянно обменивающаяся с внешней средой веществами и энергией: в нее поступают питательные вещества, которые подвергаются превращению и используются в качестве строительного и энергетического материала, из клеток выводятся конечные продукты метаболизма. В многоклеточном организме клетка реагирует не только на изменение окружающей среды, но и на функциональную активность соседних клеток, она стремится сохранить неизменным свой внутренний состав - клеточный гомеостаз.

Среди всех метаболических путей, протекающих в организме, выделяют катаболизм и анаболизм (обмен веществ).

Катаболизм - распад сложных веществ до простых с высвобождением энергии.

Анаболизм - синтез из простых более сложных органических веществ.

Метаболические пути согласованы между собой по месту, времени и интенсивности протекания. Эта согласованность протекания обеспечивается сложными и многообразными механизмами регуляции.

Скорость ферментативной регуляции, как и активность фермента, в значительной степени определяется так же присутствием в среде активаторов и ингибиторов: первые повышают скорость реакции, а вторые - тормозят.

Активирующее влияние на скорость

ферментативной реакции оказывают разнообразные вещества органической и неорганической природы.

Основными способами регуляции активности ферментов являются: активирование и ингибирование.

Активирование протекает по типу срочной регуляции и хронической адаптации.

К срочной (быстрой) регуляции относятся:

1. Ковалентная модификация;
2. Частичный протеолиз;
3. Ассоциация-диссоциация;
4. Белок-белковые взаимодействия;
5. Аллостерическая регуляция.

Хроническая адаптация - дорепрессорное действие на синтез белка-фермента.

Ингибирование бывает обратимое и необратимое. Обратимое ингибирование в свою очередь разделяют на конкурентное, неконкурентное и бесконкурентное. Ферменты применяют в медицине:

1. Ферменты и наследственная патология - энзимопатология, т.е. дефицит отдельных ферментов является причиной наследственных заболеваний.
2. Ферменты применяются с целью диагностики заболеваний (энзимодиагностика) - трансферазы АсАТ, АлАТ. Определение их активности используется для диагностики патологии сердца и печени.
3. При их отсутствии или недостатке (наследственном или приобретенном) например, ферменты пищеварительного тракта (пепсин, трипсин, липаза) входят в состав лекарств, улучшающих пищеварение.
4. Для специфического разрушения некоторых продуктов обмена, тромбов, участков омертвевшей ткани на ранах.
5. Многие лекарственные ферментные препараты при онкопатологии оказывают свое терапевтическое действие по механизму конкурентного ингибирования, т.е. являются антиметаболитами.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии.

Обучающийся должен знать:

1. Как регулируется интенсивность протекания химической реакции;
2. Виды регуляции (ингибирование и активирование);
 - а). Виды ингибирования: понятие об антиметаболитах;
 - б). Виды срочного (быстрого) активирования и хронической адаптации;
 - в). Аллостерическая регуляция - основной вид регуляции метаболических процессов и уровни регуляторной активности ферментов;
3. Использование ферментов в медицине.

Обучающийся должен уметь:

1. Определять влияние активатора и не специфического ингибитора на активность амилазы слюны;
2. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

III. Содержание обучения

Основные вопросы:

1. Регуляция активности ферментов: ингибирование и активирование.
2. Виды активирования по типу срочной и быстрой регуляции и хронической адаптации.
3. Виды ингибирования: необратимое и обратимое, конкурентное и неконкурентное. Понятие об антиметаболитах.
4. Регуляторные ферменты и их роль в биологических процессах.
5. Аллостерическая регуляция олигомерных ферментов. Аллостерические «эффекторы» или «модуляторы».
6. Влияние положительных и отрицательных эффекторов.
7. Регуляция в клетке концентрации ферментных молекул.
8. Уровни регуляции активности ферментов.
9. Ферменты и медицина - энзимопатология, энзимодиагностика, энзимотерапия и др.
10. Единицы измерения активности ферментов - удельная активность ферментов.

IV. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Как регулируется скорость протекания биохимических процессов в клетке? Начальные уровни регуляции биохимических процессов.
2. Ингибирование активности ферментов. Понятие об ингибиторах. Ингибирование обратимое и необратимое.
3. Назовите виды обратимого ингибирования; охарактеризуйте каждый вид обратимого ингибирования.
4. Чем характеризуется необратимое ингибирование ферментов?
5. Конкурентное ингибирование. Антиметаболиты.
6. Что такое активаторы ферментов? Каков механизм их действия?
7. Какие вещества называются проферментами? Биологический смысл образования некоторых ферментов в неактивной форме?
8. Охарактеризуйте виды активирования: диссоциация и ассоциация ферментных молекул.
9. Какие ферменты называются регуляторными? Какую роль они играют в биохимических процессах?
10. Аллостерическая регуляция. Аллостерические эффекторы или модуляторы. Их характеристика.
11. Регуляция концентрации ферментативной молекулы (III уровень регуляции ферментативной активности).
12. Охарактеризуйте ферменты конститутивные, индуцибельные и репрессируемые.
13. Высший уровень регуляции ферментативной активности в организме.
14. Какими путями гормоны могут влиять на активность ферментов?
15. Что понимают под энзимопатологией? Типы энзимопатологий.
16. На чем основана энзимодиагностика? Характеристика индикаторных или органоспецифических ферментов.
17. Охарактеризуйте изменения ферментативной активности в сыворотке крови при патологических состояниях: рахит, поражение поджелудочной железы, некроз миокарда и др.
18. Энзимотерапия. Назовите типы препаратов, используемых для энзимотерапии.
19. В чем заключается сущность действия лекарственных веществ?
20. Ферменты как мишени действия лекарственных веществ.
21. Ферменты как химические реагенты.
22. Методы обнаружения ферментов в биологических средах.
23. В каких единицах выражается активность ферментов?

V. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Регуляция активности биохимических процессов в клетке.
2. Как ингибируется активность ферментов? Обратимое и необратимое ингибирование.
3. Виды обратимого ингибирования. Охарактеризовать каждый из них.
4. Охарактеризуйте необратимое ингибирование ферментов.
5. Антиметаболиты и конкурентное ингибирование.
6. Механизм действия активаторов ферментов.
7. Что такое проферменты и биологический смысл их образования.
8. Охарактеризовать процесс диссоциации и ассоциации ферментативных молекул.
9. Характеристика аллостерической регуляции, аллостерических эффекторов или модуляторов.
10. Что такое индуцибельные, конститутивные и репрессируемые ферменты?
11. Пути влияния гормонов на активность ферментов.
12. Типы энзимопатологий.
13. Энзимодиагностика, органоспецифические или индикаторные ферменты, их характеристика.
14. Энзимотерапия, ферменты-мишени действия лекарственных веществ.
15. Единицы выражения активности ферментов, удельная активность ферментов.

VI. Самостоятельная работа обучающийся:

1. Классификация ферментов по биологическому значению. Значение органоспецифических ферментов в диагностике различных патологий (энзимодиагностика).
2. Энзимодиагностика патологии рака предстательной железы и первичного рака печени.
3. Энзимодиагностика патологии почек.

4. Врожденные и приобретенные энзимопатии.

VII. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Дюга Г., Пенни К. химические подходы к механизму действия ферментов, М.:Мир, 1983
11. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
12. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
13. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
14. Николаев А. Я. Биологическая химия.

Тема: Роль ферментов в диагностике заболеваний. Энзимодиагностика и энзимотерапия. Влияние активатора и неспецифического ингибитора на активность амилазы слюны. Определение концентрации АсАт и АлАт, коэффициент де Ритиса.

Одним из основных объектов определения ферментативной активности при заболевании служит кровь: сыворотка или плазма. Чаще с диагностическими целями анализируют сыворотку.

В сыворотке крови присутствуют ферменты, имеющие различное происхождение:

- клеточные ферменты – попадают в кровь из тканей в результате физиологического старения и гибели клеток, повышения проницаемости мембран. Уровень этих ферментов в крови зависит от их концентрации в тканях, молекулярной массы и локализации в клетке. Неспецифические клеточные ферменты обнаруживаются в большинстве органов. Органоспецифические ферменты (или маркерные) обнаруживаются в определенных тканях (аргиназа – в паренхиме печени, креатинкиназа – в мышечной ткани).
- Секреторные ферменты выполняют в крови свою специфическую функцию (ферменты свертывающей системы крови и системы фибринолиза постоянно вырабатываются в печени и секретируются в кровь, где и участвуют в процессах гемостаза; аналогично – церулоплазмин из печени поступает в кровь, где осуществляет транспорт меди). Секреторные ферменты специфичны для плазмы.
- Экскреторные ферменты синтезируются пищеварительными железами (поджелудочная железа, слизистая кишечника, эндотелий желчевыводящих путей). Появление этих ферментов в сыворотке в норме обусловлено естественным разрушением клеточных структур. К экскреторным ферментам относится щелочная фосфатаза, амилаза, липаза. Это ферменты неспецифичные для плазмы. В норме их в плазме мало и, следовательно, активность низка, но она резко увеличивается при патологии органа.

Присутствие ферментов в плазме может быть оценено как: гиперферментопатия, гипоферментопатия и дисферментопатия.

Гипоферментопатия касается большей степени секреторных ферментов и регистрируется редко. Она может быть обусловлена:

1. генетическими нарушениями, приводящими к нарушению синтеза фермента;
2. ингибированием синтеза фермента;
3. усилением деградации фермента.

Гиперферментопатия может быть обусловлена:

1. выходом ферментов из поврежденных органов и тканей;
2. результатом действия сильных раздражителей, сопровождающихся метаболическими перестройками (вместе с появлением лейкоцитоза, увеличением СОЭ);
3. усилением синтеза белка.

Дисферментопатии в основном связаны с появлением в крови органоспецифических ферментов. Диагностически значимые ферменты дают достаточно информации для установления факта развивающейся патологии, оценки тяжести заболевания, контроля проводимой терапии.

Лактатдегидрогеназа (КФ. 1.1.1.27) – ЛДГ.

Лактатдегидрогеназа – ЛДГ (КФ. 1.1.1.27) катализирует окисление лактата в пировиноградную кислоту. Для реакции необходимо присутствие НАД. Фермент присутствует во всех органах и тканях в разных количествах, включая эритроциты.

Определяется спектрофотометрически и колориметрически. Имеет диагностическое значение при:

- острый инфаркт миокарда – возрастает активность фермента, достигая максимального значения к 48 часам. При стенокардии увеличение активности фермента в сыворотке не регистрируется;
- паренхиматозный гепатит – регистрируется повышение активности в сыворотке в первую неделю желтушного периода;
- механическая желтуха – активность повышена на поздних стадиях заболевания, вследствие вторичных повреждений печени;
- злокачественные заболевания печени – повышение активности в плазме регистрируется не всегда;

хронический гепатит и цирроз – активность фермента повышена при обострении процесса, а в стадии ремиссии близка к норме. В сыворотке крови постоянно присутствуют 5 изоферментов, которые можно проанализировать (количественно и качественно) после электрофоретического разделения ЛДГ. Изоферментный спектр и преимущественные изменения соотношения изоформ в сыворотке характерны для разных патологий и органов

Ферменты, наиболее часто используемые в диагностике.

фермент	Органы	Патология
Альдолаза	Скелетные мышцы печень	Заболевания мышц
Аланинаминотрансфераза (АлАТ)	Печень, скелетные мышцы, сердце	Паренхиматозные заболевания печени

Амилаза	Слюнные железы, поджелудочная железа	Патология поджелудочной железы
Аспаратаминотрансфераза (АсАТ)	Печень, скелетные мышцы, сердце, почки.	Инфаркт миокарда, паренхиматозные заболевания печени, патология мышц
Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ)	Печень, почки	Алкогольная интоксикация Патология гепатобилиарного тракта
Кислая фосфатаз (КФ)	Простата.	Опухоль простаты
Креатинкиназа (КК) Креанинфосфокиназа (КФК)	Скелетные мышцы, мозг, сердце, гладкие мышцы	Инфаркт миокарда, заболевания мышц
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)	Сердце, печень, скелетные мышцы, эритроциты, тромбоциты, лимфатические узлы	Инфаркт миокарда, гемолиз, паренхиматозные заболевания печени, острые пневмония, злокачественные новообразования
Липаза	Поджелудочная железа	Патология поджелудочной железы
Щелочная фосфатаза (ЩФ)	Печень, кость, слизистая кишечника.	Патология костной ткани, патология гепатобилиарного тракта

Диагностическая значимость изоферментов ЛДГ.

Патология	Изоферменты в крови	Примечания
инфаркт миокарда	ЛДГ ₁ ↑ и частично ЛДГ ₂ ↑	Изменения активности изоферментов в крови сохраняются дольше, чем изменения суммарной активности ЛДГ
гепатит	ЛДГ ₅ ↑ ЛДГ ₄ ↑ ЛДГ ₁ ↓ ЛДГ ₂ ↓	
цирроз печени	ЛДГ ₅ ↑ ЛДГ ₄ ↑	
калькулезный холецистит, обтурационная желтуха опухолевого происхождения	ЛДГ ₅ ↑	
миопатия	ЛДГ ₁ ↑, ЛДГ ₂ ↑, ЛДГ ₃ ↑, ЛДГ ₄ ↓, ЛДГ ₅ ↓	Снижение активности ... соответствует тяжести заболевания
лейкозы	ЛДГ ₂ ↑, ЛДГ ₃ ↑,	В сыворотке крови и в лейкоцитах увеличение активности изоферментов параллельно увеличению количества незрелых клеток
опухолевой процесс	ЛДГ ₃ ↑, ЛДГ ₄ ↑, ЛДГ ₅ ↑	Изменения в спектре изоферментов зависят от активности метастазирования
заболевания легких	ЛДГ ₃ ↑	При выраженной гипоксии иногда увеличивается

Аминотрансферазы

Аминотрансферазы принимают участие в переаминировании аминокислот. Диагностически значимы:

- аспаратаминотрансфераза (КФ 2.6.1.1) – АСТ
- аланинаминотрансфераза (КФ 2.6.1.2) – АЛТ

Клеточные ферменты - аминотрансферазы встречаются во всех органах и тканях. Большое количество АСТ содержится в эритроцитах, поэтому для определения активности трансфераз в сыворотке гемолизируемая кровь не используется. Активность ферментов определяется хроматографическими, спектрофотометрическими и колориметрическими методами. Диагностически значимым при определении активности трансфераз является коэффициент де Ритиса АСТ/АЛТ, изменение которого характерно для патологических процессов.

Глутаматдегидрогеназа (КФ 1.4.1.2) – ГлДГ.

Катализирует превращение глутамата в альфа-кетоглутарат. Фермент локализован в митохондриях и определяется при диагностике заболеваний печени. Отношение активности двух ферментов: сорбитолдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы СДГ/ГлДГ может быть использовано для дифференциальной диагностики желтух. В норме в сыворотке крови фермент практически отсутствует, его активность в сыворотке повышается при повреждении гепатоцитов. При патологиях, некрозом печеночной ткани, активность ферментов резко увеличивается. Аналогичный эффект вызывает отравление гепатогенными ядами.

Патология	Фермент	Примечания
инфаркт миокарда	АСТ повышен	через 6-12 часов после возникновения инфаркта. Максимум повышения концентрации наблюдается через 24-48 часов. Возвращается к норме через 4-5 дней. Возрастает с увеличением размера очага и некроза
		повышение активности менее резко выражено

	АЛТ повышен ие	
стенокардия	АСТ повышен ие	в пределах нормы за исключением тяжелых приступов
заболевания печени	АЛТ повышен ие АСТ повышен ие	первым появляется в крови, активность возрастает при инфекционном гепатите, активность возрастает в инкубационном периоде, максимум увеличения приходится на 6-10 день заболевания. появляется при углублении деструктивных процессов в клетках

Сорбитолдегидрогеназа (КФ 1.1.1.14) – СДГ.

Катализирует превращение сорбитола во фруктозу, обладает органоспецифичностью – содержится в основном в печени, простате, почках. Имеет диагностическое значение при оценке поражения печени. При всех формах острого гепатита в первые 10 дней растет активность этого фермента, поэтому он удобен для ранней диагностики. При хроническом гепатите и циррозе печени увеличение активности фермента характерно для периода обострения заболевания. При механических желтухах – повышение активности фермента регистрируется в первые недели желтушного периода.

γ-Глутамилтранспептидаза (КФ 2.3.2.2) – ГГТП.

γ-Глутамилтранспептидаза катализирует образование новых γ-глутамилпептидов за счет переноса γ-глутамилтранспептидного остатка. Увеличение активности фермента в крови регистрируется при патологии печени разного генеза, наиболее выражено отклонение активности фермента от нормы при циррозе печени алкогольного происхождения.

Активность может также быть увеличена при остром инфаркте миокарда, опухолях головки поджелудочной железы. Активность ферментов в крови таким образом часто определяется сопутствующими заболеваниями.

Превышение нормальных величин активности ГГТП в крови:

Более, чем в 10 раз	В 5-10 раз	Менее, чем в 5 раз
Алкогольное поражение печени Холестаз Рак головки поджелудочной железы	Гепатит Цирроз Заболевания печени Панкреатит	Алкоголизм Отравления Хроническая сердечная недостаточность

Холинэстераза – ХЭ.

Различают два типа ферментов (ХЭ): одна группа – это истинная ХЭ (ацетилхолинэстераза КФ 3.1.1.7), вторая - псевдохолинэстеразы (КФ 3.1.1.8), отличающиеся более широкой субстратной специфичностью.

Повышение активности ХЭ в сыворотке крови наблюдается при тяжелой форме болезни Боткина (на протяжении всего желтушного периода). Увеличение активности наблюдается также при циррозе печени, при онкологических заболеваниях, в случае метастазирования в печень, нефротическом синдроме, бронхиальной астме, ревматическом эндокардите.

Миорелаксанты могут приводить к длительному выраженному снижению ХЭ.

Ингибирование ХЭ имеет место при отравлении пестицидами, инсектицидами, фосфорорганическими соединениями. При интоксикации угнетение активности ХЭ в сыворотке крови наступает уже при низких дозах яда, и оценивается как один из первых симптомов интоксикации, что и является результатом изменения активности синтеза белков в печени. Гипоферментемия регистрируется при тяжелых инфекционных заболеваниях, мышечной дистрофии, недостаточности питания.

Креатинкиназа (КФ 2.7.3.2) – КК.

Креатинкиназа – фермент, который присутствует в тканях, нуждающихся в больших количествах энергии в малые промежутки времени. Фермент определяется колориметрически и спектрофотометрически в сыворотке крови. Для определения изоформ может быть использован метод электрофореза или колоночной хроматографии.

Изоферменты КК:

1. ВВ – изофермент мозгового типа, обладает наибольшей подвижностью в электрическом поле;
2. ВМ – изофермент, содержащийся преимущественно в сердечной мышце, обладает наименьшей подвижностью при электрофорезе;
3. ММ – изофермент, характерный для скелетной мускулатуры.

Активность фермента возрастает:

- при повреждении скелетной мускулатуры;
- при прогрессирующей мышечной дистрофии (изоформа ММ)

- при остром инфаркте миокарда (изоформа MB), при этом возрастание активности фермента обнаруживается через 3-4 часа после начала заболевания, опережая изменения других ферментов, но не повышается при инфаркте легкого или поражении паренхимы печени, и достигает максимума активности через 18-24 часа;
- при заболеваниях центральной нервной системы, таких как шизофрения, маниакально-депрессивный психоз и других (изоформа BB).

На активность фермента могут влиять анестезирующие средства, и изменение активности КК может быть зарегистрировано в послеоперационном периоде.

Щелочная фосфатаза (КФ 3.1.3.1) – ЩФ.

Щелочная фосфатаза активна при pH = 8,6-10,1 и сосредоточена в основном в костной ткани, слизистой кишечника, почках, печени.

Активность фермента определяется по используемому субстрату и отщепившемуся в результате реакции неорганическому фосфату или органическому соединению.

Около 10.фосфаты, бораты, оксалаты подавляют активность ферментов

Активность фермента в сыворотке крови у детей выше, чем у взрослых за счет высокой функциональной активности остеобластов. Активность фермента повышается при рахите, остеосаркомах, болезни Педжета, при метастазах опухолей в костную ткань.

Значительное возрастание активности фермента отмечается при патологии гепатобилиарной системы при желтухах различного генеза.

Фермент представлен в сыворотке несколькими изоформами (ИЗФ), что может быть использовано для диагностики заболеваний печени и костной системы:

Наибольшее диагностическое значение имеют

Костная Изф- характеризует патологию костных систем, активность фермента заметно повышена при усиленном росте костей, рахите, гиперпаратиреозе, опухолях костей, переломе. Определение костной ИЗФ наиболее рационально радиоиммунными и изоферментными методами.

Печеночная Изф- представлена двумя изоферментами, активность которых повышается при гепатоцеллюлярном раке печени, при васкулитах, а также в период беременности.

Кишечная Изф_ может быть увеличена у лиц 1 и 3 групп крови при патологиях кишечника, сопровождающихся нарушениями всасывания.

Почечная Изф_экскретируется с мочой и также может быть использована в диагностике заболеваний почек

Кислая фосфатаза (КФ 3.11.3.3) – КФ.

Оптимум pH для этого фермента 5,0-5,5. Большое количество КФ содержится в предстательной железе человека. Активность фермента определяет состояние предстательной железы, ее сохранность и повышается при опухолевых процессах.

Диагностическая значимость ферментов

фермент	Повышение активности в сыворотке	Понижение активности в сыворотке	Примечание
Аспаратаминотрансфераза АСТ	Инфаркт миокарда Цирроз печени Мышечная дистрофия Дерматомиозит Опухоли печени	Авитаминоз В6 Почечная недостаточность Беременность Повторный гемодиализ	
Аланиламинотрансфераза АЛТ	Цирроз печени Опухоли печени Метастазы в печени Острый инфекционный гепатит	Авитаминоз В6 Почечная недостаточность Беременность Повторный гемодиализ	
Альфа-амилаза сыворотки	Острый панкреатит Киста поджелудочной железы Закупорка протока поджелудочной железы В случае почечной недостаточности, диабетического ацидоза, воспаления поджелудочной железы на фоне перфорации пептической язвы	Острый и хронический гепатит Недостаточность поджелудочной железы Токсикоз при беременности	
Креатинкиназа (КК)	Инфаркт миокарда Травма мышц Мышечная дистрофия		Фермент нестабилен, сыворотку необходимо быстро отделить от сгустка, возможно замораживание

	Полимйозит, отравления Гипотиреоз Инсульт		
Изофермент КК ММ	Заболевания мышц Дистрофия Гипотиреоз Дерматомиозит. Состояния Рабдомиолиз, Рак, болезни печени. Физическая нагрузка		
Изофермент КК МВ	Инфаркт миокарда Рабдомиолиз Тяжелые поражения мышц Пятнистая лихорадка скалистых гор		
Изофермент ВВ	Тяжелый шок, роды Некоторые формы рака (легкие, молочная железа, яичники, простата) Заболевания соединительных тканей		
Гамма- глутамилтранс пептидаза ГГТП	Алкогольная интоксикация Острый инфекционный, токсический гепатит Хронический или подострый гепатит Патология гепатобилиарной системы Опухоли печени		Высококочувствительный критерий состояния печени
Липаза (сыворотки)	Острый и хронический в стадии обострения панкреатит Закупорка протока поджелудочной железы		Образец может храниться замороженным до суток Повышенная активность сохраняется дольше, чем у амилазы, в моче не обнаруживается
Лактатдегидро геназа (ЛДГ)	Некроз тканей Гемолитические анемии В12-дефицитная анемия Эритремия Острый инфекционный гепатит (острая фаза) Острые повреждения эритроцитов, почек, мышц, печени, легких, кожи		Нельзя использовать гемолизованную кровь Определению активности фермента мешает гепарин и оксалат

Кислая фосфатаза (КФ)	Карцинома простаты Болезнь Гоше Злокачественные поражения костей		Нельзя брать кровь в течение 24 часов после массажа простаты или ее инструментального исследования Активность фермента быстро падает Необходимо исключить гемолиз
-----------------------------	---	--	--

Щелочная фосфатаза (ЩФ)	У детей (нормальный рост костей) Костные заболевания, связанные с увеличением количества остеобластов Гиперпаратиреоз Рахит Остеомаляция Опухоли костей Закупорка желчных протоков Заболевания печени, вызванные лекарствами беременность	Гипотиреоз Замедленный рост у детей	Хранить в холодильнике сыворотку не более 48 часов Нельзя использовать фтористые соединения и оксалат
-------------------------	---	--	--

I. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

- 1.Классификация ферментов.
- 2.Значение энзимодиагностики в медицине.
- 3.Гипер, -гипо, -дисферментопатии.
- 4.Энзимодиагностика заболеваний сердца, маркеры.
5. Энзимодиагностика заболеваний печени, маркеры.
6. Энзимодиагностика заболеваний поджелудочной железы, маркеры.

II. Самостоятельная работа обучающихся: составить ментальную карту по теме: «Энзимодиагностика заболеваний сердца, печени и поджелудочной железы».

III. Список используемой литературы:

Обязательная:

- 1.Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;
- 2.Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

- 1.ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
- 2.МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Водорастворимые витамины. Их коферментная функция.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Витамины - это органические низкомолекулярные биологически активные вещества, не синтезирующиеся в клетках организма человека (за исключением нескольких), поступающие из внешней среды и принимающие участие в биологическом катализе, процессах роста и воспроизведения.

Источниками витаминов являются пищевые продукты, а также синтез их микрофлорой кишечника.

В организме человека могут синтезироваться: витамин РР в печени из триптофана и витамин Д₃ (в печени и коже) из холестерина, в печени из каротиноидов возникает ретинол, а также в небольшом количестве (приблизительно 20%) образуется холин (в составе лецитинов), микрофлорой кишечника - В_р В₂, В₆, В₁₂, РР, фолиевая кислота, пантотеновая кислота, К, биотин. В организм человека витамины могут поступать в виде предшественников - провитаминов, примерами служат для ретинола - каротиноиды, для витамина Д₃ - 7-дегидрохолестерин, для витамина Д₂ - эргостерин.

Суточная потребность витаминов ничтожно мала, измеряется миллиграммами и даже микрограммами. Так, взрослым в сутки необходимо 50-100 мг витамина С, 1- 2,5 мг фолиевой кислоты, 150-250 мкг биотина, 2-5 мкг кобаламина. Потребность человека в витаминах зависит от возраста, качества питания, состояния организма, условий жизни и деятельности.

В номенклатуре витаминов используется обозначение их буквами латинского алфавита, применяются также наименования, отражающие их клиническое действие, иногда в названии отражают химическое строение и распространенность витамина. Например, В₁₂- кобаламин - антианемический витамин, Е⁺- тиамин антиневритный, РР (В₃) - никотиновая кислота (ниацин) - антипеллагрический витамин.

Витамины делятся на водорастворимые и жирорастворимые. К *водорастворимым* относятся В₁, В₂, В₆, В_р, В₁₅, РР, С, биотин, пантотеновая кислота, фолиевая кислота, липоевая кислота, иногда также холин, инозит и др., к *жирорастворимым* - А, Д, Е, К, F. В организме человека имеются витаминоподобные вещества: холин, инозит, липоевая кислота, витамин В₁₅, витамин U, карнитин, убихинон, оротовая кислота.

Витамины выполняют важные функции в организме человека. Так, роль водорастворимых витаминов заключается в том, что они принимают участие в окислительно-восстановительных реакциях, выполняют роль коферментов, соединяющихся со специальными белками с образованием биологических катализаторов - ферментов, в трансферазных реакциях, входят в состав мультиферментных комплексов, являются переносчиками цепи транспорта электронов.

Так, витамин В₁ (тиамин, антиневритный, аневрин, анейрин) в составе тиаминдифосфата (ТДФ, ТПФ) участвует в окислительном декарбоксилировании α-кетокислот (пировиноградной кислоты (ПВК), α-кетоглутаровой кислоты), а так же в транскетозной реакции, в неокислительном декарбоксилировании пиру- вата.

Витамин В₂ (рибофлавин) является предшественником коферментов ФМН (флавимононуклеотид), ФАД (флавинаденин- динуклеотид). В составе коферментов ФМН и ФАД участвует в окислительно-восстановительных реакциях (перенос Н⁺). Соответствующие ферменты - дегидрогеназы, оксидазы имеют общее название флавиновые ферменты.

Разновидностями витамина В₆ являются пиридоксин (пири- доксол), пиридоксаль, пиридоксамин. Витамин В₆ (пиридоксин, антидерматитный) предшественник кофермента пиридоксаль- фосфат (ПФ). Принимает участие в реакциях трансаминирования аминокислот, декарбоксилирования аминокислот, взаимопревращении D и L - форм аминокислот.

Разновидностями витамина РР являются никотиновая кислота и никотинамид (антипеллагрический витамин). Из витамина РР возникают никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотина- мидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). В составе НАД и НАДФ витамин РР участвует в окислительно-восстановительных реакциях. Соответствующие ферменты - дегидрогеназы, редуктазы. Ниацин переносит водород с субстрата на акцептор при участии НАД и НАДФ.

Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный витамин) может находиться в организме человека в восстановленной и окисленной (дегидроаскорбиновая кислота) формах. Принимает активное участие в окислительно-восстановительных реакциях. Как кофактор, совместно с железом, участвует в гидроксилации - нии лизина и пролина, необходимых для созревания коллагена.

Недостаточность или избыток витаминов приводит к тяжелым нарушениям обмена веществ. Существует понятие: *типовитами- нозы* - недостаточная обеспеченность организма витаминами, *авитаминоз* - состояние, возникающее при полном прекращении поступления витаминов в организм, *гипервитаминоз* - состояние, возникающее при чрезмерно большом поступлении витаминов, *полиавитаминозом* называется состояние, развивающееся вследствие прекращения поступления в организм нескольких витаминов одновременно. Недостаточность витаминной функции в организме может возникать вследствие недостаточности поступления витамина с пищевыми продуктами, изменения нормальной микрофлоры кишечника (заболевания желудочно-кишечного тракта, подавление нормальной микрофлоры лекарственными препаратами, нарушения всасывания, например, жирорастворимые витамины при патологии печени, нарушение транспортировки витаминов кровью, нарушение превращения витаминов в активную форму (коферменты), нарушение взаимодействия ко- фермента с белком, нарушение синтеза белковой части фермента, а также вследствие воздействия антивитаминов.

Из организма с мочой постоянно выделяются продукты метаболизма (деградации) ферментов и витаминов, в некотором

количестве и свободном состоянии.

Гипо-, гипер-, авитаминозы могут привести к необратимым последствиям обмена веществ, поэтому знание биологической роли витаминов необходимо для врачей всех специальностей.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Классификацию витаминов;
2. Структуру витаминов (В_р, В₂, В₆, РР, С), природные источники, суточную потребность, их коферментную функцию и участие в метаболических процессах.
3. Нарушения обмена веществ и патологические состояния, возникающие при недостаточности данных витаминов.

Обучающийся должен уметь:

1. Провести качественные реакции на витамины В В,
2. Обнаружить альдегидоксидазу в молоке.
3. Определить количество витамина С в капусте и картофеле.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы:

Классификация витаминов.

Химическая структура, природные источники, суточная потребность и биологическая роль витаминов:

- В₁ (тиамин),
- В₂ (рибофлавин),
- В₆ (пиридоксин),
- РР (амид никотиновой кислоты),
- С (аскорбиновая кислота).

1. Патологические состояния, возникающие при недостаточности или избытке витаминов в организме человека (гипо-, ги- пер- и авитаминозы)
2. Методы определения витаминов

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО

Наглядные пособия:

Таблицы

1. Витамины В_р.
2. Авитаминоз РР.
1. Химический состав и калорийность молока.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Что такое витамины?
2. Назовите источники витаминов для человека.
3. Какие витамины могут синтезироваться в организме человека?
4. Какие витамины синтезируются микрофлорой кишечника?
5. Что такое провитамины? Назовите их.
6. Какие вещества являются незаменимыми факторами питания?
7. Какими единицами измеряется суточная потребность человека в витаминах и от каких факторов зависит потребность человека в различных витаминах?
8. Какие принципы используются для номенклатуры витаминов?
9. Как классифицируются витамины?
10. Назовите витаминоподобные вещества.
11. Назовите и охарактеризуйте типы нарушений (заболеваний), связанных с количественным нарушением обеспечения организма витаминами.
12. Что такое гипо-, гипер-, авитаминозы?
13. Назовите и кратко охарактеризуйте причины недостаточности витаминной функции в организме.
14. В каких единицах выражается содержание витамина в пищевых продуктах?
15. Какую функцию выполняют витамины в организме? Опишите кратко их взаимосвязь с ферментом (коферментом).
16. Судьба витаминов в организме.
17. Что такое антивитамины?

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Напишите формулу витамина В₁ и дайте еще 3 названия данного витамина.
2. Назовите природные источники тиамина, укажите его суточную потребность.
3. Какова роль тиамина в обмене веществ? Назовите коферменты, которые из него возникают и напишите их.
4. Напишите декарбоксилирование и окисление α-кетокислоты (пировиноградной кислоты) при участии ТПФ. Какие ферменты содержат в качестве кофермента ТПФ?

5. Каковы проявления авитаминоза В?
6. Напишите формулу витамина В₂, дайте ему другое название.
7. Какие продукты богаты витамином В₀? Назовите его суточную потребность.
8. Какова роль витамина В, в обмене веществ?
9. Назовите коферменты, которые из него возникают. Напишите формулы коферментов ФМН и ФАД.
10. Напишите реакцию переноса водорода с субстрата на акцептор при участии ФАД (ФМН).
11. Назовите важнейшие симптомы В, авитаминоза.
12. Витамин В₆, назовите его разновидности, напишите структуру.
13. В каких пищевых продуктах содержится много витамина В₆? Его суточная потребность.
14. Какова биологическая роль витамина В₆?
15. Назовите коферменты, которые возникают из витамина В₆, в каких реакциях принимают участие эти коферменты?
16. Назовите важнейшие симптомы В авитаминоза.
17. Как иначе называется витамин В_р? Дайте еще два наименования. Опишите основные структурные компоненты его молекулы.
18. Назовите коферменты, возникающие из витамина В_р.
19. В каких пищевых продуктах много витамина В_р (кобаламина)? Его суточная потребность?
20. Что такое внешний и внутренний факторы Кастла? Каковы химическая природа, место образования и роль внутреннего фактора?
21. Назовите важнейшие симптомы недостаточности витамина В₁₂.
22. Какие существуют разновидности РР? Напишите структурную формулу назовите его.
23. В каких пищевых продуктах особенно много никотиновой кислоты? Суточная потребность данного витамина.
24. Назовите коферменты, которые возникают из витамина РР.
25. Какова роль ниацина в обмене веществ?
26. Назовите важнейшие симптомы пеллагры.
27. Какими формами представлен витамин С? Напишите структурную формулу.
28. Назовите основные пищевые источники витамина С, его суточную потребность.
29. В каких реакциях участвует витамин С?
30. Как называется авитаминоз С? Основные признаки цинги, опишите нарушение обмена веществ.
31. Поясните смысл названия витамина - фолиевой кислоты и назовите структурные компоненты молекулы этого витамина.
32. Назовите основные источники фолиевой кислоты, ее суточную потребность.
33. Опишите, как данный витамин превращается в кофермент.
34. Какова роль фолацина в обмене веществ?
35. Каковы симптомы недостаточности фолиевой кислоты?

Задача № 1.

К врачу обратился больной 28 лет с жалобами на частые расстройства функции кишечника, ослабление памяти, появление темной пигментации на тыльной стороне кистей. Недостаточность какого витамина можно предположить у больного? Обоснуйте ответ.

Задача № 2.

В клетках печени идет интенсивный синтез белка, для которого необходимы аминокислоты, образующиеся в результате трансаминирования. Назовите какой витамин в виде какого кофермента участвует в этой реакции.

Задача № 3.

В процессах работы живой клетки потребовалось усиление окислительно-восстановительных реакций. Необходимость в каких витаминах при этом возникает?

Задача № 4.

Человек, находящийся преимущественно на углеводной диете бедной белками, стал замечать у себя усиленное сердцебиение, слабость, утомляемость, чувство страха, снижение чувствительности конечностей, боли по ходу нервов. В чем причина этих проявлений? Обоснуйте ответ.

Задача № 5

Почему недостаток фолиевой кислоты и витамина В_р приводит к развитию анемии?

Задача № 6.

Почему при гиповитаминозе С наблюдается кровоточивость мелких сосудов?

IX. Самостоятельная работа обучающихся:

Суточная потребность, распространение в природе, биологическая роль витаминов:

В_р(кобаламин),

В₃ (пантотеновая кислота),

B₁₅ (пангамовая кислота),
H (биотин),
B_c (фолиевая кислота),
U (противоязвенный).

Зарисовать и заполнить таблицу по водорастворимым витаминам:

Наименование витамина	Химическая природа	Структура витамина	Суточная потребность	Распространение в природе	Название и структура фермента	Биологическая роль

X. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год.

Тема: **Жирорастворимые витамины. Их биологическая роль.**

Научно-методическое обоснование темы:

Жирорастворимые витамины - это витамины, растворимые в жирах или органических растворителях. Они играют важную роль в организме человека. Поступают извне с пищей, но могут и синтезироваться в организме из предшественников. Основными представителями являются: витамин А (ретинол), витамин Д (холекальциферол), витамин Е (токоферол), витамин К (нафтахинон), витамин F.

Витамин А (ретинол, ретиналь, ретиноевая кислота, антиксерофтальмический). Большое количество витамина А содержат сливочное масло, молоко, яичный желток, печень трески. Поступает он в организм в виде провитаминов а, р, у - каротинов. Витамин А участвует в темновом зрении, регулирует дифференцировку эпителия, выполняет коферментную функцию, необходим для стабилизации клеточных мембран; является антиоксидантом, регулируя синтез хондроитинсульфата, влияет на рост костей, зубов, сперматогенез, влияет на образование Т- и В-лимфоцитов.

Представителями витаминов *группы D* являются Витамин

-эрго кальциферол: витамин **D**, - хо л е к а л ь ц и ф е р о л. которые синтезируются из провитаминов: эргостерол - провитамин D₂. содержится в грибах, растениях и 7-дегидрохолестерол - провитамин D₃, содержится в животных продуктах. Активные формы витамина D - это кальцитриолы: 1,25 (ОН), D₃- 1,25 дигидрок- сихолекальциферол, 24,25 (ОН), D₃- 24,25 дигидроксихолекаль- циферол.

(ОН) B₃ образуется в печени, 1,25 (ОН), D₃ и 24,25 (ОН), D₃ - вначале в печени, затем в почках. В почках участвует в образовании 1,25 (ОН), D₃ 1-а-гидроксилаза. Кальцитриолы поддерживают постоянство концентрации кальция и фосфата в крови несколькими путями: в стенке тонкого кишечника 1,25 (ОН), D₃ индуцирует синтез кальцийсвязывающих белков, необходимых для всасывания кальция в кишечнике; усиливает действие пара- тирина на реабсорбцию кальция в почках; влияет на образование гидроксиапатитов на коллагеновых волокнах минерализованных тканей.

К витаминам *группы K* относят витамин K₁ - филлохинон, содержится в растениях; витамин K₂ - метакхинон, содержится в тканях животных. Витамин K является кофактором у-глутамат карбоксилазы, катализирует реакцию карбоксилирования глутаминовой кислоты в процессе синтеза факторов свертывающей системы крови Ф-П,Ф-УП, Ф-IX, Ф-X; и процессах минерализации костей и дентина зубов - синтез остеокальцина и матриксно- го у-карбоксилглутаматсодержащего белка, участвующих в процессах минерализации этих тканей. Водорастворимым аналогом витамина K является фармакологический препарат викасол.

Основными представителями *витамина E* являются а, р, у-токоферолы. Наиболее распространен и активен а- токоферол, а-токоферол является антиоксидантом, то есть прерывает перекисное окисление липидов. Антиоксидантную функцию витамин E выполняет совместно с селеном и цистеином. При гиповитаминозе E наблюдается стерильность у взрослых, анемия у недоношенных младенцев.

К *витаминам F* относят полиненасыщенные эссенциальные жирные кислоты: линолевая, линоленовая, арахидоновая, которые содержатся в растительных маслах. Для физиологических процессов необходимы полиненасыщенные эссенциальные жирные кислоты, которые являются компонентами глицерофосфоли- пидов мембран; участвуют в образовании этерифицированного холестерина в ЛПВП (антиатерогенное действие); из полиеновых жирных кислот (в основном арахидоновой и пентаеновой кислот) образуются: простаноиды - простагландины, простаглицлины и тромбоксаны и лейкотриены.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии.

Обучающийся должен знать:

1. Структуру витаминов А, Д, Е, К, F, природные источники, суточную потребность, их биологическую роль в организме человека и участие в метаболических процессах.
2. Пути активации витамина Д, его регуляторные механизмы.
3. Нарушения обмена веществ и патологические состояния, возникающие при недостаточности данных витаминов.

Обучающийся должен уметь:

1. Обнаружить в биологической среде витамины А, Д, Е (качественные реакции), искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина К (викасол).
2. Показать, что он дает такие же качественные реакции.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Структура витамина А и его провитаминов, природные источники, суточная потребность, биологическая роль, участие в метаболических процессах.
2. Структура витамина Д и его провитаминов, природные источники, суточная потребность, биологическая роль, участие в метаболических процессах, роль в обмене фосфора и кальция.
3. Нарушение обмена веществ при рахите.

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО.

Наглядные пособия:

Таблицы

1. Авитаминоз D/
2. Цикл родопсина в сетчатке глаза.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Что такое жирорастворимые витамины?
2. Какие жирорастворимые витамины Вы знаете?
3. Назовите источники жирорастворимых витаминов.
4. Какие жирорастворимые витамины могут синтезироваться в организме человека?
5. Какие провитамины этой группы Вы знаете? Из чего могут синтезироваться жирорастворимые витамины?
6. Судьба жирорастворимых витаминов в организме.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какие формы витамина А существуют в организме человека?
2. Назовите пищевые источники витамина А, его провитамины и их суточную потребность.
3. Опишите процесс превращения провитамина - Р-каротина в витамин А, сколько молекул образуется?
4. Охарактеризуйте биологическую роль витамина А.
5. Назовите симптомы гиповитаминоза А.
6. Каких представителей витаминов группы D Вы знаете? Назовите провитамины.
7. Каковы основные источники витамина D в организме человека? Его суточная потребность.
8. Назовите активные формы витамина D
9. Какие соединения относятся к кальцитриолам? Где и как происходит их синтез?
10. Какова биологическая роль витамина D₃?
11. Охарактеризуйте основные проявления гиповитаминоза D₃ и механизм их появления.
12. Какие появляются изменения при гипервитаминозе D?
13. Какие витамины относятся к витаминам группы К? Назовите его водорастворимый аналог.
14. Назовите пищевые источники витамина К и их суточную потребность.
15. Какова биологическая роль витамина К?
16. Какие симптомы характерны для гиповитаминоза К?
17. Какие симптомы характерны для гипервитаминоза К?
18. Назовите антивитамины К.
19. Какие соединения относятся к витаминам Е?
20. Назовите пищевые источники витамина Е и их суточную потребность.
21. Какова биологическая роль витамина Е.?
22. Какие симптомы характерны для гиповитаминоза Е.?
23. Какие соединения относят к витаминам F?
24. Какова суточная потребность витамина F?
25. Для каких физиологических процессов необходимы полиненасыщенные эссенциальные жирные кислоты?

IX. Самостоятельная работа обучающихся

Структура и биологическая роль витамина Е (токоферола) Структура и биологическая роль витамина К (филлохинона).

Зарисовать и заполнить таблицу по жирорастворимым витаминам:

Наименование витамина	Химическая природа	Структура витамина	Суточная потребность	Распространение в природе	Биологическая роль

X. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Дюга Г., Пенни К. химические подходы к механизму действия ферментов, М.:Мир, 1983
11. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
12. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
13. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
14. Николаев А. Я. Биологическая химия

Тема: Матричные биосинтезы.

Основной фигурой матричных биосинтезов являются нуклеиновые кислоты. Они представляют собой полимерные молекулы, в состав которых входят азотистые основания пяти типов, пентозы двух типов и остатки фосфорной кислоты.

Азотистые основания в нуклеиновых кислотах могут быть пуриновыми (аденин, гуанин) и пиримидиновыми (цитозин, урацил, тимин). В зависимости от строения углевода выделяют рибонуклеиновые кислоты – содержат рибозу (РНК), и дезоксирибонуклеиновые кислоты – содержат дезоксирибозу (ДНК).

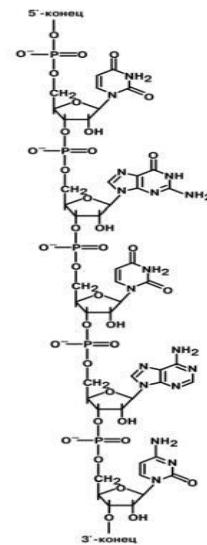
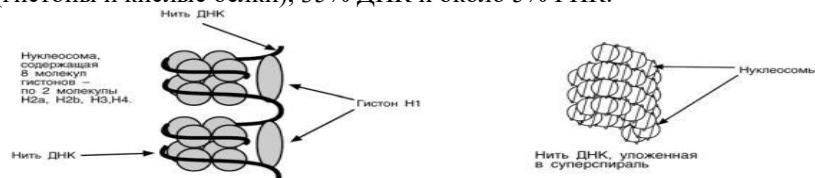
ОСНОВНОЙ ПОСТУЛАТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Вподавляющем большинстве случаев **передача** наследственной информации от материнской клетки к дочерней осуществляется при помощи ДНК. Для **использования** генетической информации самой клеткой необходимы РНК, образуемые на матрице ДНК. Далее РНК непосредственно участвуют на всех этапах синтеза белковых молекул, обеспечивающих структуру и деятельность клетки.

На вышесказанном основана **центральная догма молекулярной биологии**, согласно которой перенос генетической информации осуществляется только от нуклеиновой кислоты (ДНК и РНК). Получателем информации может быть другая нуклеиновая кислота (ДНК или РНК) и белок.

СТРОЕНИЕ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

ДНК – наиболее важная часть хромосом: две двухцепочечные молекулы ДНК образуют одну хромосому. Наиболее хорошо хромосомы видны перед митозом и во время его. В покоящихся клетках хромосомный материал выглядит нечетко и распределен по всему ядру. В таком состоянии он получил название "хроматин". В составе хроматина выделяют 60% белка (гистоны и кислые белки), 35% ДНК и около 5% РНК.



2Хроматин уложен в виде сферических частиц – нуклеосом, соединенных друг с другом нитью ДНК. Нуклеосома представляет собой комплекс участка молекулы ДНК и восьми молекул гистонов. В составе нуклеосомы находятся по 2 молекулы гистонов H2 α , H2 β , H3, H4. Нить ДНК последовательно контактируя с гистонами H2 α , H2 β , H4, H3, H3, H4, H2 β , H2 α , наматывается на гистоновое ядро, которое "маскирует" 146 пар оснований ДНК. Гистон H1 связывается с нуклеосомой на участке входа и выхода ДНК, "склеивая" 2 оборота и "маскируя" еще 20 пар оснований. Всего замаскировано 166 пар оснований. Кроме нуклеосом, в ядре присутствуют еще 2

структуры: фибриллы диаметром 10 нм, состоящие из цепочки нуклеосом, и волокна, диаметром 30 нм, образующиеся при закручивании фибрилл в спираль. На виток спирали приходится 6-7 нуклеосом. Участок ДНК между нуклеосомами

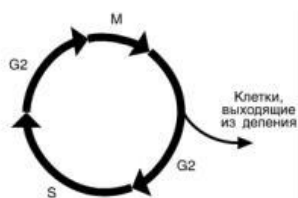
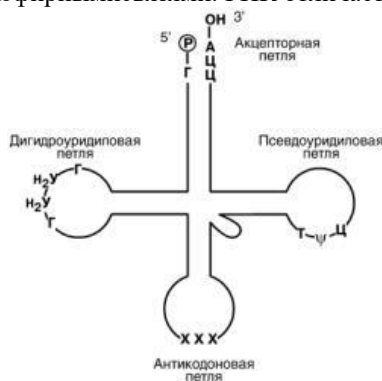
называется спейсерным (англ: space – пространство), его длина варьирует в зависимости от вида организма и типа клеток. У человека она составляет около 50 пар нуклеотидов.

Благодаря наличию нуклеосом достигается уменьшение размеров хромосомы в 7 раз, далее происходит укладка в суперспираль и „суперсуперспираль“. Таким образом, благодаря гистонам размеры ДНК уменьшаются в тысячи раз: если длина ДНК достигает 6-9см(10⁻¹),то размеры хромосом – всего несколько микрометров(10⁻⁶).

Хроматин может быть активным (эухроматин) и неактивным (гетерохроматин). Активный хроматин содержит активные гены, т.е. те гены, с которых считывается информация. В активном хроматине нуклеосомная структура изменена или вообще отсутствует, благодаря чему ДНК становится доступной для соответствующих ферментов.

СТРОЕНИЕ РИБОНУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Рибонуклеиновая кислота (РНК) представляет собой последовательность рибонуклеозидмонофосфатов, связанных друг с другом 5'-3'-фосфодиэфирными связями. РНК отличается от ДНК односторонней струк-



турой, наличием урацила вместо тимина и рибозы вместо дезоксирибозы. В клетке присутствует четыре типа РНК:

Рибосомальные РНК (рРНК) у прокариот и эукариот различны и отличаются величиной седиментации (S, величиной скорости оседания молекулы). У прокариот три разновидности рРНК: 5S, 16S и 23S. У эукариот четыре разновидности: 5S, 5,8S, 18S и 28S. Рибосомальные РНК участвуют в построении рибосом, внутриклеточных белоксинтезирующих органелл. Рибосомы состоят из двух неравных субчастиц, малой и большой.

У прокариот

- малую (30S) субчастицу образуют белки, 23S-рРНК и 5S-рРНК;
- большую (50S) – белки и 16S-рРНК.

У эукариот

- малую (40S) субчастицу образуют белки и 18S-рРНК,
- большую (60S) – белки и 5S-, 5,8S-, 28S-рРНК.

Матричные РНК (мРНК) представляют собой линейную последовательность нуклеотидов. К 5'-концу молекулы присоединен метилгуанозиндифосфат, на 3'-конце имеется полиадениловая последовательность. Их функция – информационная, т.е. перенос информации о структуре белков от ДНК к месту их синтеза.

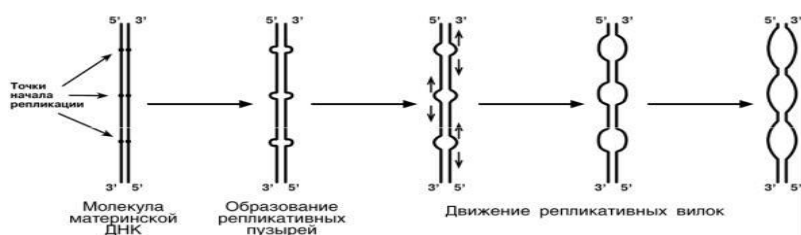
Транспортные РНК (тРНК) бактерий и эукариот включают 73-93 нуклеотида. Они переносят аминокислоты из цитозоля к рибосомам. Вторичная структура тРНК напоминает клеверный лист, а третичная – латинскую букву **L**. В «клеверном листе» выделяют четыре участка (или ветви, петли), каждый из которых имеет собственную функцию: антикодонный, псевдоуридилый, дигидроуридилый, акцепторный. На 5'-конце тРНК находится гуаниловый нуклеотид, на 3'-конце триплет Ц-Ц-А.

• • Малые РНК – используются для созревания мРНК и некоторых других клеточных процессов.

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК

Синтез ДНК в клетке происходит не беспорядочно, а в строго определенный период жизни клетки. Всего выделяют 4 фазы: митоз (М), синтетическую (S), пресинтетическую (G1, от англ. gap - интервал), постсинтетическую (G2).

Важное участие в регуляции смены фаз клеточного цикла занимают **циклины** – белки массой 35-90 кДа, уровень которых меняется в ходе клеточного цикла. По функции циклины – это активаторные субъединицы ферментов **циклин-зависимых киназ (ЦЗК)**. Активные комплексы циклин-ЦЗК фосфорилируют внутриклеточные белки, изменяя их активность. Этим обеспечивается продвижение по клеточному циклу.



Синтез (репликация, удвоение) ДНК происходит в S-фазу клеточного цикла.

Механизм репликации, как установили эксперименты Мэтью Мезельсон и Франклин Сталь в 1957 г, **полуконсервативный**, т.е. на каждой нити материнской ДНК синтезируется дочерняя копия. Весь процесс репликации идет в S-фазу

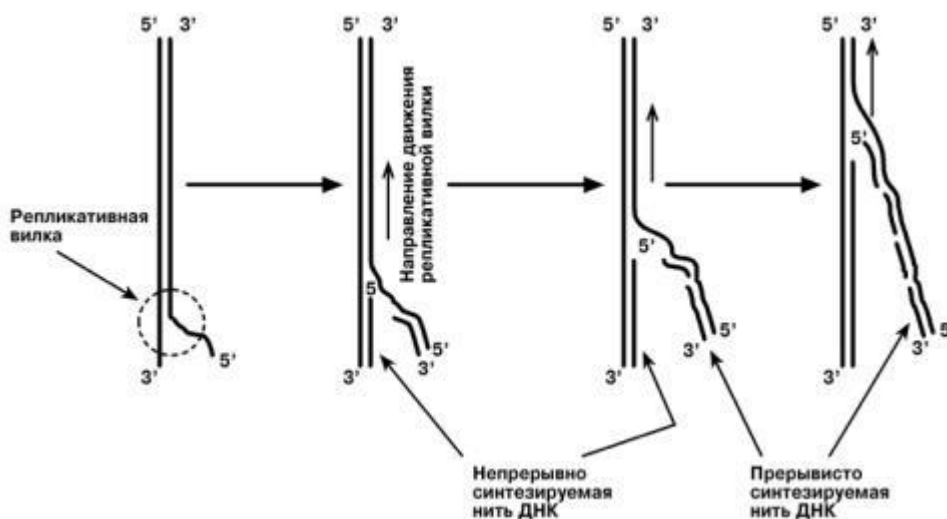
клеточного цикла, в то время, когда клетка готовится к делению.

Как матричный биосинтез, репликация требует наличия нескольких условий:

- Матрица – в ее роли выступает материнская ДНК;
- Растущая цепь – дочерняя ДНК;
- Субстраты для синтеза – dATФ, dГТФ, dЦТФ, ТТФ;
- Источник энергии – dATФ, dГТФ, dЦТФ, ТТФ;
- Ферменты.

Синтез ДНК начинается в определенных участках, получивших название точка *ori* (англ. origin - начало). На каждой ДНК млекопитающих точек *ori* насчитывается около 100. Репликация распространяется от этих участков в обе стороны по нитям ДНК с образованием "**репликативных пузырей**". В каждом таком "пузыре" имеются две "**репликативные вилки**", в которых происходит расплетание, раскручивание и непосредственный синтез ДНК. Репликативные вилки удаляются друг от друга. В целом вся репликация ДНК у эукариот заканчивается за 9 часов.

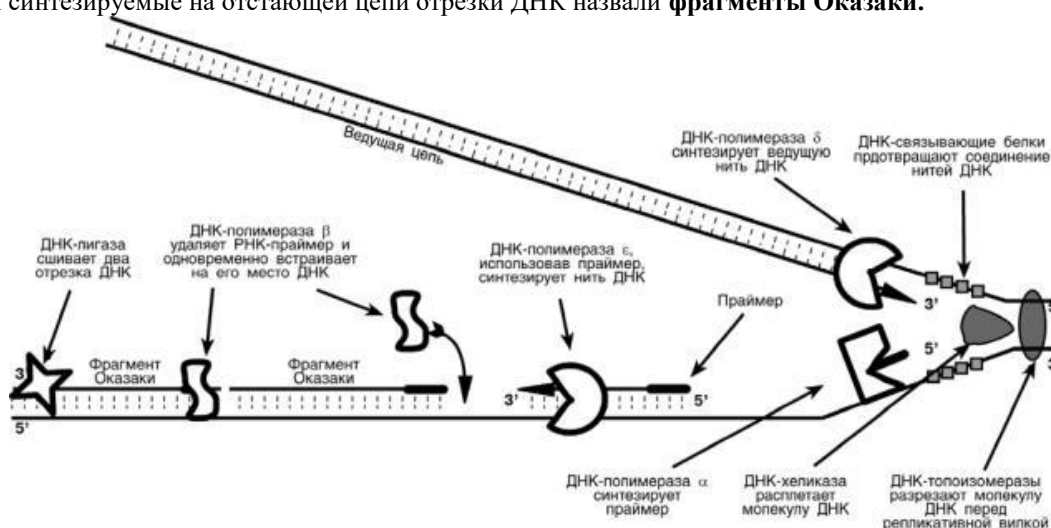
В каждой репликативной вилке идет синтез ДНК в направлении от 5'-конца к 3'-концу, т.е. 5'-концевой ДНК остается свободным, следующие нуклеотиды присоединяются к 3'-гидроксильной группе предыдущего нуклеотида. Поскольку нити ДНК антипараллельны, то непрерывно синтезируется только одна нить, а именно та, на которой направление движения репликативной вилки совпадает с направлением $3' \rightarrow 5'$.



По мере расплетания и движения репликативной вилки на нити открываются участки, где возможен синтез **новой** нити в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Направление $5' \rightarrow 3'$ **другой** материнской нити ДНК совпадает с направлением движения репликативной вилки. Поэтому синтез дочерней нити (в направлении $5' \rightarrow 3'$) возможен только после расплетания части ДНК и освобождения участка для синтеза.

Таким образом, синтез дочерней ДНК на одной из нитей материнской ДНК идет фрагментарно. По имени японского исследователя синтезируемые на отстающей цепи отрезки ДНК назвали **фрагменты Оказаки**.

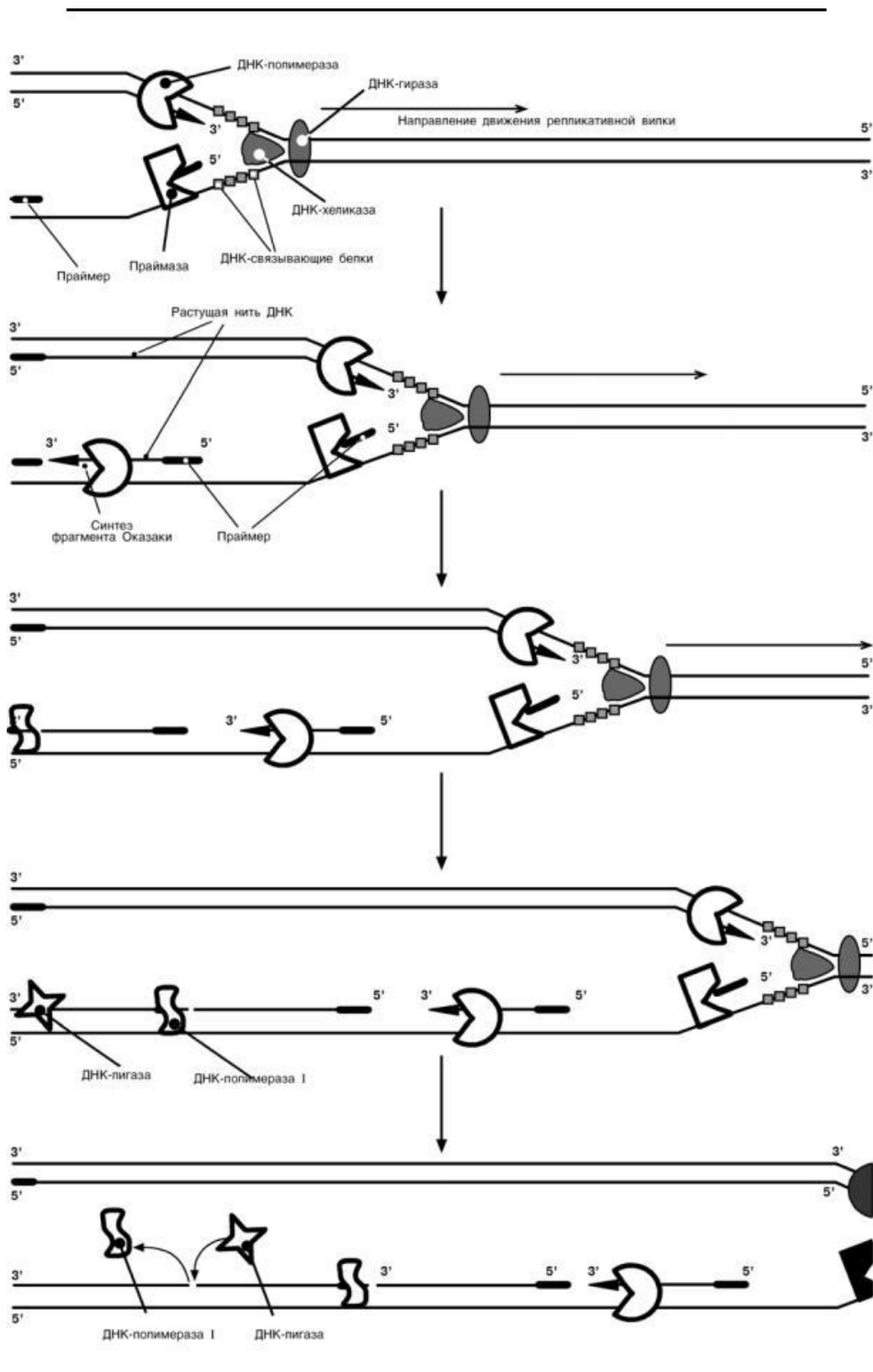


В целом для синтеза ДНК необходим ряд ферментов.

Ферменты репликации эукариот и их функция

	ВИД АКТИВНОСТИ	ФУНКЦИЯ
Топоизомеразы	Эндонуклеазная	Разрезание молекулы ДНК для облегчения ее расплетания и раскручивания
Хеликазы	Эндонуклеазная	Раскручивание молекулы ДНК
ДНК-связывающие белки		Стабилизация расплетенных нитей ДНК
ДНК-полимераза α	5'-3'-Полимеразная	Синтез РНК-затравки на основе молекулы ДНК
ДНК-полимераза β	5'-3'-Полимеразная 3'-5'-Экзонуклеазная 5'-3'-Экзонуклеазная	Репарация повреждений.
ДНК-полимераза ϵ	5'-3'-Полимеразная 3'-5'-Экзонуклеазная	Элонгация отстающей цепи дочерней ДНК на матрице материнской ДНК
ДНК-полимераза δ	5'-3'-Полимеразная 3'-5'-Экзонуклеазная Экзонуклеазная	Элонгация ведущей цепи дочерней ДНК на матрице материнской ДНК
ДНК-лигаза		Сшивка фрагментов Оказаки

Роль ферментов репликации ДНК



Дополнение – движение репликативной вилки и синтез нитей ДНК:

ПОВРЕЖДЕНИЯ И РЕПАРАЦИЯ ДНК.

Так как на геном любой неделящейся клетки постоянно оказывает влияние окру-

жающая среда, то вполне вероятны повреждения в составе генома: изменение нуклеотида (например, дезаминирование), сшивки азотистых оснований друг с другом, разрывы цепей, отрыв пуриновых нуклеотидов и т.п. Такие изменения быстро определяются специальными ферментами, пораженный участок удаляется **экзонуклеазами**, заполняется **ДНК-полимеразой** и сшивается **ДНК-лигазой**.

В делящейся клетке мутации могут также возникать во время синтеза ДНК. Поэтому в клетках существует **двойная система** проверки точности репликации: одна непосредственно при ДНК-полимеразной реакции, другая – анализ уже синтезированной ДНК.

ГИБРИДИЗАЦИЯ ДНК– ДНК И ДНК– РНК

Если нагреть раствор ДНК выше температуры 90°C или сдвинуть pH в резко щелочную или резко кислую стороны, то водородные связи между нитями ДНК разрушаются, двойная спираль расплетается. Происходит **денатурация** ДНК или, по-другому, **плавление**. Если удалить агрессивный фактор, то происходит **ренатурация** или **отжиг**. При отжиге нити ДНК "отыскивают" комплементарные участки друг у друга и, в конце концов, вновь сворачиваются в двойную спираль.

Если в одной "пробирке" провести плавление и отжиг смеси ДНК человека и мыши, то некоторые участки цепей ДНК мыши будут воссоединяться с комплементарными участками цепей ДНК человека с образованием **гибридов**. Число таких участков зависит от степени родства видов. Чем ближе виды между собой, тем больше участков комплементарности нитей ДНК. Это называется **гибридизация ДНК-ДНК**.

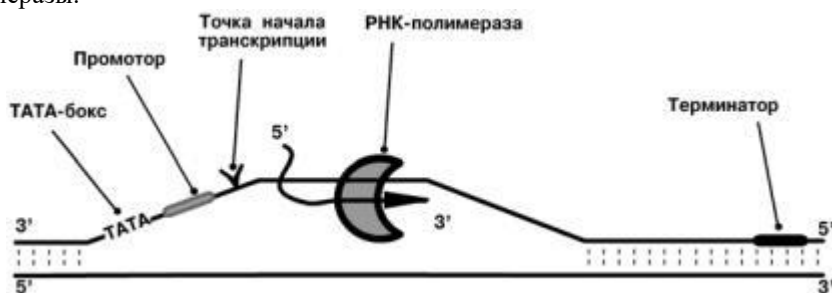
Если в растворе присутствует РНК, то можно осуществить **гибридизацию ДНК-РНК**. Это помогает установить близость определенных последовательностей ДНК с какой-либо РНК.

Гибридизация ДНК-ДНК и ДНК-РНК используется как эффективное средство в молекулярной генетике. Например, на основе знания белковой последовательности можно искусственно синтезировать РНК. При гибридизации такой РНК с образцами ДНК вполне реально определить участок ДНК, ответственный за синтез исходного белка.

ТРАНСКРИПЦИЯ

Транскрипция (англ. transcription – переписывание), – это биосинтез РНК на матрице ДНК. Биосинтез РНК происходит в участке ДНК, который называется **транскриптом**, с одного края он ограничен **промотором** (начало), с другого – **терминатором** (конец).

- Как в любом матричном биосинтезе в транскрипции выделяют 5 необходимых элементов:
- матрица – одна из цепей ДНК
 - растущая цепь – РНК
 - субстрат для синтеза – рибонуклеотиды (УТФ, ГТФ, ЦТФ, АТФ)
 - источник энергии – УТФ, ГТФ, ЦТФ, АТФ
 - ферменты – РНК-полимеразы.



Существует три основных типа РНК-полимераз: для синтеза пре-рРНК (РНК-полимераза I), для синтеза пре-мРНК (РНК-полимераза II), для синтеза пре-тРНК и 5S-рРНК (РНК-полимераза III).

В составе РНК-полимеразы *E. coli* выделяют четыре субъединицы: две

α -субъединицы, по одной β - и β' -субъединице. Имеется также дополнительный бел-

ковый σ -фактор. Последний необходим только для связывания с промотором и не участвует в удлинении цепи РНК.

Строение РНК-полимераз эукариот имеет много общего со структурой бактери-

ального фермента: они имеют по две больших субъединицы и несколько малых субъединиц.

СТАДИИ ТРАНСКРИПЦИИ

Инициация

Промотор содержит стартовый сигнал транскрипции **ТАТА-бокс** – определенную

последовательность нуклеотидов ДНК, присоединяющий иницирующий **ТАТА-фактор**. Этот ТАТА-фактор обеспечивает

присоединение РНК-полимеразы

той нити ДНК, которая будет использоваться в качестве шаблона для транскрипции.

Так как промотор ассиметричен, то он связывает РНК-полимеразу только в одной

ориентации, что определяет направление транскрипции от 5'-конца к 3'-концу

(5' → 3').

Другие факторы инициации раскручивают спираль ДНК перед РНК-полимеразой. После синтеза затравочного фрагмента

РНК длиной 8-10 рибонуклеотидов

σ -фактор отрывается от фермента.

Элонгация

Белковые факторы элонгации обеспечивают продвижение РНК-полимеразы

вдоль ДНК и расплетание нитей ДНК на протяжении примерно 17 нуклеотидных пар. РНК-полимераза продвигается со

скоростью примерно 40-50 нуклеотидов в секунду

в направлении 5' → 3'. Используя одновременно в качестве субстрата и источника

энергии АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ.

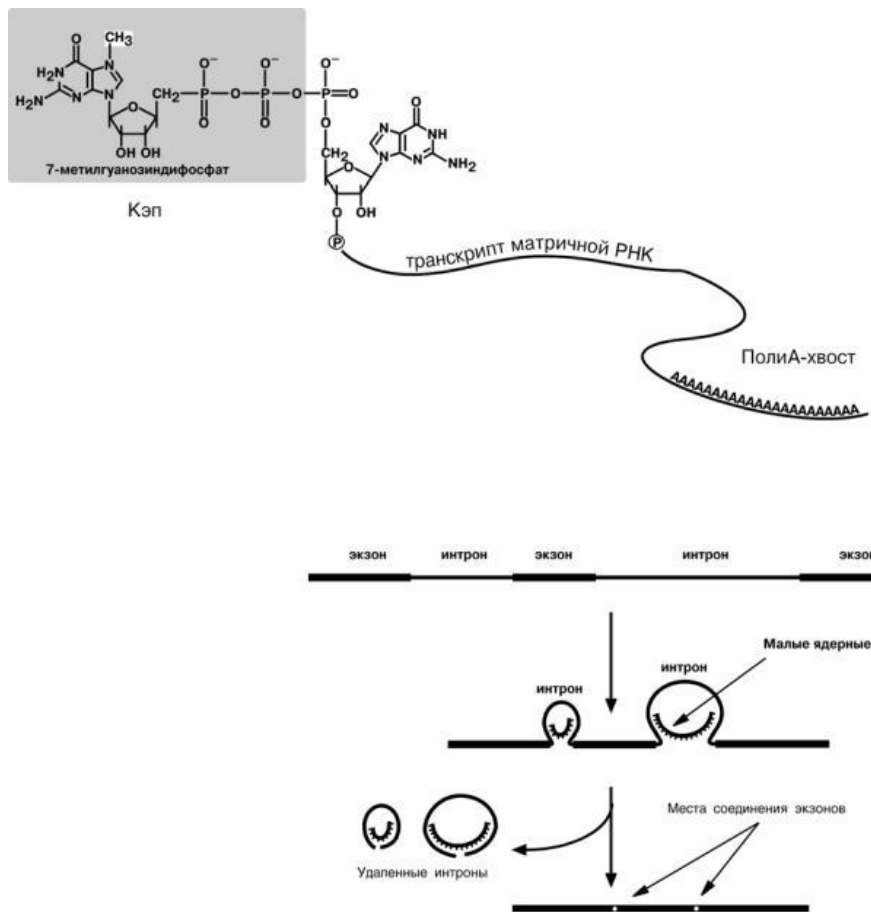
Терминация

РНК-полимераза остановится, когда достигнет терминирующих кодонов. С по-

мощью белкового фактора терминации, так называемого ρ -фактора (греч. ρ - "ро"),

от матрицы ДНК отделяются фермент и синтезированная молекула РНК, которая

является **первичным транскриптом**, предшественником мРНК или тРНК или рРНК.



ПРОЦЕССИНГ РНК.

Синтезированные молекулы РНК являются и в дальнейшем претерпевают ряд изменений, которые называются **процессингом**. У эукариот процессингу подвергаются все виды пре-РНК, у прокариот – только предшественники рРНК и тРНК.

ПРОЦЕССИНГ ПРЕДШЕСТВЕННИКА мРНК

1. **Кэпирование** (англ. *cap* - шапка) – происходит еще во время транскрипции, состоит в том, что к 5'-трифосфату концевому нуклеотиду пре-мРНК присоединяется 5'-углерод N7-метилгуанозина. «Кэп» необходим для защиты молекулы РНК от 5'-3'-экзонуклеаз.

2. При транскрипции зон ДНК, несущих информацию о белках, образуются **гетерогенные** ядерные РНК, по размеру намного превосходящие мРНК. Дело в том, что из-за мозаичной структуры генов эти гетерогенные РНК включают в себя информативные (экзоны) и неинформативные (интроны) участки. При особом процессе сплайсинга - происходит удаление интронов и сохранение экзонов.

3. **Полиаденилирование** – при помощи полиаденилат-полимеразы с использованием молекул АТФ происходит присоединение к 3'-концу 100-200 адениловых нуклеотидов, формирующих поли (А)-хвост.

ПРОЦЕССИНГ ПРЕДШЕСТВЕННИКА РРНК

Предшественники рРНК являются более крупными молекулами по сравнению со зрелыми рРНК

У **прокариот** большая прерибосомная 30S-РНК расщепляется специфическими нуклеазами с образованием 5S-рРНК, 16S-рРНК, и 23S-рРНК.

У **эукариот** большая прерибосомная 45S-РНК расщепляется специфическими нуклеазами с образованием 5,8S-рРНК, 18S-рРНК, и 28S-рРНК.

ПРОЦЕССИНГ ПРЕДШЕСТВЕННИКА ТРНК

1. **Формирование** на 3'-конце **последовательности Ц-Ц-А**. Для этого у одних пре-тРНК с 3'-конца удаляются лишние нуклеотиды до «обнажения» триплета Ц-Ц-А, у других идет присоединение этой последовательности.

2. **Формирование антикодоновой петли** происходит путем сплайсинга и удаления интрона в средней части пре-тРНК.

3. **Модификация нуклеотидов** путем дезаминирования, метилирования, восстановления. Например, образование псевдоуридина и дигидроуридина.

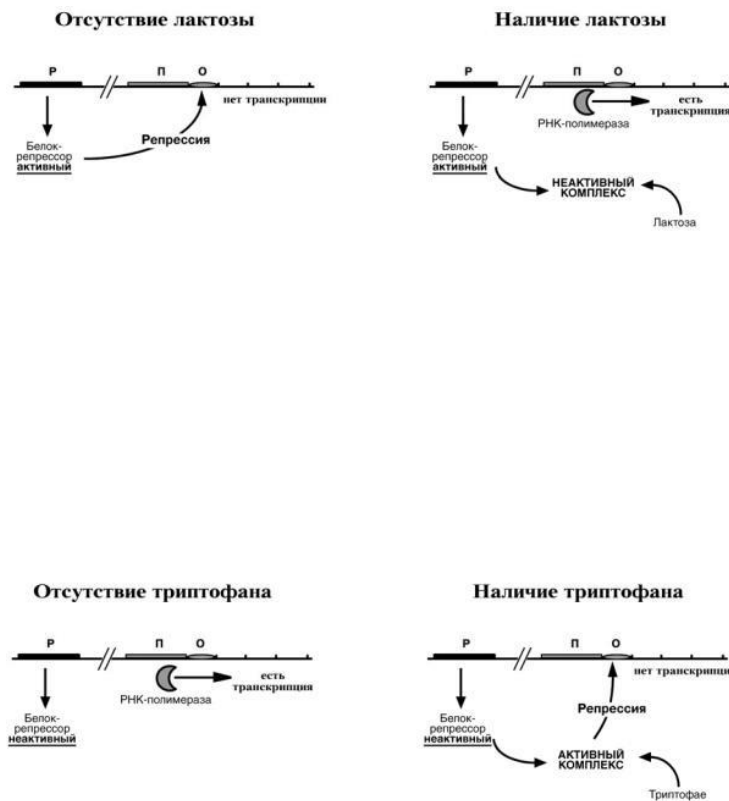
РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ ПРОКАРИОТ

Регуляция биосинтеза белка у прокариот осуществляется на уровне транскрипции мРНК. В настоящее время принята теория оперона, сформулированная Франсуа Жакобом и Жако Моно. В основе теории лежат следующие понятия:

- конституитивные ферменты – те, которые присутствуют в клетках всегда, независимо от ее активности
- индуцибельные ферменты – те, которые синтезируются при появлении субстрата
- оперон – группа тесно связанных между собой генов (несколько структурных генов и один ген-оператор), которые регулируют образование ферментов в организме.
- ген-регулятор – ген, регулирующий работу оперона, не входящий в его состав.

Лактозный оперон

При изучении *E. coli* было замечено, что активность одного из ферментов катаболизма лактозы низка, если в среде имеется глюкоза. При отсутствии же глюкозы и при наличии лактозы активность фермента резко повышается. На основании этих наблюдений была предложена схема регуляции оперона по **механизму индукции**.



В отсутствие лактозы **активный** белок-репрессор связывается с оператором и блокирует синтез мРНК, кодирующей ферменты катаболизма лактозы. В результате эти ферменты не образуются. Если глюкозы нет, и есть лактоза, то последняя связывается с белком-репрессором и модифицирует его, не позволяя связаться с геном-оператором. Это позволяет РНК-полимеразе считывать информацию, отвечающую за синтез ферментов катаболизма лактозы, и синтезировать мРНК. Таким образом, лактоза является **индуктором** транскрипции.

Триптофановый оперон

Функционирование триптофанового оперона, в некотором смысле, противоположно работе лактозного. В данном случае, в отличие от лактозного оперона, белок-репрессор синтезируется в **неактивном** состоянии и не может заблокировать транскрипцию генов, кодирующих ферменты синтеза триптофана. Синтез аминокислоты будет в клетке продолжаться до тех пор, пока в среде не появится триптофан. Триптофан соединяется с белком-репрессором и **активирует** его. Далее такой активный комплекс присоединяется к гену-оператору и блокирует транскрипцию. Таким образом, при наличии триптофана в среде, прекращается его внутриклеточный синтез, экономятся ресурсы и энергия бактериальной клетки. В этом случае триптофан является **репрессором** транскрипции. Регуляция осуществляется по **механизму репрессии**.

ЭУКАРИОТЫ

Существенное усложнение эукариотических организмов повлекло за собой появление новых способов регуляции активности матричных биосинтезов: **Амплификация** – это увеличение количества генов, точнее многократное копирование одного гена. Естественно, все полученные копии равнозначны и одинаково активно обеспечивают транскрипцию. Например, противоопухолевый препарат **метотрексат** препятствует работе дигидрофолатредуктазы, фермента, необходимого для синтеза дезоксирибонуклеотидов. При этом в опухолевых клетках происходит амплификация гена этого фермента, что приводит к многократному увеличению синтеза дигидрофолатредуктазы и невосприимчивости опухолевых клеток к метотрексату.

Энхансеры (англ. to enhance - усиливать) – участки ДНК в 10-20 пар оснований, способные значительно **усилить** экспрессию генов той же ДНК. В отличие от промоторов они значительно удалены от транскрипционного участка и могут располагаться от него в любом направлении (к 5'-концу или к 3'-концу). Сами энхансеры не кодируют какие-либо белки, но способны связываться с регуляторными белками.

Сайленсеры (англ. silence - молчание) – участки ДНК, в принципе схожие с энхансерами, но они способны **замедлять** транскрипцию генов, связываясь с регуляторными белками.

Перестройка генов. Нуклеотидные последовательности, кодирующие белковую молекулу могут оказаться разделенными на отдельные сегменты, не связанные между собой. Например, иммуноглобулины состоят из тяжелой и легкой цепей, каждая из которых включает собственные варибельную и константную части. Существует множество вариантов как варибельной, так и константной частей. Генетическая информация об этих вариантах локализована подчас в разных хромосомах. При дифференцировке В-лимфоцитов значительно удаленные сегменты генетического материала переносятся и группируются рядом – происходит **генетическая рекомбинация**.

Процессинг мРНК – некоторые пре-мРНК подвергаются разным вариантам сплайсинга (**альтернативный сплайсинг**) в результате чего образуются разные мРНК, и соответственно, белки с разной функцией. Примером может служить образование двух типов тяжелых цепей IgM в В-лимфоцитах, один из которых удерживает IgM на мембране, другой позволяет антителу нормально секретироваться наружу. **Изменение стабильности мРНК** – чем выше продолжительность жизни мРНК в цитозоле клетки, тем больше соответствующего белка наработается. Например, установлено, что при наличии пролактина в клетках молочной железы время полужизни мРНК белка казеина значительно увеличивается, а эстрадиол продлевает время полужизни мРНК белка вителлогенина в десятки раз.

Транспорт из ядра в цитоплазму –

ЛЕКАРСТВЕННОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

1. Гетероциклические соединения **доксорубин**, **дауномицин** и **актиномицин D** обладают способностью **интеркалировать** (встраиваться в молекулу ДНК) между двумя соседними парами оснований Г-Ц. В результате возникает препятствие для движения РНК-полимеразы («заедание молнии») и остановка транскрипции.

2. **Рифампицин** связывается с β-субъединицей РНК-полимеразы **прокариот** и ингибирует ее. Благодаря такой избирательности действия рифампицин действует только на бактерии и является препаратом для лечения туберкулеза.

3. **α-Аманитин**, октапептид, вещество бледной поганки (*Amanita phalloides*) блокирует РНК-полимеразу **эукариот** и предотвращает продукцию мРНК.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ АКТИВАЦИЯ

Активация транскрипции используется в клинике намного реже и заключается в применении аналогов стероидных гормонов для достижения анаболического эффекта в органе-мишени (см тему "Гормоны"/"Механизм действия стероидных гормонов").

БИОЛОГИЧЕСКИЙ КОД

Биологический код – это способ перевода четырехзначного языка нуклеотидов в двадцатизначный язык аминокислотной последовательности.

СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКОГО КОДА:

Триплетность – три нуклеотида формируют **кодон**, кодирующий аминокислоту. Всего насчитывают 61 кодон.

Специфичность (или однозначность) – каждому кодону соответствует только одна аминокислота.

Вырожденность – одной аминокислоте может соответствовать несколько кодонов.

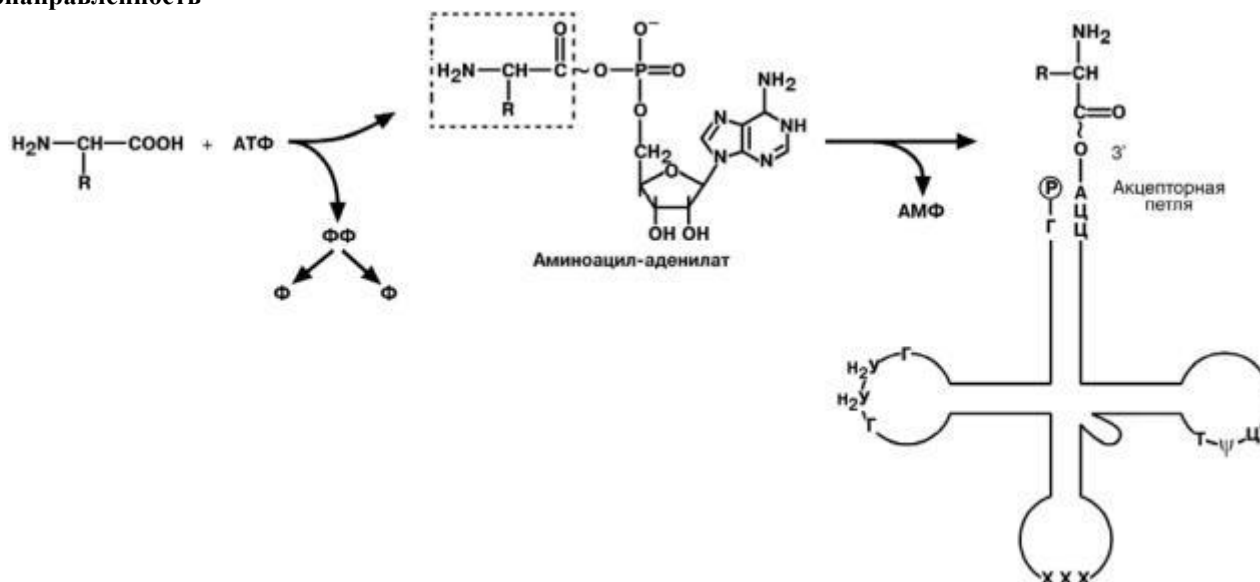
Универсальность – биологический код одинаков для всех видов организмов на Земле (однако в митохондриях млекопитающих есть исключения).

Коллинеарность – последовательность кодонов соответствует последовательности аминокислот в кодируемом белке.

Неперекрываемость – триплеты не накладываются друг на друга, располагаясь рядом.

Отсутствие знаков препинания – между триплетами нет дополнительных нуклеотидов или каких-либо иных сигналов. При синтезе белка считывание кодонов идет последовательно, без пропусков или возвратов назад.

Однонаправленность



АДАПТОРНАЯ РОЛЬ ТРАНСПОРТНЫХ РНК

Транспортные РНК являются единственным посредником между 4-буквенной последовательностью нуклеиновых кислот и 20-буквенной последовательностью белков. Именно от наличия того или иного антикодона в тРНК зависит, какая аминокислота включится в белковую молекулу, т.к. ни рибосома, ни мРНК не узнают аминокислоту.

Присоединение аминокислоты к тРНК осуществляется ферментом **аминоацил-тРНК-синтетазой**, имеющей специфичность одновременно к двум соединениям: какой-либо аминокислоте и соответствующей ей тРНК. Так как существует около 60 различных тРНК, то некоторым аминокислотам соответствует две или более тРНК. Транспортные РНК, способные присоединять одну и ту же аминокислоту называют **изоакцепторными**

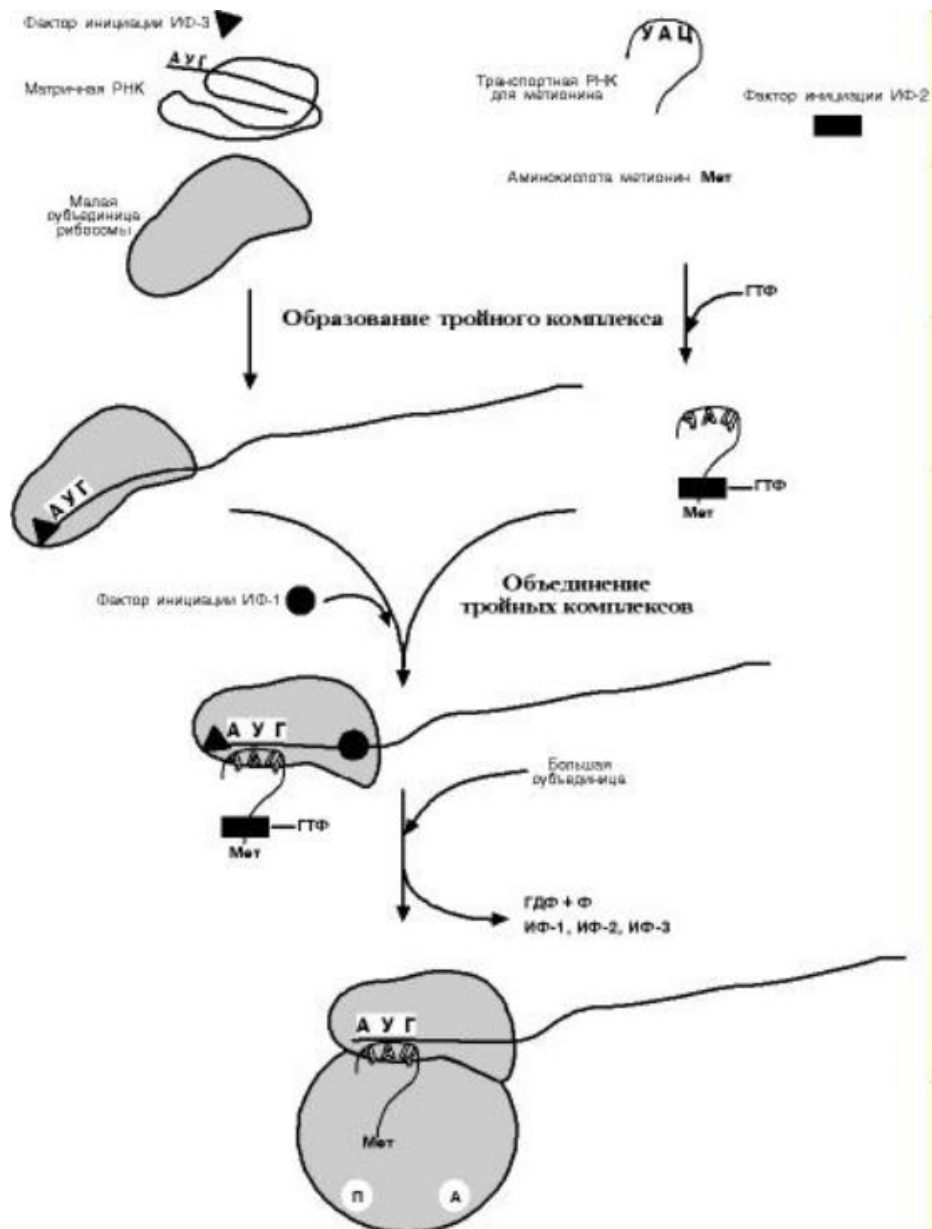
БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ

После считывания информации с ДНК и переноса ее на матричную РНК начинается синтез белков. Каждая зрелая мРНК несет информацию только об **одной** полипептидной цепи. Если клетке необходимы другие белки, то необходимо транскрибировать мРНК с иных участков ДНК.

Биосинтез белков или трансляция происходит на рибосомах, внутриклеточных белоксинтезирующих органеллах, и включает 5 ключевых элементов:

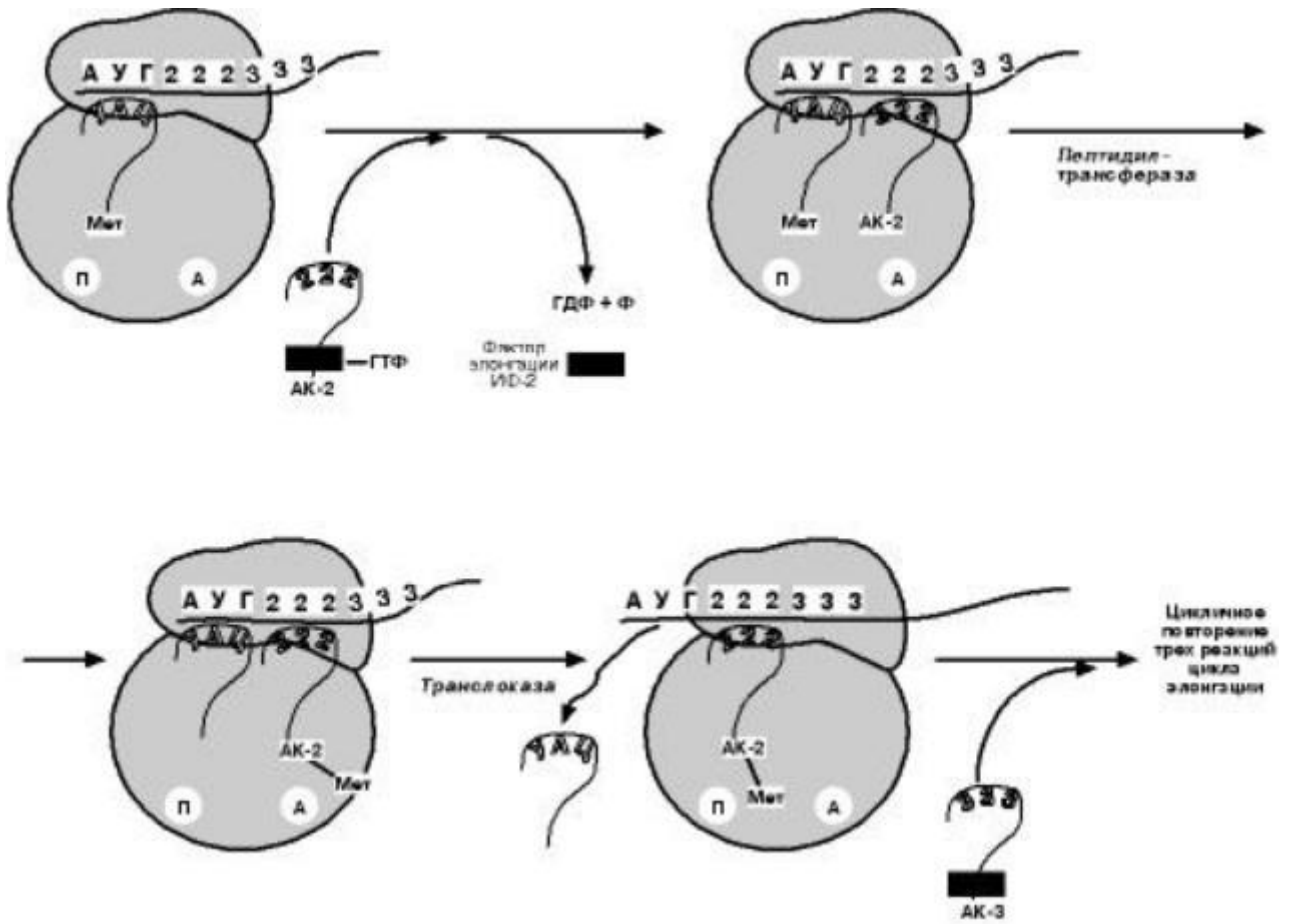
- матрица – матричная РНК
- растущая цепь – полипептид
- субстрат для синтеза – 20 протеиногенных аминокислот
- источник энергии – ГТФ
- ферменты – рибосомальные белки и рРНК

Выделяют три основных стадии трансляции: инициация, элонгация, терминация.



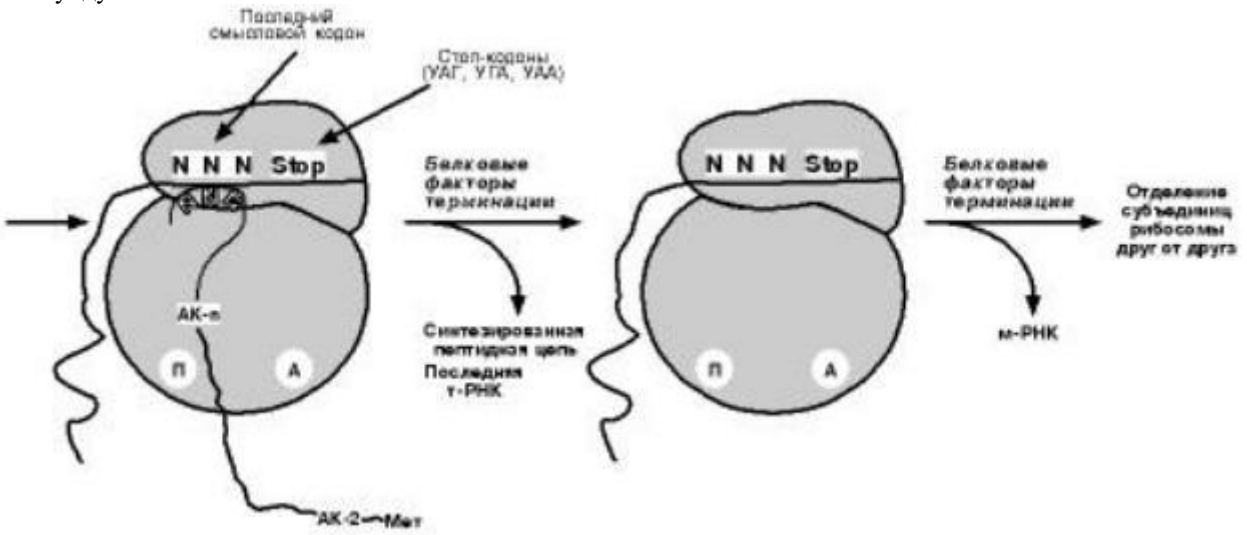
ИНИЦИАЦИЯ

Для инициации необходимы мРНК, ГТФ, малая и большая субъединицы рибосомы, три белковых фактора инициации (ИФ-1, ИФ-2, ИФ-3), метионин и тРНК для метионина. В начале этой стадии формируются два тройных комплекса: первый – мРНК, малая субъединица, ИФ-3; второй – мет-тРНК, ИФ-2, ГТФ. После их объединения и присоединения большой субъединицы начинается стадия элонгации.



ЭЛОНГАЦИЯ

Для этой стадии необходимы все 20 аминокислот, тРНК для всех аминокислот, белковые факторы элонгации, ГТФ. Элонгация представляет собой циклический процесс, повторяющийся столько раз, сколько аминокислот необходимо включить в полипептидную цепь. Удлинение цепи происходит со скоростью примерно 20 аминокислот в секунду.



ТЕРМИНАЦИЯ

Синтез белка будет продолжаться до тех пор, пока рибосома не достигнет на мРНК особых терминирующих кодонов – **стоп-кодонов** УАА, УАГ, УГА. Данные триплеты не кодируют ни одной из аминокислот, их также называют нонсенс-кодонами.

Кроме стоп-кодонов для окончания синтеза белка требуются ГТФ и белковые факторы терминации, которые последовательно катализируют

1. Гидролитическое отщепление полипептида от конечной тРНК
2. Отделение от П-участка последней, уже пустой, тРНК,
3. Диссоциацию рибосомы.

ПОЛИРИБОСОМЫ

По причине того, что продолжительность жизни матричной РНК невелика, перед клеткой стоит задача использовать ее максимально эффективно, т.е. получить максимальное количество «белковых копий». Для достижения этой цели на каждой мРНК может располагаться не одна, а несколько рибосом, вступающих последовательно друг за другом и синтезирующих пептидные цепи. Такие образования называются **полирибосомами**.

ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

Чаще всего в результате трансляции полипептидные цепи образуются в неактивной форме, поэтому необходимы дополнительные изменения – **процессинг**.

К ним относятся:

1. Удаление с N-конца метионина или даже нескольких аминокислот специфичными аминопептидазами;
2. Образование дисульфидных мостиков между остатками цистеина;
3. Частичный протеолиз – удаление части пептидной цепи, как в случае с инсулином или протеолитическими ферментами ЖКТ;
4. Присоединение химической группы к аминокислотным остаткам:

- фосфорной кислоты – фосфорилирование по сер, тре, тир используется при регуляции активности ферментов или для связывания ионов кальция
 - карбоксигруппы – при участии витамина К происходит γ -карбоксилирование глутамата в составе протромбина, проконвертина, фактора Стюарта, Кристмаса, это позволяет связать ионы кальция при инициации свертывания крови.
 - метильной группы – метилирование аргинина и лизина в составе гистонов используется для регуляции активности генома
 - гидроксильной группы – образование гидроксипролина и гидроксизина необходимо для созревания молекул коллагена
 - йода – в тиреоглобулине присоединение йода необходимо для образования предшественников тиреоидных гормонов йодтиронинов.
 - углеводных остатков – гликирование требуется при синтезе гликопротеинов
5. Включение простетической группы:
 - гема – при синтезе гемоглобина, миоглобина, цитохромов, каталазы
 - витаминных коферментов – биотина, ФАД, пиридоксальфосфата и т.п.
 6. Объединение протомеров в единый олигомерный белок, например, гемоглобин, лактатдегидрогеназа.

ФОЛДИНГ БЕЛКОВ

Фолдинг – это процесс сворачивания полипептидной цепи в правильную пространственную структуру. Для обеспечения фолдинга используется группа вспомогательных белков под названием **шапероны** (chaperon, франц. – спутник). Они предотвращают взаимодействие новосинтезированных белков друг с другом, изолируют гидрофобные участки белков от цитоплазмы, способствуют переходу вторичной структуры в третичную.

При нарушении функции шаперонов и отсутствии фолдинга в клетке формируются белковые отложения – развивается **амилоидоз**. Насчитывают около 15 вариантов амилоидоза.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

1. Инактивация факторов инициации:

- **интерферон** активирует внутриклеточные протеинкиназы, которые, в свою очередь, фосфорилируют белковый фактор инициации ИФ-2 и подавляют его активность.

2. Нарушение кодон-антикодонного взаимодействия:

- **стрептомицин** присоединяется к малой субъединице и вызывает ошибку считывания первого основания кодона.

3. Нарушение элонгации:

- **тетрациклины** блокируют А-центры рибосомы и лишают ее способности связываться с аминоацил-тРНК
- **левомицетин** связывается с 50S-частицей рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазу
- **эритромицин** связывается с 50S-частицей рибосомы и ингибирует транслоказу
- **пурамицин** по структуре схож с тирозил-тРНК, входит в А-центры рибосомы и участвует в пептидилтрансферазной реакции, образуя связь с имеющимся пептидом. После этого комплекс пурамицин-пептид отделяется от рибосомы, что останавливает синтез белка.

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ

В результате того, что каждый ген у человека имеется в двух копиях (аллелях), может подвергаться мутациям (замена, делеция, вставка) и рекомбинациям, серьезно не затрагивающим функцию кодируемого белка, то возникает полиморфизм генов, и, соответственно, **полиморфизм белков**. Возникают целые семейства родственных белков, обладающих схожими, но не одинаковыми свойствами и функцией. Например, существует около 300 разных типов **гемоглобина**, часть из них является необходимой на разных этапах онтогенеза: например, HbE эмбриональный, образуется в первые месяцы развития, HbF – фетальный, необходим на более поздних сроках развития плода, HbA и HbA2 – гемоглобин взрослых. Разнообразие обеспечивается разным набором глобиновых цепей: в гемоглобине E присутствуют 2 α и 2 ϵ цепи, в HbF – 2 α - и 2 γ цепи, в HbA – 2 α - и 2 β -цепи, в HbA2 – 2 α - и 2 δ -цепи. **Группы крови АВО** зависят от строения особого углевода на мембране эритроцитов. Лица с группой крови А0 на эритроците имеют олигосахарид с присоединенным к нему N-ацетилгалактозамином, с группой крови В0 – олигосахарид с галактозой, 00 – имеют только «чистый» олигосахарид. АВ – оба вида сахаридов. Такие различия обусловлены разной специфичностью и активностью фермента **гликозилтрансферазы**, способного модифицировать исходный олигосахарид. **Белки главного комплекса гистосовместимости** обеспечивают трансплантационную несовместимость тканей. Они обладают чрезвычайно высоким полиморфизмом и насчитывают несколько миллионов аллелей этих белков. Благодаря такому разнообразию каждый человек обладает практически уникальным набором аллелей.

I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Методы выделений ДНК
2. Расщепление ДНК с помощью рестриктаз
3. Идентификация специфических последовательностей
4. Установление первичной структуры ДНК-фрагментов (секвенирование ДНК)
5. Получение рекомбинантных ДНК и их амплификация
6. Получение рекомбинантных ДНК и их амплификация
7. ДНК-диагностика заболеваний

II Самостоятельная работа обучающихся: составить ментальную карту по теме: «Использование ДНК-технологий для диагностики некоторых заболеваний и получения лекарственных препаратов».

III Список используемой литературы:

Обязательная:

1. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;
2. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

1. ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
2. МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Структура биологических мембран: трансмембранный транспорт веществ.

Научно-методическое обоснование темы.

Липиды - большой класс органических соединений нерастворимых в воде. По своей химической структуре липиды гетерогенны. Это спирты, кислоты, эфиры. Класс липидов может систематизироваться: по структуре, физико-химическим свойствам и физиологической функции.



Разделение липидов по физико-химическим свойствам зависит от степени полярности. Липиды делятся на нейтральные или неполярные (не имеющие заряда) и полярные (несущие заряд).

Функционально липиды делят на резервные и структурные. Резервные депонируются в больших количествах и используются для энергетических нужд организма.

Структурные особенности липидов обуславливают различные их свойства и функциональные возможности. Жиры можно рассматривать как производные жирных кислот, имеющих структуру RCOOH , где R - длинная углеводородная цепь. В организме человека наиболее часто встречаются жирные кислоты с четным числом углеродных атомов (C_{16} , C_{18} , C_{20}), которые могут быть насыщенными и ненасыщенными (содержащие двойные связи).

Насыщенные жирные кислоты:

пальмитиновая $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$ (C_{16}) стеариновая $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$ (C_{18})
мононенасыщенные

олеиновая $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7 \text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ (C_{18})

полиненасыщенные

линолевая $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4 \text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ (C_{18})

линоленовая $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7 \text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$

CH_2-COOH (C_{18})

арахидоновая (C_{20})

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$
 $(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$

Основной жирнокислотный состав липидов тканей человеческого организма:

пальмитиновая - 30% стеариновая - 15,3% олеиновая - 12% линолевая - 18%
арахидоновая - 8%

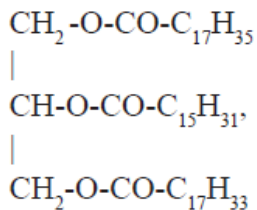
Эти показатели могут отличаться в зависимости от липидов пищи и специфики клеток органов и тканей.

Полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая, линоленовая, арахидоновая) в организме не синтезируются, поэтому их называют незаменимыми (эссенциальными). Они:

1. входят в состав фосфолипидов клеточных мембран
2. являются субстратами для синтеза простагландинов (тром- боксаны, простациклины)
3. являются противоатерогенными (витамин F)

Жирные кислоты находятся в организме в основном в эте- рифицированном состоянии. Они входят в состав триацилгли- церидов. Нейтральные жиры (триацилглицериды) выполняют в основном роль резервного метаболического топлива, так как являются самой компактной и энергоемкой формой хранения энергии. Запасаются жиры в жировых клетках - адипоцитах, которые входят в состав жировой ткани. В норме в организме человека содержится 6-10 кг жира, этого количества достаточно для обеспечения энергией организма в течение 40-дней при полном голодании. Жировая ткань выполняет также механическую и теплорегулирующую функции. Простые липиды (ТАГ) это эфиры 3-х атомного спирта глицерина и высших жирных кислот. Эти жиры не имеют заряда и гидрофобны. Физические свойства простых или нейтральных жиров зависят от содержания насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. ТАГ бывают простые и смешанные в зависимости от жирнокислотного состава. Глицерин может этерифицироваться одинаковыми или различными жирными кислотами (смешанные жиры)

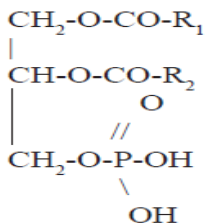
Представляем схему строения смешанного триацилглицерина:



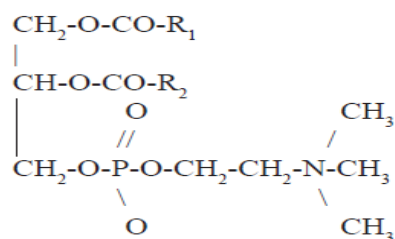
стеариноилпальмитоилолеиновый триацилглицерид.

Липиды, содержащие в своей структуре преимущественно насыщенные жирные кислоты тугоплавкие, если же содержатся ненасыщенные жирные кислоты, то температура плавления более низкая и при комнатной температуре эти жиры жидкие и называют их маслами (растительного происхождения).

Усложнение структуры изменяет свойства и функции липидов. Наиболее распространенными мембранными липидами являются глицерофосфолипиды - производные фосфатидной кислоты:



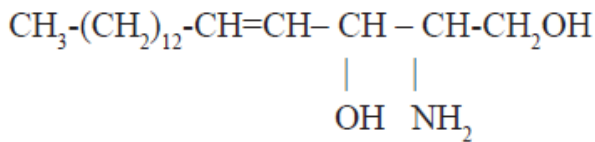
В фосфатидной кислоте к фосфорильному остатку присоединены различные полярные радикалы (этаноламин, трижды метилированный по азоту этаноламин или холин, серин и т.д.). Рассмотрим структуру фосфатидилхолина или лецитина:



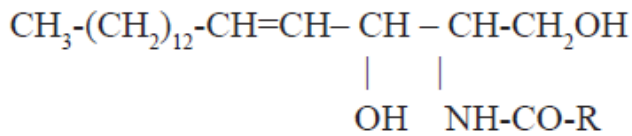
Мы видим, что в отличие от триглицеридов, фосфолипиды амфифильные, то есть имеют заряженную или полярную «головку» (холин) и неполярный хвост (жирные кислоты). Эти амфи- патические свойства фосфолипидов играют важную роль в построении мембраны живой клетки.

Полярные липиды могут быть не только производными 3-х атомного спирта глицерина, но и ненасыщенного аминок спирта сфингозина:

Сфингозин



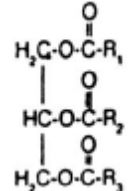
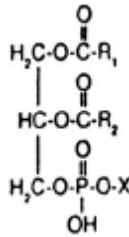


Предшественником всех сфинголипидов является **церамид**:



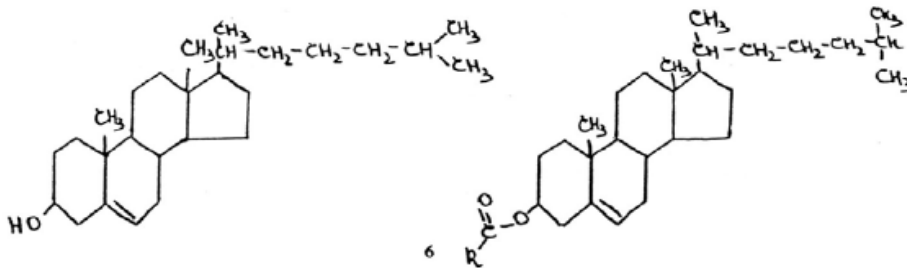
Сфингомиелин - основной представитель сфингофосфолипидов - является производным церамида, входит в состав миелиновых оболочек нервных клеток.

Гликолипиды также производные церамида в сочетании с различными полярными заместителями по свободной гидроксильной группе. Такими заместителями бывают обычно сахара.

В состав цереброзидов входят моносахариды глюкоза и галактоза. Цереброзиды присутствуют в мембранах мозговых клеток. Олигосахаридные производные церамида называются ганглиозидами, они содержатся преимущественно в сером веществе и сосредоточены в мембранах нервных и глиальных клеток.

Класс липидов	Схема строения	Функции	Преимущественная локализация в организме*
Триацилглицерины		Запасание энергетического материала Механическая функция	Адиipoциты
Глицерофосфолипиды: X-холин этаноламин серин инозитолбисфосфат		Структурные компоненты мембран; кроме того, фосфатидилхолин, структурный элемент липопротеинов. компонент сурфактанта, предотвращающего слипание альвеол (в этом случае R1 и R2 - пальмитиновые кислоты)	Мембраны клеток Монослой на поверхности липопротеинов Альвеолы легких
Сфингофосфолипиды сфингомиелины		Основные структурные компоненты мембран нервной ткани	Миелиновые оболочки нейронов Серое вещество мозга
Гликолипиды: а) цереброзиды, если X - моносахарид б) ганглиозиды, если X - углеводы сложного состава		Компоненты мембран нервной ткани Структуры на поверхности разных типов клеток; рецепторы, обеспечивающие взаимодействие клеток	Внешний слой клеточной мембраны
Стероиды	Холестерин и его производные, см. тему 8Л2.	Компонент мембран. Предшественник в синтезе желчных кислот и стероидных гормонов	Мембраны клеток Липопротеины крови

Особую группу липидов составляют производные углеводорода циклопентанпергидрофенантрена и изопрена - стериды, главным представителем которого является одноатомный циклический ненасыщенный спирт холестерол (холестерин).



В организме человека и животных в 60-70% холестерол этерифицирован жирными кислотами и в виде стеридов депонируется в клетках, а в крови находится в виде липопротеиновых комплексов.

Свободный холестерин входит в состав клеточных мембран, является субстратом для синтеза желчных кислот, гормонов, витамина Д₃.

Итак, в мембранах присутствуют сложные липиды трех главных типов – глико -, фосфо -, холестерин. Они амфифильны, самопроизвольно формируют бислои. Липидный состав мембран различен и определяется разнообразием их функций. Так в цитоплазматической мембране больше холестерина, а в мембране органелл – фосфотидилхолина. Соотношение фосфотидилхолина к фосфотидилэтаноламину больше 1.

Липидный бислой формирует среду для функционирования мембранных белков. Белково – липидные комплексы обеспечивают выполнение основных функций мембран:

- отделение клетки от окружающей среды и формирование внутриклеточных компартментов (отсеков);
- контроль и регулирование транспорта огромного разнообразия веществ через мембрану;
- участие в обеспечении межклеточных взаимодействий, передача внутрь клетки сигналов;
- преобразование энергии пищевых органических веществ в энергию химических связей молекул АТФ.

Одной из важнейших функций мембран является транспорт органических и неорганических соединений в клетку и из неё. Он осуществляется путем:

1. пассивной диффузии веществ по градиенту концентрации;
2. облегченной диффузии – осуществляется с помощью белков – переносчиков;
3. первично – активного транспорта, когда перенос некоторых неорганических веществ идёт против градиента концентрации при участии транспортных АТФаз;
4. вторично – активного транспорта – против градиента концентрации и зависит от одновременного или последовательного переноса другого вещества по градиенту концентрации в том же направлении (симпорт) или в противоположном (антипорт);
5. эндоцитоз – перенос вещества из среды в клетку вместе с частью плазматической мембраны.

Важное свойство мембран – способность воспринимать и передавать внутрь клетки сигналов внешней среды.

Если сигнал воспринимается мембранными рецепторами, то схему передачи информации можно представить так:

- взаимодействие рецептора с сигнальной молекулой (первичным посредником);
- активация мембранного фермента, ответственного за образование вторичного посредника;
- образование вторичного посредника цАМФ, цГМФ, ИФ₃, ДАТ или Ca²⁺;
- активация посредниками специфических белков, в основном протеинкиназ, которые, в свою очередь, фосфорилируя ферменты, оказывают влияние на активность внутриклеточных процессов.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии:

Обучающийся должен знать:

1. Классификацию липидов.
2. Структуру и свойства важнейших представителей липидов, функции и значение для организма человека.
3. Свойства и функции мембран
4. Липиды мембран: классификация, структура, значение, свойства.
5. Механизмы транспорта веществ через мембрану.
6. Способы передачи сигнала в клетку.

Обучающийся должен уметь:

1. Определять содержание холестерина.
2. Написать формулы липидов мембран.
3. Объяснить и написать схемы механизмов транспорта веществ через мембрану. Написать схему проведения сигнала в клетку.

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

1. Общая характеристика липидов.
2. Классификация липидов
3. Характеристика жирных кислот, входящих в состав тканей человеческого организма.
4. Эссенциальные жирные кислоты и их биологическая роль.
5. Нейтральные жиры, представители.
6. Характеристика различных представителей сложных липидов: фосфолипидов, гликолипидов.
7. Холестерин, как представитель зоостеринов, структура, роль.

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО.

V. Наименование лабораторной работы

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Липиды, их функции.
2. Классификация по химической структуре.
3. Характеристика простых липидов.
4. Наиболее часто встречающиеся жирные кислоты в составе тканей человека.
5. Объясните влияние насыщенных и ненасыщенных жирных кислот на физико-химические свойства липидов.
6. Эссенциальные жирные кислоты, их биологическая роль.
7. Написать простой ТАГ.
8. Написать смешанный ТАГ.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Классификация простых и сложных липидов.
2. Производными какого соединения являются фосфолипиды (фосфатиды)? Написать формулу.
3. Написать формулу фосфатидилхолина и показать полярную «головку».
4. Как влияет полярность на функцию липидов?
5. Назовите сфинголипиды, какова их роль?
6. Чем отличается сфингомиелин от цереброзидов и ганглиозидов?
7. Изобразите строение цереброзидов схематически.
8. Какое кольцо лежит в основе всех стероидных соединений?
9. Холестерин - основной представитель зоостеринов.
10. Написать эфир холестерина и жирной кислоты.
11. Какова функция свободного холестерина?

IX. Самостоятельная работа обучающихся:

X. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А. Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия». 1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. А.А. Болдырев редактор. Введение в биомембранологию. Учебное пособие. 1990 год
12. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год

Тема: Биоэнергетика. Образование АТФ и других макроэргических соединений в клетках. Энергетика обмена веществ. Энергетический обмен. Биологическое окисление. Строение цепи транспорта электронов. Окислительное фосфорилирование. Теория сопряжения процесса биологического окисления и окислительного фосфорилирования. Разобщители.

I. Научно-методическое обоснование темы:

В зависимости от вида использования энергии все организмы делятся на *фототрофные* (использование энергии солнечного излучения) и *хемотрофные* (использование энергии химических веществ). К фототрофным относят все растения, к хемотрофам - животных и человека.

Живые организмы находятся в постоянной и неразрывной связи с окружающей средой. Эта связь осуществляется в процессе обмена веществ, который включает 3 *этапа*: поступление веществ в организм, метаболизм и выделение конечных продуктов из организма.

Поступление веществ происходит в результате дыхания и питания. В желудочно-кишечном тракте происходит переваривание (гидролиз полимеров - белков, полисахаридов, липидов и других сложных органических веществ) до мономеров.

Мономеры всасываются и включаются в промежуточный обмен, который состоит из 2 типов реакций: катаболизма и анаболизма.

Катаболизм - процесс расщепления органических молекул до конечных продуктов (CO_2 , H_2O и мочевины). Реакции сопровождаются выделением энергии.

Анаболизм объединяет биосинтетические процессы, в которых простые строительные блоки соединяются в сложные макромолекулы, необходимые для организма. В этих реакциях используется энергия, освобождающаяся при катаболизме.

Процессы катаболизма в клетках животных и человека сопровождаются потреблением кислорода, который необходим для реакций окисления. В результате этих реакций происходит освобождение энергии, которая необходима организмам в процессе жизнедеятельности для осуществления различных видов работы. Энергия необходима для поддержания температуры тела, выполнения химической работы (синтез органических соединений, усложнения химической структуры), активного транспорта веществ через мембраны, механической работы (мышечное сокращение), а так же для генерирования электрического тока и иногда света (биолюминесценция)

Носителями энергии являются электроны, формирующие связи между атомами в органических субстратах. Для использования этой энергии необходимо расщепление молекул субстрата и освобождение энергии электронов. Источником этой энергии являются процессы биологического окисления, сопряженного с окислительным фосфорилированием, происходящим в организме человека и животных.

Биологическое окисление - это окисление ионов водорода молекулярным кислородом с образованием эндогенной воды. Основным источником энергии являются соединения ионов водорода, отщепляемого от распадающегося субстрата с O_2 в дыхательной цепи.

Дыхательная цепь (цепь переноса электронов) представляет собой биохимическую систему во внутренней мембране митохондрий, состоящую из ряда переносчиков электронов и протонов, транспортирующих электроны от окисляющегося субстрата к вдыхаемому кислороду. Дыхательная цепь в процессе миграции по ней электронов обеспечивает постепенную (ступенчато) отдачу им своей избыточной энергии, которая частично (40-50%) переходит в энергию трансмембранного электрохимического потенциала, а затем аккумулирует в синтезирующиеся молекулы АТФ. Часть энергии электронов (50-60%) расходуется в виде тепла, что необходимо для поддержания температуры тела. Происходит сопряжение процессов биологического окисления и окислительного фосфорилирования.

Основной путь переноса электронов и протонов (полная дыхательная цепь) включает в себя 4 *ферментных комплекса*:

Комплекс 1 - называется НАДН - КоQ (убихинон)- оксидоре- дуктаза и обеспечивает передачу электронов от НАДН H^+ к КоQ.

Комплекс 2 - сукцинат - КоQ -оксидоредуктаза - катализирует перенос электронов от сукцината (ацилов жирных кислот) на КоQ.

Ферментный комплекс 3 называется КоQ Н - цитохром с - оксидоредуктаза (комплекс вс) и передает электроны от КоQ на цитохром с.

4. Ферментный комплекс 4 - цитохромоксидаза, катализирует перенос электронов от цитохрома с на кислород. В этот комплекс входят цитохром а и a_3 , содержащие два гема и два иона Si^{2+} , которые меняя валентность с Si^{2+} на Si^+ и обратно, принимают и отдают электроны на цитохром a_3 , электроны присоединяются к ионам Si^{2+} , а от них на O_2

Дыхательная цепь локализуется во внутренней мембране митохондрий и располагается ассиметрично.

Последовательность расположения компонентов дыхательной цепи определяется большей или меньшей выраженностью у них окислительной и восстановительной способности, которая характеризуется *окислительно-восстановительным потенциалом* (редокс потенциал). Чем отрицательнее редокс - потенциал, тем сильнее восстанавливающая способность, то есть способность отдавать электроны, тем большей энергией эти электроны обладают. Наибольшей окислительной способностью (принимать электроны) обладает O_2 , и его редокс-потенциал имеет наибольшую величину.

Она достигает в ЦПЭ - 1,2 в, что соответствует освобождению 220 кДж энергии в расчете на 1 моль H^+ (52,7 ккал/моль) в стандартных условиях измерения. В физиологических же условиях в клетке эти величины составляют 380 кДж или 90 ккал/моль).

Митохондриальная дыхательная цепь *укорачивается* в том случае, если субстрат дегидрируется сразу флавиновым ферментом (с коферментом ФАД). При этом электроны и протоны с такого субстрата сразу передаются через ФАД убихинону.

Редокс-потенциал у подобных субстратов выше, чем у тех, которые окисляются НАД⁺-зависимой дегидрогеназой, запас энергии у электронов меньше, поэтому трансмембранный потенциал возникает меньшей величины и вследствие этого синтезируется меньшее количество АТФ (2 молекулы).

Окислительным фосфорилированием называется синтез АТФ путем фосфорилирования АДФ, используя энергию трансмембранного электрохимического потенциала, возникающего при освобождении энергии электронов в процессе миграции их по дыхательной цепи к вдыхаемому O_2 .

Коэффициент фосфорилирования (P/O) это соотношение количества израсходованного на синтез АТФ фосфора H_3PO_4 и поглощенного O_2 . Он выражает эффективность функционирования цепи транспорта электронов: чем выше коэффициент, тем больше синтезируется АТФ в расчете на пару переносимых электронов. В полной дыхательной цепи коэффициент равен 3, в случае же укороченной равен 2.

Согласно *хемаосмотической гипотезе Митчела-Скулачева* основным фактором сопряжения окисления и фосфорилирования является *протонный градиент*. Часть энергии электронов окисленного субстрата в процессе их миграции по дыхательной цепи трансформируется в энергию трансмембранного электрохимического потенциала, создаваемого путем перекачки протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство. В дальнейшем протоны через канал сопрягающего устройства возвращаются в матрикс (закрывается протонный цикл), концентрация протонов выравнивается, мембрана разряжается, а энергия трансмембранного электрохимического градиента используется для синтеза АТФ.

Трансмембранный электрохимический потенциал и протонный потенциал, протон - движущая сила (ΔpH) - это градиент концентрации ионов водорода и электрических зарядов по обе стороны внутренней мембраны митохондрий. Этот потенциал складывается из разности электрических зарядов ($\Delta \psi$) равной около

0, 206 и градиента ионов водорода (ΔpH) - около 0,056. Общая величина $\Delta \psi = 0,25$ в. Протонный потенциал возникает путем перекачки H^+ из матрикса в межмембранное пространство за счет энергии транспорта электронов. В каждой точке сопряжения и фосфорилирования в межмембранное пространство поступает не менее 2 H^+ .

Под сопряжением понимают превращение энергии транспорта электронов в промежуточную форму - в энергию трансмембранного потенциала с последующим использованием ее для фосфорилирования АДФ, то есть синтеза АТФ. Протонный градиент создается путем выталкивания ионов водорода в трех участках дыхательной цепи: при переходе электронов с ФМН H , через FeS-белок на КоQ, при переходе электронов с КоQH₂ через FeS-белок на цитохром c; и при транспорте электронов от цитохрома a_3 к O_2 . Эти участки обозначены как пункты сопряжения.

Сопрягающее устройство является биохимической системой, осуществляющей фосфорилирование АДФ (синтез АТФ) за счет энергии протонного потенциала. Локализовано оно в грибовидных выступах внутренней мембраны митохондрий. Одна часть - это белковый канал (F_0), другая - (F_1) - это фермент H^+ -АТФ-синтетаза. Поток протонов через сопрягающее устройство сопровождается разрядом мембраны и выделением свободной энергии, обуславливает синтез АТФ из АДФ и H_3PO_4 . При этом происходит либо активирование фосфата, либо конформационные изменения белка.

Эти процессы являются общими для всех органических субстратов, именно они нарабатывают энергию для процессов жизнедеятельности, нарушение которых приводит к развитию патологических процессов. Поэтому очень важно для обучающихся ознакомиться с основами биоэнергетики, процессом биологического окисления и окислительного фосфорилирования.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Общие представления об обмене энергии: катаболические и анаболические процессы.
2. Процесс биологического окисления и сопряженного с ним окислительного фосфорилирования.
3. Цепь транспорта электронов: основные переносчики. Ферментные комплексы дыхательной цепи.
4. Токсическое действие кислорода: перекисное окисление липидов. Обезвреживание токсических форм кислорода.

Обучающийся должен уметь:

1. Провести качественную реакцию на цитохромоксидазу
2. Интерпретировать результаты эксперимента.

III. Содержание обучения Основные вопросы:

1. Понятие о биологическом окислении
2. Набор переносчиков электронов в дыхательной цепи. Проблема донора и акцептора электронов.

3. Понятие об электрохимическом потенциале.
4. Окислительное фосфорилирование, факторы, необходимые для данного процесса.
5. Теория сопряжения биологического окисления и окислительного фосфорилирования. Локализация пунктов сопряжения в дыхательной цепи.
6. Коэффициент P/O и возможные его значения.
7. Альтернативные пути переноса электронов.

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО

Кодоскоп

Доска

Водяная баня

Пробирки химические

Пипетки

Лабораторная посуда

Реактивы

Слайды

Энергетический обмен. Цепь транспорта электронов

- схема унификации энергетических субстратов
- переносчики дыхательной цепи
- ферментные комплексы дыхательной цепи
- реакции окисления в дыхательной цепи
- схема полной дыхательной цепи
- возможные варианты восстановления O.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Назовите виды энергообеспечения процессов жизнедеятельности?
2. В каких процессах в организме человека затрачивается энергия?
3. Этапы расщепления органических веществ, которые приводят к освобождению энергии.
3. Схема унификации энергетических субстратов.
4. Что такое биологическое окисление?
5. Что такое цепь транспорта электронов, ее биологическая роль и локализация в клетке?
6. Назовите основные компоненты дыхательной цепи.
7. От чего зависит последовательность расположения комплексов в дыхательной цепи? Что такое редокс-потенциал?
8. Напишите схему полной дыхательной цепи. Обозначьте места выбрасывания протонов на наружную поверхность мембраны.
8. Напишите реакцию окисления субстрата НАД⁺-зависимой дегидрогеназой.
9. Напишите реакцию окисления НАДН флавиновым ферментом.
10. Напишите реакцию окисления ФМН H, с помощью уби- хинона.
11. Напишите окисление восстановленного убихинона.
12. Что такое цитохромы? Какие разновидности участвуют в цепи транспорта электронов? Чем цитохромоксидаза отличается от цитохромов?
13. Что такое эндогенная вода? Сколько ее образуется за сутки в организме человека? Какова роль каталазы и глутатионперокси- дазы?
14. Что мы понимаем под окислительным фосфорилированием? Что такое коэффициент фосфорилирования P/O?
15. В чем суть хемиосмотической теории сопряжения окисления с фосфорилированием.
16. Что такое трансмембранный электрохимический градиент? Из каких компонентов он складывается?
17. Какие участки дыхательной цепи обеспечивают сопряжение окисления и фосфорилирования?
18. Что представляет собой сопрягающее устройство?
19. Какие вещества являются разобщающими агентами?
20. Что представляет собой укороченная Ц.Т.Э.?
21. Сколько молекул АТФ возникает при прохождении по ней электронов?
22. Что такое короткие нефосфорилированные цепи и где они функционируют?

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

Тестовый контроль

1 вопрос: Указать неверное положение в определении метаболизма.

1. Распад пищевых веществ до мономеров под действием пищеварительных компонентов.
2. Распад всосавшихся пищевых веществ и структурно-функциональных компонентов клетки до CO₂ и H₂O - катаболизм.

3. Использование энергии пищевых веществ.
4. Использование энергии структурно-функциональных компонентов клетки.
5. Синтез структурно-функциональных компонентов клетки - анаболизм.

2 вопрос: В результате пищеварения происходит:

1. Гидролиз пищевых биополимеров до мономеров.
2. Образование продуктов, лишенных видовой специфичности.
3. Всасывание продуктов, лишенных видовой специфичности.
4. Все верно.
5. Все неверно.

3 вопрос: Катаболизм и анаболизм связаны между собой:

1. Общими промежуточными метаболитами. Образующейся при катаболизме энергией.
2. Образующимися при катаболизме восстановительными эквивалентами.
3. Все верно.
4. Все неверно.

4 вопрос: Основное значение амфиболических реакций:

Гидролиз пищевых биополимеров.

Гидролиз внутриклеточных биополимеров до мономеров. Образование энергии в ходе катаболических реакций.

Связывание катаболических и анаболических процессов. Синтез специфических биополимеров.

5 вопрос: Составить пары: название биохимических процессов, их тип.

- | | |
|---|---|
| 1. Гидролиз пищевых веществ в пищеварительном тракте. | 8. Образование фосфолипидов. |
| 2. Гликолиз. | 8. Выделение CO_2 и H_2O из организма. |
| 3. Окислительное декарбоксилирование пирувата. | 23. Связывание O , в легких. |
| 4. Образование кетоновых тел. | А. Катаболизм. |
| 5. Реакции ЦТК. | Б. Анаболизм. |
| 6. Образование мочевой кислоты. | В. Амфиболический. |
| 7. Образование холестерина. | Г. Не относится ни к какому типу. |

6 вопрос: Цепь тканевого дыхания (ЦТД) или цепь транспорта электронов (ЦТЭ) это:

1. НАД^+ - зависимые дегидрогеназы.
2. НАДН - дегидрогеназы.
3. ФАД - зависимые дегидрогеназы.
4. ФАД - зависимые оксид азота.

Совокупность комплекса ферментов, транспортирующих электроны (e^-) от $\text{НАДН}^+\text{H}^+$, ФАДН , и некоторых субстратов на O , и одновременно перекачивающих H^+ из матрикса митохондрий в межмембранное пространство.

7 вопрос: ЦТЭ локализована:

1. В матриксе митохондрий.
2. Во внешней мембране митохондрий.
3. Во внутренней мембране митохондрий.
4. В мембранах эндоплазматического ретикулума (ЭР).
5. В цитозоле.

8 вопрос: Подберите пары между комплексами ферментов ЦТЭ и соответствующими названиями:

- | | |
|----------------|---|
| I - комплекс | А. Ко Q H_2 /цитохром С-оксидоредуктаза. |
| II - комплекс | Б. Цитохромоксидаза (цитохром C/O_2 - оксидоредуктаза). |
| III - комплекс | В. $\text{НАДН}/\text{КоО}$ -оксидоредуктаза. |
| IV- комплекс | Г. Сук ц и нат/ Ко Q-о кс и до ре ду кта' sa. |

9 Последовательность расположения комплексов ферментов в ЦТК обусловлена:

1. Строением комплексов ферментов.
2. Сродством комплексов ферментов к липидам мембраны.
3. Величиной их окислительно-восстановительных потенциалов.
4. Все верно.
5. Все неверно.

10 вопрос: Роль ЦТЭ заключается:

1. Восстановление O_2 .
2. Образование эндогенной H_2O .
3. Перекачивание H^+ в межмембранное пространство.
4. Образование электрохимического трансмембранного потенциала.
5. Все верно.

11 вопрос: Укажите компоненты А и H^+

1. Разность электрического потенциала (А и H^+) между матриксом митохондрий и межмембранным пространством - электрический компонент.
2. Величины окислительно-восстановительных потенциалов комплексов ферментов ЦТЭ.

3. Величина рН в матриксе митохондрий.
4. Разность концентрация H^+ (Д рН) между матриксом митохондрий и межмембранным пространством - химический компонент.
5. Верно I и 4.
- 12вопрос: Укажите комплексы ЦТЭ, образующие А ц H^+ : 1-I; 2-II; 3-III; 4-IV; 5-1,3,4.**
- 13вопрос: Трансформация А ц H^+ в АТФ происходит:**
1. I комплексе ЦТЭ.
1. II комплексе ЦТЭ.
2. III комплексе ЦТЭ.
3. IV комплексе ЦТЭ.
4. Н-АТФ -синтетазе.

Тема: Что такое окислительное фосфорилирование?

1. Окисление НАДН⁺Н⁺, ФАДН, некоторых субстратов и транспорт их на O₂.
2. Перекачивание Н⁺ от НАДН⁺Н⁺, КоQН, из матрикса митохондрий в межмембранное пространство.
3. Образование энергии мембраны в виде А ц Н⁺.
4. Аэробный митохондриальный процесс трансформации энергии в виде А ц Н⁺ в энергию АТФ.
5. Все верно.

14 вопрос: Укажите неверное положение в функции Н⁺- АТФ-азы:

1. Дозированный транспорт Н⁺ из межмембранного пространства через F₀ в F₁.
2. Образование на F₁ P : за счет связывания 2Н⁺ с НР0₄²⁻ и отнятия Н₂О.
3. Фосфорилирование АДФ с помощью P_i в АТФ на F₁
4. Транспорт АТФ из матрикса в межмембранное пространство.
5. Гидролиз АТФ в матриксе митохондрий, ведущий к повышению энергозаряженности (А ц Н⁺) мембраны.

15 вопрос: Коэффициент фосфорилирования отражает:

1. Количество перекаченных Н⁺.
2. Количество поглощенного О₂,
3. Количество синтезированного АТФ.
4. Отношение количества использованного Н₃Р0₄(на фосфорилирование АДФ в АТФ) к количеству поглощенного кислорода (O₂).
5. Все верно.

16 вопрос: Составьте пары между величинами Р/0 и реакциями окисления соответствующих коферментов (субстратов).

- | | | |
|------------------------|-------|-------------------------|
| 1. НАДН+Н ⁺ | > НАД | А-1 |
| 2. ФАДН, | > ФАД | Б-3 |
| Аскорбат ----- } | | Дегидроаскорбат ----В-2 |

18 вопрос: Укажите, на какие окислительного фосфорили-

1. СО, СN
2. Антимисин А.
3. Мало новая кислота.
4. Барбитураты, прогестерон.
5. Олигомицин.

комплексы ферментов действуют ингибиторы ЦТЭ и лирования:

- А - I-комплекс;
Б - II-комплекс В
- III-комплекс; Г
-IV-комплекс; Д-
Н⁺АТФ-аза.

19 вопрос: Выработка АТФ

1. При ингибировании ферментов цпэ.
2. При ингибировании окислительного фосфорилирования.
3. При разобщении окислительного фосфорилирования.
4. Все верно.
5. Верно I и 2.

окислительным фосфорили- рованием снижается:

20 вопрос: Разобщение окислительного фосфорилирования - это:

1. Торможение транспорта е в ЦТЭ.
2. Торможение синтеза АТФ.
3. Нарушение образования А ц Н⁺, приводящее к усилению транспорта е и снижению синтеза АТФ.
4. Все верно.
5. Верно 1 и 2.

21 вопрос: Составить пары между

- | | |
|------------------------------|-----------------|
| А ПГ/ЛТ/ЛТТЛ/Л\МЛТ T-спирт. | А. Протонофоры; |
| 2. Свободные жирные кислоты. | Б. Ионифор; |
| 3. Валиномицин, грамицидин. | В. Детергенты. |

названиями веществ и типами разобщителей:

22 вопрос: Указать причину

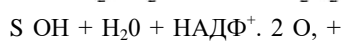
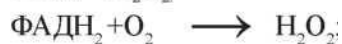
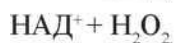
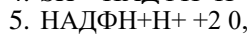
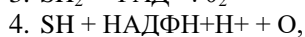
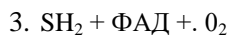
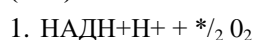
1. Ускорение транспорта е.
2. Торможение синтеза АТФ.
3. Рассеивание энергии усиленного окисления в виде тепла.
4. Все верно.
5. Верно 1, 2.

пирогенного эффекта при действии разобщителей.

23 вопрос: Процессы разобщения наиболее активно протекают:

1. В адипоцитах.
2. В бурой жировой ткани.
3. В скелетных мышцах.
4. В печени.
5. Верно 2,3,4.

24 вопрос: Указать реакцию микросомального окисления (МО):



25 вопрос: Где локализовано

микросомальное окисление?

1. В цитозоле.

2. В митохондриях.

3. В цитоплазматической мембране.

4. В эндоплазматическом ретикулуме.

5. В ядре.

26 вопрос: Укажите активные формы кислорода, обезвреживаемые следующими ферментами:

1. Супероксиддисмутаза.

2. Каталаза. А. H_2O_2 ;

3. Глутатионпероксидаза. Б. O_2 ;

4. Глутатионредуктаза В. Ни то, ни другое.

НАДФН-оксидаза.

27 вопрос: Составьте пары между соединениями и их про- оксидантным или антиоксидантным эффектом.

Вит. Д.

А. Прооксиданты;

НАДФН⁺Н⁺.

Б. Антиоксиданты.

Fe²⁺.

Se²⁺.

Вит А.

Вит. Е.

Стероидные гормоны.

Альбумины.

Ответы:

1 вопрос: 1.

2 вопрос: 4.

3 вопрос: 4.

4 вопрос: 4.

5 вопрос: 1-Г; 2-А; 3-А; 4-А; 5-В; 6-А; 7-Б; 8-Б; 9-Г; 10-Г.

6 вопрос: 5.

7 вопрос: 3.

8 вопрос: 1-В. 2-Г, 3-А, 4-Б.

9 вопрос: 3.

10 вопрос: 5.

11 вопрос: 5.

12 вопрос: 5.

13 вопрос: 5.

14 вопрос: 4.

15 вопрос: 4

16 вопрос: 4.

17 вопрос: 1-Б; 2-В; 3-А.

18 вопрос: 1-Г, 2-В, 3-Б, 4-А, 5-Д.

19 вопрос: 4.

20 вопрос: 3.

21 вопрос: 1-Д, 2-А, 3-Б.

22 вопрос: 3.

23 вопрос: 5.

24 вопрос: 4.

25 вопрос: 4.

26 вопрос: 1-Б, 2-А, 3-А, 4-В, 5-В.

27 вопрос: 1-А; 2-А; 3-А; 4-Б; 5-Б; 6-Б; 7-Б; 8-Б.

Решите ситуационные задачи

Задача № 1

В суспензию митохондрий добавили малат и АДФ. Как будут изменяться концентрации этих веществ при инкубации? Какие продукты из них образуются? Какие ферменты катализируют эти реакции? Какой может быть максимальная

величина коэффициента P/O ?

Задача № 2

В суспензию митохондрий добавили малат, АДФ.и 2,4 динитрофенол. Как будут изменяться концентрации этих веществ при инкубации? Какие продукты из них образуются? Какие ферменты катализируют эти реакции? Какой может быть максимальная величина коэффициента P/ O

VIII. Хронокарта учебного занятия

1. Общий бюджет времени - 3 часа (135 минут)
2. Устный разбор материала - 60 мин
3. Проверка конечного уровня знаний - 20 мин
4. Лабораторная работа - 45 мин
5. Оформление протоколов - 10 мин

IX. Вопросы для самостоятельного изучения

1. Токсическое действие кислорода: перекисное окисление липидов.
2. Обезвреживание токсических форм кислорода.

X. Список используемой литературы:

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980

Тема: Цикл трикарбоновых кислот. Определение цитохромоксидазы в мышечной ткани.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Общим метаболитом, который образуется из аминокислот, глюкозы и жирных кислот является ацетилКоА.

Освобождение энергии в организме человека это многоступенчатый процесс, включает три основных этапа:

Расщепление полимеров (углеводов, белков, липидов) в желудочно-кишечном тракте до мономеров: моносахаридов, жирных кислот и глицерина, аминокислот и других веществ.

Превращение мономеров в промежуточные соединения, которое происходит в клетках тканей, то есть специфические пути катаболизма: глюкоза, глицерин, аминокислоты превращаются в пируват, а пируват окисляется до ацетил Ко А. Жирные кислоты в процессе р-окисления продуцируют ацетил КоА, аминокислоты распадаются до следующих метаболитов: α-кетоглутарата, оксалоацетата, фумарата, сукцинил КоА.

Общие пути катаболизма: биологическое окисление, сопряженное с окислительным фосфорилированием и ЦТК, в которых полностью окисляется ацетил КоА до 2 CO₂ и H₂O. При этом в реакциях окисления отщепляются протоны и электроны, переносящиеся в дыхательной цепи и генерирующие энергию АТФ.

Таким образом, в результате путей унификации энергетических субстратов образуется один общий метаболит, основной субстрат цикла Кребса - ацетил КоА. Он может поступить в ЦТК (цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса, лимоннокислый цикл), использоваться в синтезе холестерина, жирных кислот и кетонных тел.

Цикл Кребса - это центральный метаболический путь углерода, входящего в состав всех основных классов биомолекул и основной источник метаболической энергии в форме АТФ. Это «котел», в котором сгорают белки, липиды, углеводы. Это основной процесс, который поставляет ионы водорода для цепи транспорта электронов для продукции энергии в виде АТФ. Ни один энергодающий процесс в организме человека, не происходит без участия ЦТК.

ЦТК - это циклический процесс, так как он начинается с конденсации оксалоацетата и ацетил КоА и заканчивается образованием оксалоацетата. Протекает в матриксе митохондрий и состоит из 8 стадий.

Катаболическая роль ЦТК заключается в том, что в результате взаимодействия ацетил КоА с оксалоацетатом в серии реакций освобождается 2 молекулы CO₂ и генерируется оксалоацетат, а так же образуются восстановленные эквиваленты в виде 3 молекул НАДН⁺ и 1 молекулы ФАДН.

НАД⁺ и ФАД регенерируются путем транспорта электронов в цепи реакций, в которой терминальным акцептором электронов служит кислород. Именно поэтому цикл лимонной кислоты представляет собой аэробный (кислородзависимый) путь. Энергоценность ЦТК-12 молекул АТФ, из них 11 молекул образуется в результате окислительного фосфорилирования и 1 молекула АТФ путем субстратного фосфорилирования.

ЦТК выполняет также амфиболическую роль, которая заключается в следующем: цитрат, α-оксоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат в ЦТК превращаются в оксалоацетат, а из оксалоацетата может образоваться глюкоза; цитрат участвует в процессах синтеза жирных кислот; цитрат способен связывать ионы кальция и участвовать в процессах его переноса и отложения, (минерализации); путем трансаминирования из оксалоацетата образуется аспарагиновая кислота, которая используется в биосинтезе пиримидинов, а из α-оксоглутарата - глутаминовая кислота; сукцинил КоА участвует в синтезе порфиринов (гема); сукцинил КоА является донором HS КоА в реакции образования активной формы ацетоацетата (кетонное тело); ацетилКоА представляет собой метаболический источник всех атомов углерода, используемых в синтезе жирных кислот, каротиноидов и стероидов; энергия АТФ используется в реакциях анаболизма.

ЦТК - это регулируемый процесс. К регуляторным ферментам относятся: цитратсинтаза, изоцитратдегидрогеназа, α-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс. Положительными аллостерическими эффекторами (активаторами этих ферментов) являются - НАД⁺, АДФ и АМФ; ингибиторами этих ферментов являются НАДН⁺, АТФ, сукцинил Ко А.

Нарушение функционирования данного процесса, изменение концентрации субстратов приводит к различным патологическим процессам, нарушению образования АТФ. Поэтому Обучающийся необходимо знать и понимать всю важность данного процесса, его химизм и регуляцию.

II. Цель деятельности Обучающихся на занятии.

Обучающийся должен знать:

1. Схему катаболизма основных пищевых веществ.
2. Цикл Кребса: последовательность реакций, характеристику ферментов.
3. Связь ЦТК и ЦТЭ. Регуляцию.
4. Анаболическую роль ЦТК.

Обучающийся должен уметь:

1. Определить активность сукцинатдегидрогеназы и изучить конкурентное ее ингибирование.

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

1. Пути унификации энергетических субстратов.
2. Цикл Кребса - общий путь катаболизма белков, жиров, углеводов.
3. Химические реакции цикла трикарбоновых кислот, краткая их характеристика.
4. Ферменты, катализирующие реакции цикла Кребса и краткая их характеристика.

5. Связь реакций цикла Кребса с дыхательной цепью.
6. Постадийный и общий энергетический эффект цикла Креб-

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО.

Таблицы

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Какой общий метаболит образуется из аминокислот, глюкозы и жирных кислот?
2. Какова дальнейшая судьба ацетил КоА?
3. Что такое ЦТК?
4. Почему процесс называется циклическим (циклом)?
5. Где протекает ЦТК?
6. Из скольких стадий состоит ЦТК?
7. Какова катаболическая роль ЦТК?
8. Как происходит регенерация окисленных форм коферментов НАД⁺ и ФАД?
9. Какой фермент среди ферментов ЦТК локализован на внутренней митохондриальной мембране.
10. Напишите стадию ЦТК в ходе которой прямо выделяется энергия метаболизма (субстратное фосфорилирование)
11. Назовите второй путь регенерации ГДФ.
12. Какие ферменты и коферменты участвуют в реакции окислительного декарбоксилирования α-оксоглутаровой кислоты?
13. Какие витамины участвуют в реакциях ЦТК?
14. Назовите регуляторные ферменты ЦТК.
15. Назовите положительные аллостерические эффекторы (активаторы этих ферментов).
16. Назовите ингибиторы этих ферментов.
17. Какова энергоценность ЦТК?
18. Назовите субстраты, которые являются донорами атомов водорода для функционирования дыхательной цепи.
19. В чем заключается амфиболическая роль ЦТК?
20. Какие последствия может иметь удаление интермедиатов из цикла ЦТК для использования в реакциях синтеза?
21. Как предотвращается такая возможность?
22. Назовите одну из наиболее важных реакций такого типа.

V. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1 вопрос: При катаболизме АМК, глюкозы глицерола и свободных жирных кислот (СЖК) образуется общий метаболит:

1. Пируват.
2. Лактат.
3. Ацетил-Ко-А.
4. Ацетоацетил-КоА.
5. Оксалоацетат.

2 вопрос: В цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) полностью расщепляется:

- Пируват.
Лактат.
Ацетил-Ко-А.
Ацетоацетил-Ко-А.
2-оксоглутарат.

3 вопрос: Метаболическим процессам подобрать соответствующее определение:

- | | |
|--|------------------------------------|
| 1. Распад АМК до пирувата. | А. Специфический путь катаболизма. |
| 2. Распад глюкозы до пирувата. | Б. Общий путь катаболизма. |
| 3. Распад глицерола до пирувата. | В. _____ |
| 4. Распад СЖК до ацетил-КоА. | _____ Ни _____ то, _____ ни _____ |
| 5. Распад АМК до ацетил-КоА. | _____ |
| 6. Превращение пиру вата в ацетил-КоА. | _____ |
| 7. Распад ацетил-КоА до С02 и Н20. | _____ |
| 8. Превращение ацетил-КоА в холестерол | _____ |

4 вопрос: Укажите последовательность (1-8) метаболитов ЦТК.

- | | |
|------------------|---|
| А. Цитрат | 1 |
| Б. Изо цитрат | 2 |
| В. Сукцинат | 3 |
| Г. Малат | 4 |
| Д. Оксалоацетат. | 5 |
| Е. Фумарат | 6 |
| Ж. Сукцинил-КоА | 7 |

5 вопрос: Указать локализацию ЦТК в клетке:

1. Плазматическая мембрана.
2. Цитозоль.
3. Митохондриальные мембраны.
4. Митохондриальный матрикс.
5. Эндоплазматический ретикулум (ЭР).

6 вопрос: Составьте пары между субстратами ЦТК и генерируемыми НАДН⁺(Н⁺) и ФАДН₂.

- | | |
|--------------------|------------------------|
| 1. Оксалоацетат | А. ФАДН ₂ , |
| 2. Цитрат | Б. |
| 3. Изоцитрат | В. Ни тот, |
| 4. 2-оксоглутарат. | другой |
| 5. Сукцинил-КоА | Г. Оба. |
| 6. Сукцинат. | |
| 7. Фумарат. | |
| 8. Малат | |

7 вопрос: Какой метаболит ЦТК образует макроэргический фосфат субстратным фосфорилированием:

1. Оксалоацетат.
2. Цитрат. Изоцитрат.
3. 2-оксоглутарат.
4. Сукцинил-КоА.
5. Сукцинат.
6. Фумарат.
7. Малат.

8 вопрос. Указать 2 метаболита ЦТК, при декарбоксилировании которых освобождается CO₂:

1. Оксалоацетат.
2. Цитрат.
3. Изоцитрат.
4. 2-оксоглутарат.
5. Сукцинил Ко А.
6. Сукцинат.
7. Фумарат.
8. Малат.

9 вопрос: Указать неверное положение в катаболической роли ЦТК:

1. Интеграция катаболизма АМК, глюкозы, глицерола, СЖК.
2. Генерация восстановленных коферментов: НАДН⁺ и ФАДН₂.
3. Образование 2CO₂.
4. Образование кетоновых тел.
5. Образование I макроэргического фосфата субстратным фосфорилированием.

10вопрос: Амфиболическая роль ЦТК. Составьте пары между метаболитами ЦТК и синтезируемыми из них веществами.

- | | |
|-------------------|---------------------------|
| 1. Оксалоацетат | А. Гем |
| 2. Цитрат | Б. Минерализованные ткани |
| 3. 2-оксоглутарат | В. Глюкоза |
| 4. Сукцинил-КоА | Г. Аси |

Д. Глу Е. СЖК

синтезироваться в реакциях ЦТК?

11 вопрос: Сколько АТФ может

- | | |
|----------------------------------|-----------|
| 1. Оксалоацетат - цитрат | А - 3 АТФ |
| 2. Цитрат - изоцитрат | Б - 2 АТФ |
| 3. Изоцитрат - 2-оксоглутарат | В - 1 АТФ |
| 4. 2-оксоглутарат - сукцинил-КоА | Г - Ни |
| 5. Сукцинил-КоА - сукцинат | одной |
| 6. Сукцинат - фумарат | |
| 7. Фумарат - малат | |
| 8. Малат - оксалоацетат | |

Ответы на тестовые задания

1 вопрос: 3.

2 вопрос: 3.

3 вопрос: 1-А, 2-А, 3-А, 4-А, 5-А, 6-Б, 7-Б, 8-В.

4 вопрос: 1-Д, 2-А, 3-Б, 4-3, 5-Ж, 6-В, 7-Е, 8-Г.

5 вопрос: 4.

6 вопрос: 1-В, 2-В, 3-Б, 4-Б, 5-В, 6-А, 7-В, 8-Б.

7 вопрос: 5.

8 вопрос: 3 и 4.

9 вопрос: 4.

10 вопрос: 1-В, 1-Г, 2-Б, 2-Е, 3-Д, 4-А.

11 вопрос: 1-Г, 2-Г, 3-А, 4-А, 5-В, 6-Б, 7-Г, 8-А.

VIII. Хронокарта учебного занятия

1. Общий бюджет времени - 3 часа (135 минут)

2. Устный разбор материала - 60 мин

3. Проверка конечного уровня знаний - 20 мин

4. Лабораторная работа - 45 мин.

5. Оформление протоколов - 10 мин

IX. Самостоятельная работа Обучающийся

1. Анаболическая функция ЦТК

2. Изменение ЦТК в условиях гипоксии

X. Список используемой литературы:

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можасва, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Образование активных форм кислорода. Перекисное окисление.

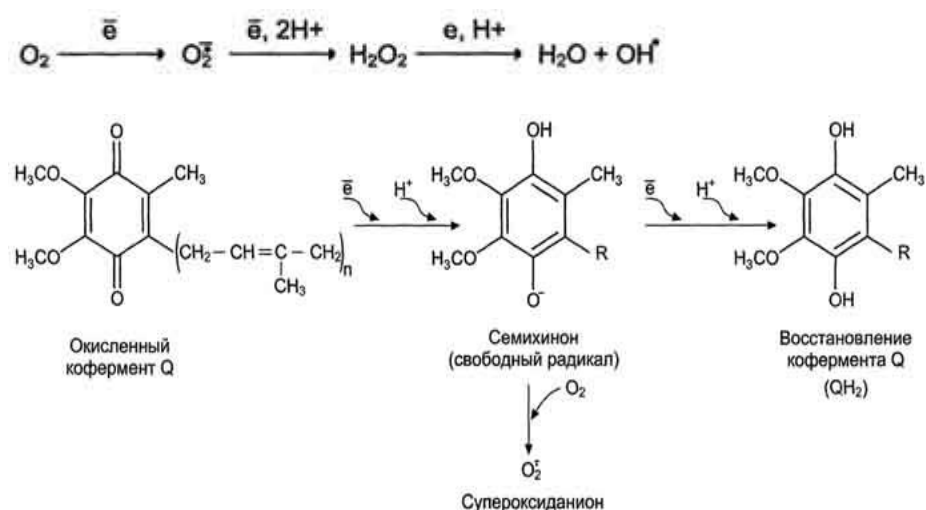
Научно-методическое обоснование темы:

Кислород, необходимый аэробным организмам для функционирования ЦПЭ и различных других реакций, может проявлять разную степень окисления, приобретая высокую реакционную активность. Это токсические формы кислорода, и в организме они представлены:

- OH^\bullet - гидроксильный радикал;
- O_2^\bullet - супероксидный анион;
- H_2O_2 - пероксид водорода.

В стабильном состоянии в организме кислород находится в виде молекулярного кислорода и кислорода воды (O_2 и H_2O). эндогенная вода образуется в ЦПЭ при восстановлении молекулы кислорода 4-мя электронами. Однако транспорт электронов осуществляется последовательно, по 1 электрону, что способствует образованию промежуточных активных радикалов, способных взаимодействовать с O_2 , образуя токсические его формы. Например, семихинон. Кофермент Q в ЦПЭ принимает от доноров последовательно по одному электрону, превращаясь в форму семихинона.

Этот радикал может непосредственно взаимодействовать с кислородом, образуя супероксидный анион, который, в свою очередь, может превращаться в другие активные формы кислорода:



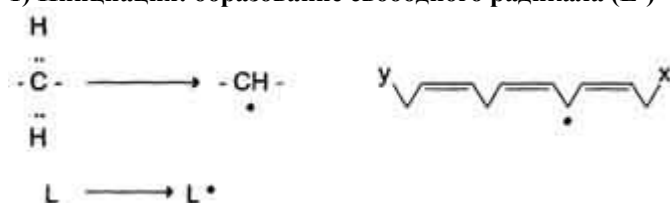
Активные формы кислорода образуются также при микросомальном окислении, фагоцитозе, катаболизме некоторых метаболитов. Активные формы кислорода при взаимодействии с большинством органических молекул отнимают от них электрон, инициируют таким образом цепные реакции окисления.

Перекисное окисление липидов

ПОЛ - цепные реакции, обеспечивающие расширенное воспроизводство свободных радикалов, частиц, имеющих неспаренный электрон, которые инициируют дальнейшее распространение перекисного окисления.

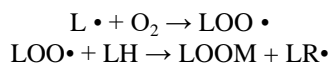
Стадии перекисного окисления липидов

1) Инициация: образование свободного радикала (L^\bullet)



Иницирует реакцию чаще всего гидроксильный радикал, отнимающий водород от CH_2 -групп полиеновой кислоты, что приводит к образованию липидного радикала.

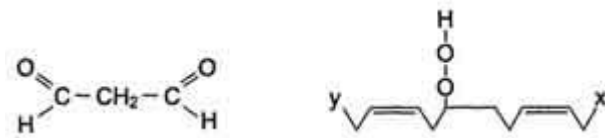
2) Развитие цепи:



Развитие цепи происходит при присоединении O_2 , в результате чего образуется липопероксирадикал $\text{LOO} \cdot$ или пероксид липида LOOH .

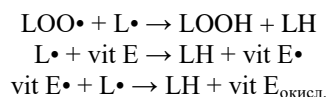
ПОЛ представляет собой свободнорадикальные цепные реакции, т.е. каждый образовавшийся радикал иницирует образование нескольких других.

3) Разрушение структуры липидов



Конечные продукты перекисного окисления полиеновых кислот - малоновый диальдегид и гидропероксид кислоты.

4) Обрыв цепи - взаимодействие радикалов между собой:



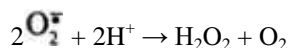
Развитие цепи может останавливаться при взаимодействии свободных радикалов между собой или при взаимодействии с различными антиоксидантами, например, витамином E, который отдаёт электроны, превращаясь при этом в стабильную окисленную форму.

Повреждение клеток в результате перекрестное окисления липидов

Активные формы кислорода повреждают структуру ДНК, белков и различные мембранные структуры клеток. В результате появления в гидрофобном слое мембран гидрофильных зон за счёт образования гидропероксидов жирных кислот в клетки могут проникать вода, ионы натрия, кальция, что приводит к набуханию клеток, органелл и их разрушению.

Ферменты антиоксидантного действия

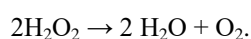
К ферментам, защищающим клетки от действия активных форм кислорода, относят супероксиддисмутазу, каталазу и глутатионпероксидазу; Наиболее активны эти ферменты в печени, надпочечниках и почках, где содержание митохондрий, цитохрома P_{450} и пероксиом особенно велико. Супероксиддисмутаза (СОД) превращает супероксидные анионы в пероксид водорода:



Изоферменты СОД находятся и в цитозоле и в митохондриях и являются как бы первой линией защиты, потому что супероксидный анион образуется обычно первым из активных форм кислорода при утечке электронов из дыхательной цепи.

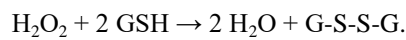
СОД - индуцируемый фермент, т.е. синтез его увеличивается, если в клетках активируется перекисное окисление.

Пероксид водорода, который может иницировать образование самой активной формы $\text{OH} \cdot$, разрушается ферментом каталазой:



Каталаза находится в основном в пероксисомах, где образуется наибольшее количество пероксида водорода, а также в лейкоцитах, где она защищает клетки от последствий "респираторного взрыва" (см. раздел 6).

Глутатионпероксидаза - важнейший фермент, обеспечивающий инактивацию активных форм кислорода, так как он разрушает и пероксид водорода и гидропероксиды липидов. Он катализирует восстановление пероксидов с помощью трипептида глутатиона (γ -глутамилцистеинилглицин). Сульфгидрильная группа глутатиона (GSH) служит донором электронов и, окисляясь, образует дисульфидную форму глутатиона, в которой 2 молекулы глутатиона связаны через дисульфидную группу.



Окисленный глутатион восстанавливается глутатионредуктазой:



Глутатионпероксидаза, которая восстанавливает гидропероксиды липидов в составе мембран, в качестве кофермента использует селен (необходимый микроэлемент пищи). При его недостатке активность антиоксидантной защиты снижается. Источником восстановительных эквивалентов для этого фермента является пентозофосфатный цикл.

Витамины, обладающие антиоксидантным действием

Витамин Е (α -токоферол) - наиболее распространённый антиоксидант в природе.

Витамин С (аскорбиновая кислота) также является антиоксидантом и участвует с помощью двух различных механизмов в ингибировании ПОЛ. Во-первых, витамин С восстанавливает окисленную форму витамина Е и таким образом поддерживает необходимую концентрацию этого антиоксиданта непосредственно в мембранах клеток. Во-вторых, витамин С, будучи водорастворимым витамином и сильным восстановителем, взаимодействует с водорастворимыми активными формами кислорода - $\text{O}_2^{\cdot -}$, H_2O_2 , $\text{OH}\cdot$ и инактивирует их.

β -**Каротин**, предшественник витамина А, также обладает антиоксидантным действием и ингибирует ПОЛ.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Токсические формы кислорода.
2. Перекисное окисление липидов. Стадии.
3. Обезвреживание токсических форм кислорода.

Обучающийся должен уметь:

1. Написать стадии перекисного окисления липидов
2. Определить активность каталазы в сыворотке крови
3. Написать и объяснить механизм антиоксидантной защиты витаминов Е и С.

III. Содержание.

Основные вопросы:

1. Активные формы кислорода
2. Источники активных форм кислорода
3. Перекисное окисление липидов
4. Стадии перекисного окисления липидов (инициация, образование свободного радикала ($\text{L}\cdot$), развитие цепи, разрушение структуры липидов)
5. Повреждение клеток в результате перекрестное окисления липидов
6. Системы защиты клеток от активных форм кислорода (ферментативные и неферментативные звенья антиоксидантной защиты).

VI. Список используемой литературы:

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003

3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаява, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

18. Углеводы, их биологическая роль. Классификация и номенклатура углеводов. Структура и свойства моно- и полисахаридов. Важнейшие представители, физиологическая роль. Переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте. Качественные реакции на определение свойств моно-, олиго- и полисахаридов. Научно-методическое обоснование темы:

Углеводы являются полиоксиальдегидами (альдозы) или полиоксикетонами (кетозы) и их производными. Большинство углеводов имеют эмпирическую формулу $(C_nH_{2n}O_n)$ но не все они удовлетворяют этому соотношению. В организме человека и высших животных углеводы выполняют прежде всего энергетическую и пластическую функции, они также необходимы для функционирования генетического аппарата (пентозы в нуклеиновых кислотах) для биологического катализа (пентозы в коферментах), для детоксикационных процессов (парные синтезы с участием глюкуроновой кислоты), для иммунологических регуляторных процессов (углеводы в составе иммуноглобулинов, рецепторов и ряда гормонов), для смазки трущихся поверхностей. По химической структуре углеводы делят на три основных класса: моносахариды, олигосахариды и полисахариды



триозы (C_3)

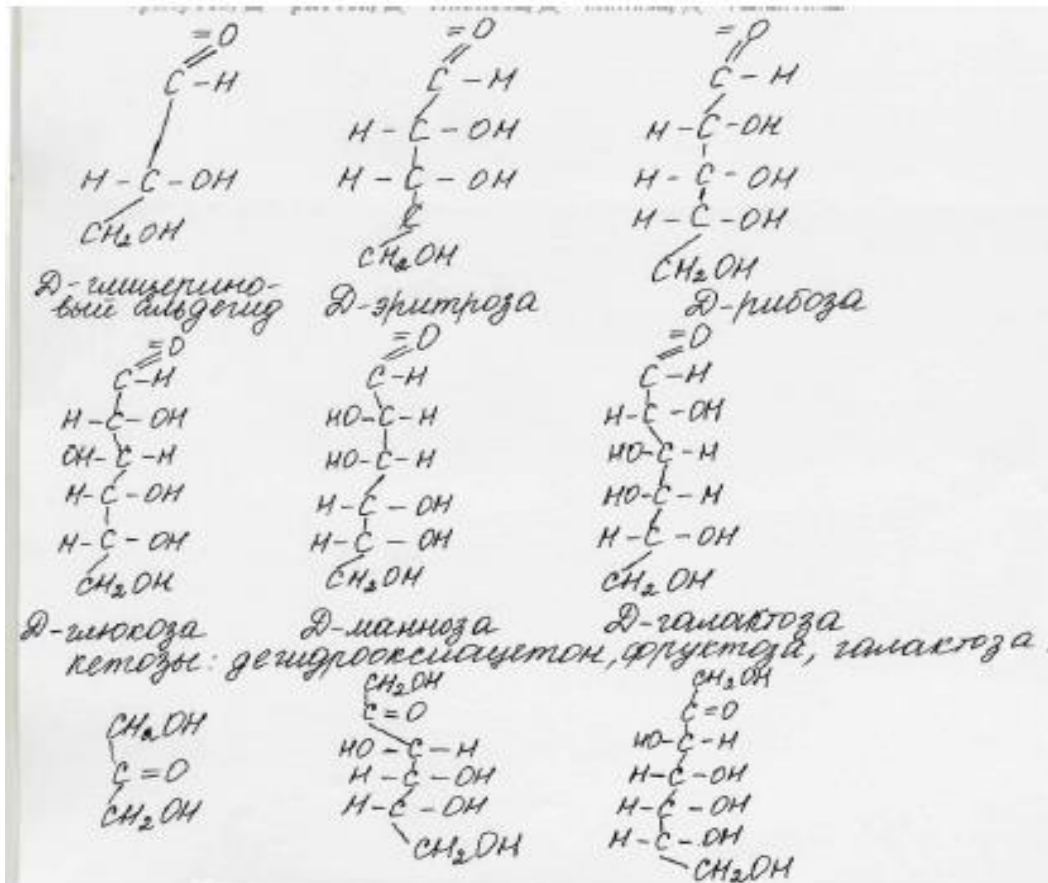
тетрозы (C_4)

пентозы (C_5)

гексозы (C_6)

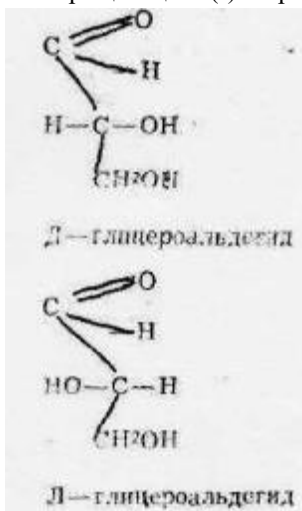
гептозы (C_7)

Моносахариды - это простейшие углеводы, в названии которых имеется окончание -оза. Наиболее распространены альдозы: D-глицериновый альдегид, D-эритроза, D-рибоза, D-глюкоза, D-манноза, D-галактоза.



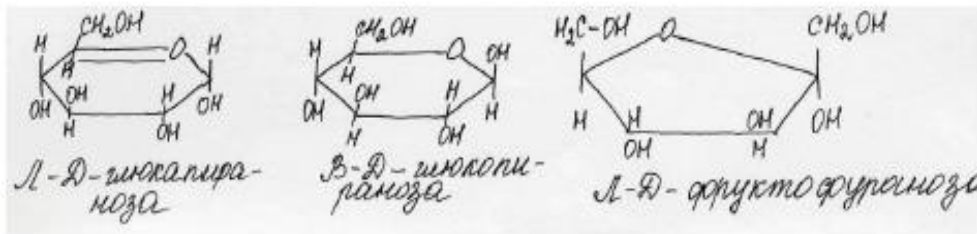
Изомерия моносахаридов обусловлена: наличием альдегид-ной и кетонной группы (альдозы и кетозы), присутствием центра (возникновением оптически активных стереоизомеров (D и L формы), образованием циклических структур, появлением аномального хирального атома углевода в процессе циклизации (α и β-аномеры), возможностью вращения атомных групп вокруг одинарных связей (конформационная изомерия).

D и L-конфигурации (зеркальные изомеры) отличаются расположением гидроксильной группы у последнего хирального атома углерода. Обе конфигурации могут быть в виде левовращающего (-) и правовращающего (+) изомера.



Все природные углеводы, в основном D-ряда. Моносахариды (C_6 и выше) как гетерофункциональные соединения способны на внутримолекулярное взаимодействие между карбонильной и спиртовой группой с образованием циклических полуацеталей шестичленных и пятичленных фураноз. Каждый твердый препарат углеводов представляет собой какую-либо циклическую форму, но при растворении эта форма может превращаться в другие циклические структуры до достижения определенного их соотношения, при этом меняется величина удельного вращения раствора

этот процесс называется мутаротацией. Например, глюкоза находится в растворе преимущественно в виде L- и β-глюкопираноз, а фруктоза больше в виде фуранозного цикла.



Полуацетатный гидроксил альдоз отличается реакционной способностью и может замещаться с образованием гликозидов.

Наиболее распространенные олигосахара - дисахариды, состоящие из двух моносахаридов, соединенных гликозидной связью. Мальтоза (солодовый сахар) - состоит из двух остатков α -D-глюкопираноз, соединенных α -1-4-гликозидной связью, лактоза (молочный сахар) состоит из остатка α -D-глюкозы и β -D- галактозы, соединенных 1,4-гликозидной связью. И мальтоза, и лактоза имеют свободный полуацетальный гидроксил и обладают редуцирующими свойствами. В отличие от них сахароза (тростниковый или свекольный сахар) не имеет свободной полуацетальной группы, состоит из остатков α -D-глюкопиранозы β -D- фруктофуранозы, не обладает редуцирующими свойствами.

К сложным углеводам относятся полисахариды, которые делятся на гомополисахариды (состоят из одинаковых остатков моносахаридов); кислые и нейтральные гетерополисахариды (состоящие из мономерных единиц разного типа). Наиболее распространенные гомополисахариды - это резервный полисахарид растений - крахмал, состоит смеси двух полимеров α -D-глюкозы, неразветвленной амилозы (с α -1-4 гликозидной связью), и разветвленного амилопектина (где остатки глюкозы соединены α -1,4 гликозидной связью, а в местах ветвления α -1,6 гликозидной связью).

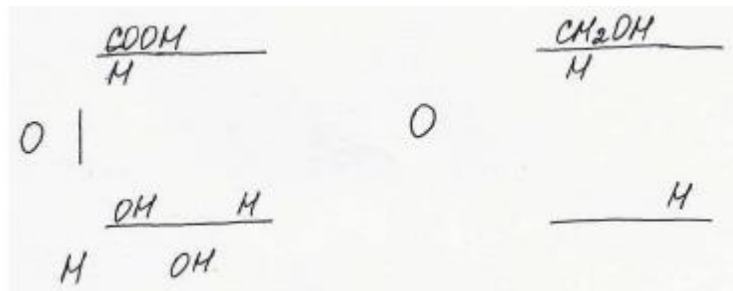
Гликоген (резервный полисахарид человека и высших животных) подобен по своей структуре амилопектину, но более разветвлен и компактен (содержится в печени и мышцах).

Клетчатка (целлюлоза) - самый распространенный на земле углевод растений - полисахарид, образованный β -D-глюкозой, соединенных β -1,4 гликозидной связью, в виде неразветвленной цепи.

Полисахаридбелковые комплексы - делятся на протеогликаны (до 95% их массы приходится на долю углеводного компонента) и гликопротеины, в которых доля углеводной массы составляет несколько %. В протеогликанах углеводный компонент является полисахаридом (кислые гликозамингликаны) содержащие уоновые кислоты, часто и серную кислоту, представляют собой длинные линейные цепи с повторяющимися дисахаридными фрагментами. Связь с белковой молекулой как ковалентная, так

и электростатическая. В состав кислых гликозаминогликанов могут входить гексозамины, уроновые кислоты, уксусная кислота, серная кислота, небольшое количество гексоз (галактоза и иногда сиаловые кислоты).

Гиалуроновая кислота состоит из чередующихся (ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты, связанных β -1-4 и β -1-3 гликозидными связями. Общее число мономерных единиц (в молекуле гиалуроновой кислоты) достигает нескольких тысяч, участвует в образовании протеогликановых агрегатов, находящихся в межклеточном веществе соединительной ткани кожи, хряща и др. тканей. Фрагмент гиалуроновой кислоты:



Протеогликановые агрегаты включают в себя полипептидные цепи, хондроитинсульфат, кератансульфат, гепарин и т. д.

Кератансульфат включает в свою структуру ацетилглюкозамин, серную кислоту, галактозамин, сиаловые кислоты (связь β (1-4) и β (1-3)). *Гепарин* состоит из глюкуронат-сульфата, ацетилглюкозаминсульфата, уроновой и идурановой кислоты. Обнаруживается гепарин во многих тканях.

Протеогликановые агрегаты включают в себя полипептидные цепи, хондроитинсульфат, кератансульфат, гепарин и т. д.

Кератансульфат включает в свою структуру ацетилглюкозамин, серную кислоту, галактозамин, сиаловые кислоты (связь β (1-4) и β (1-3)). *Гепарин* состоит из глюкуронат-сульфата, ацетилглюкозаминсульфата, уроновой и идурановой кислоты. Обнаруживается гепарин во многих тканях.

ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ.

Многие ткани обладают специфической потребностью в глюкозе, которая не обязательно должна поступать с пищей, поскольку в нее легко превращаются другие пищевые углеводы в процессе переваривания. Суточная потребность организма в углеводах составляет 6-7 г. на кг массы тела, а минимальное дневное потребление, предотвращающее кетоз и потерю мышечного белка у человека - 50-100 г. Грудной ребенок должен получать 10-15 г. углеводов на 1 кг/массы тела. Дети старшего школьного возраста - 15 г на кг тела при усиленной мышечной работе. Основным источником углеводов является пища растительного и животного происхождения. Мучные изделия, крупы и картофель поставляют крахмал, пищевой сахар и свекла - сахарозу, злаки - мальтозу, фрукты и мед - фруктозу и глюкозу. Продукты животного происхождения являются источниками лактозы и гликогена.

Пищевые дисахариды (мальтоза, лактоза, сахароза) и полисахариды (крахмал и гликоген) гидролизуются гликозидазами пищеварительного тракта до мономеров. Полисахариды подвергаются этому процессу ступенчато и поэтому освобождение глюкозы происходит постепенно. Крахмал начинает гидролизываться в ротовой полости α -амилазой слюны, которая секретируется слюнными железами, до крупномолекулярных декстринов, т. к. фермент атакует внутренние гликозидные связи. После попадания пищи в желудок действие слюнной амилазы прекращается, т.к. пищевой комок пропитывается кислотой, инактивирующей фермент (рН - оптимум амилазы - 6,9-7,0). Крахмал, декстрины, гликоген перевариваются до мономеров в тонком кишечнике панкреатической амилазой до олигосахаридов (разрушаются 1,4 гликозидные связи). Сохранившиеся в точках ветвления 1,6 гликозидные связи гидролизуются панкреатическими амило-1,6- или олиго-1,6- гликозидазами. Мальтоза, лактоза и сахароза гидролизуются соответственно мальтазой, лактазой, сахаразой, синтези-

рованными клетками кишечника на поверхности клеточных мембран (пристеночное пищеварение) или внутриклеточно. Продуктами полного переваривания углеводов пищи являются: глюкоза, фруктоза, галактоза.

Трансцеллюлярный транспорт моносахаридов включает в себя пассивную диффузию и вторично активный транспорт. Пассивно диффундируют молекулы пентоз (кроме ксилозы), а также спирты. Вторично-активный транспорт характерен для галактозы, глюкозы, фруктозы, маннозы и ксилозы. Через мукозную поверхность моносахариды абсорбируются по градиенту концентрации из полости тонкого кишечника в энтероцит. Для ускорения этого переноса функционируют специализированные мембранные белковые переносчики. Этот процесс является облегченной диффузией. Сульфгидрильная группа переносчика гликозилируется на наружной поверхности апикальной мембраны энтероцита, а к другому участку переносчика присоединяется ион Na^+ . В результате меняется конформация переносчика и глюкоза транспортируется в энтероцит. Эффективность всасывания происходит с различными скоростями. По уменьшению скорости всасывания моносахариды распределяются следующим образом: галактоза - глюкоза - фруктоза - манноза - ксилоза - арабиноза. Глюкоза, галактоза и ксилоза переносятся одной и той же транспортной системой, что объясняет существование конкурентного торможения всасывания (например, галактоза подавляет транспорт глюкозы).

Через базолатеральную мембрану энтероцита Na^+ активно выталкивается АТФазой за счет энергии гидролиза АТФ, создается градиент, обратный направлению транспорта глюкозы в клетку. Эта энергия гидролиза АТФ используется и для транспорта глюкозы

Таким образом, активный перенос глюкозы через базолатеральную мембрану энтероцита обеспечивается энергосистемами натриевого насоса против градиента концентрации. Этот механизм активного транспорта сходен с ферментативными процессами связывания субстрата с активным центром специализированного белка, скорость соответствующих реакций зависит от концентрации белка-фермента или белка-носителя, то есть для них характерен феномен «насыщения». Различие заключается в том, что при активном транспорте субстрат не изменяется, тогда как при ферментативной реакции субстрат превращается в продукт реакции.

В процессе всасывания моносахариды попадают из энтероцита в портальную систему и печень. Важнейшие пищевые гексозы

- глюкоза, галактоза, фруктоза, манноза могут взаимопревращаться друг в друга в энтероците и особенно интенсивно в печени.

Галактоземия - это врожденное наследственное заболевание, связанное, с недостаточной активностью в печени фермента гексоза-1-фосфатуридилтрансферазы. Вследствие дефицита этого фермента галактоза, поступающая в организм новорожденного в составе лактозы материнского молока не превращается в глюкозу, концентрация ее в крови повышается и она в тканях восстанавливается альдозоредуктазой в токсический спирт - галактит (дульцит). В результате развивается задержка роста, катаракта (помутнение хрусталика глаза), умственная отсталость. Ребенок специально переводится на безгалактозную диету. При этом необходимая для синтеза гетерополисахаридов и гликопротеидов активная УДФ-галактоза образуется в нужных количествах из УДФ-глюкозы с помощью фермента - эпимеразы.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии.

Обучающийся должен знать:

1. Классификацию углеводов.
2. Строение моносахаридов, их свойства.
3. Производные моносахаридов - аминсахара.
4. Строение и свойства олигосахаридов (ди-, три- и т.д.).
5. Структурную организацию, свойства и биологическую роль представителей гомо- и гетерополисахаридов.
6. Значение углеводов для организма, включая энергетическое значение.
7. Ферменты, необходимые для гидролитического расщепления углеводов в желудочно-кишечном тракте.
8. Значение полостного и пристеночного пищеварения.
9. Особенности пристеночного пищеварения.
10. Продукты всасывания и взаимопревращения гексоз в гепатоците.

Обучающийся должен уметь:

1. Определять активность амилазы.
2. Интерпретировать полученные результаты.
3. Сделать соответствующие выводы.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы:

1. Классификация углеводов.
2. Строение моносахаридов.
3. Производные моносахаридов - аминсахара.
4. Олигосахариды, их структура и свойства.
5. Классификация полисахаридов. Структурная организация, свойства и биологическое значение представителей гомо- и гетерополисахаридов.
6. Основные углеводы пищи, суточная потребность.

7. Переваривание углеводов, ферменты, участвующие в этом процессе.
8. Понятие о полостном и пристеночном пищеварении.
9. Всасывание продуктов расщепления углеводов.
10. Реакции изомерных превращений гексоз.

Дополнительные вопросы:

Свойства и распространение гликогена как резервного полисахарида.

Представление о строении и функциях углеводной части гликопротеидов. Гликопротеины плазматических мембран.

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО.

Наглядные пособия:

Таблицы

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Классификация углеводов.
2. Моносахариды (альдозы и кетозы). Структура, представители, свойства.
3. Дисахариды. Их представители, структура и свойства.
4. Классификация полисахаридов.
5. Гомополисахариды (крахмал, гликоген, клетчатка). Их структура, свойства, биологическая роль.
6. Энергетическая ценность углеводов.
7. Характеристика амилолитических ферментов и их специфичность.
8. Механизм транспорта органических веществ через полупроницаемые мембраны (пассивная диффузия и активный транспорт).

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Классификация углеводов.
2. Назовите основные представители моносахаридов.
3. Структура и свойства моносахаридов.
4. Назовите основные представители дисахаридов.
5. Структура и свойства дисахаридов.
6. Структура и свойства крахмала и гликогена.
7. Гетерополисахариды. Основные представители, их биологическая роль.
8. Энергетическая ценность углеводов пищи.
9. Характеристика ферментов, расщепляющих пищевые углеводы в желудочно-кишечном тракте.
10. Понятие о полостном и пристеночном пищеварении и его роль в процессах всасывания.
11. Механизм транспорта моносахаридов из полости кишечника в энтероцит.
12. Вторично активный транспорт моносахаридов в кровь.
13. Реакции взаимопревращения галактозы и фруктозы в глюкозу.
14. Глюкоза - конечный продукт расщепления пищевых углеводов.

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:

1. Потребность организма ребенка в углеводах.
2. Основной тип пищеварения у детей раннего возраста.

IX. Самостоятельная работа.

Свойства и распространение гликогена как резервного полисахарида.

Участие гиалуроновой и хондроитинсерной кислот в организации и функции межклеточного вещества.

Пристеночное переваривание углеводов

X. Список используемой литературы:

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

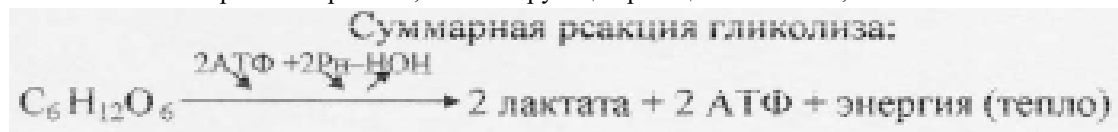
1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980

9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия

Тема: Катаболизм глюкозы. Анаэробное окисление глюкозы. Качественная реакция на молочную кислоту (реакция Уффельмана)

I. Научно-методическое обоснование темы:

Распад углеводов в клетке является основным (до 56 %) источником энергии для процесса жизнедеятельности. В зависимости от доступности и участия или неучастия кислорода распад углеводов может быть аэробным и анаэробным. В организме человека протекают следующие виды анаэробного окисления глюкозы: гликолиз, гликогенолиз и брожение. Анаэробный гликолиз является основным путем образования энергии в работающей скелетной мышце в условиях дефицита кислорода в эмбриональной ткани, в первые дни постнатального периода, в эритроцитах и клетках злокачественного роста. Ферменты, катализирующие реакции гликолиза, локализованы в гиалоплазме.

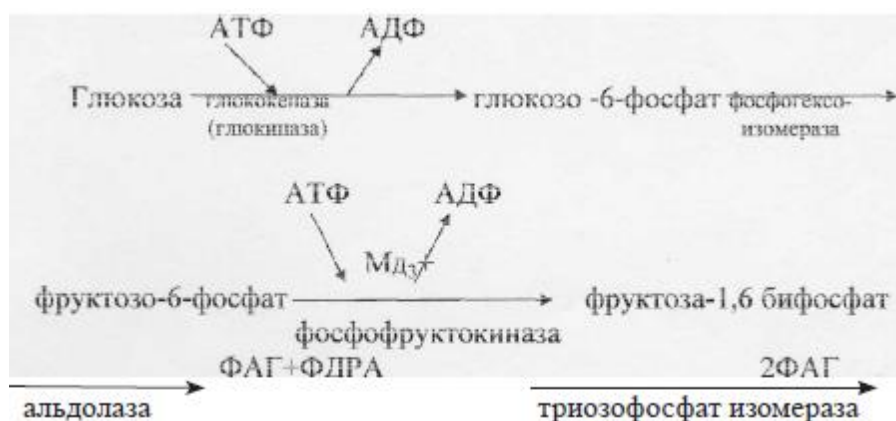


Реакции гликолиза протекают в две стадии:

1. Подготовительная.
2. Окислительная.

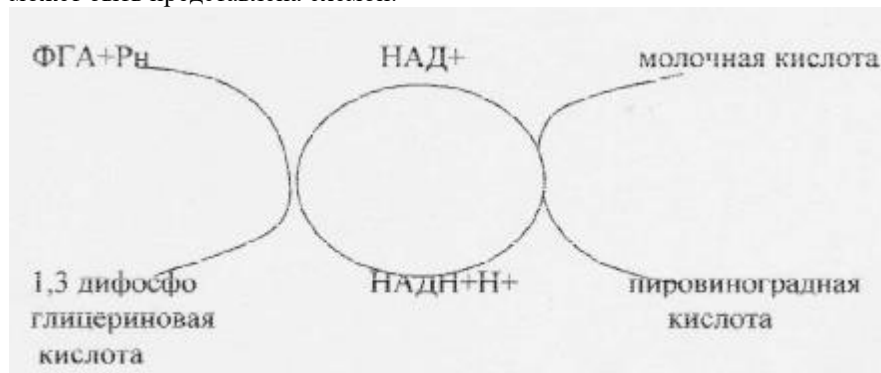
Подготовительная стадия включает в себя:

1. Активацию гексозы с образованием фруктозо-1,6 - дифосфата;
2. Дихотомический распад активированной гексозы пополам с возникновением двух фосфотриоз: фосфоглицеринового альдегида (ФГА) и фосфодиоксиацетона (ФДОА);
3. Реакции изомеризации указанных фосфотриоз, завершающие первую стадию гликолиза:



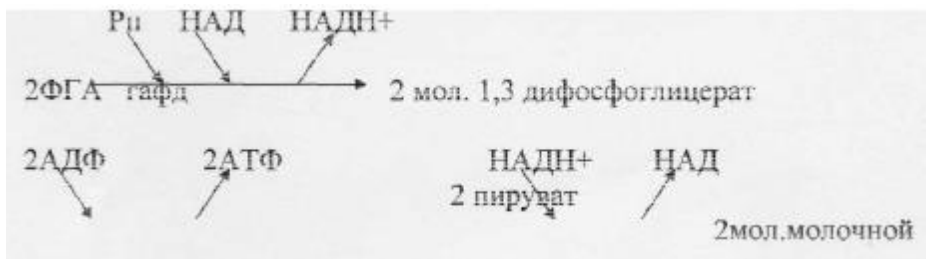
Окислительная стадия гликолиза начинается с НАД-зависимой глицеральдегидфосфат-дегидрогеназной реакции, в которой ФГА окисляется до 1,3-дифосфоглицериновой кислоты с одновременным образованием НАДН(Н+), восстанавливающим в лактатдегидрогеназной реакции пируват в лактат.

Сопряженное взаимодействие между указанными реакциями гликолиза - «гликолитическая оксидоредукция» - может быть представлена схемой:

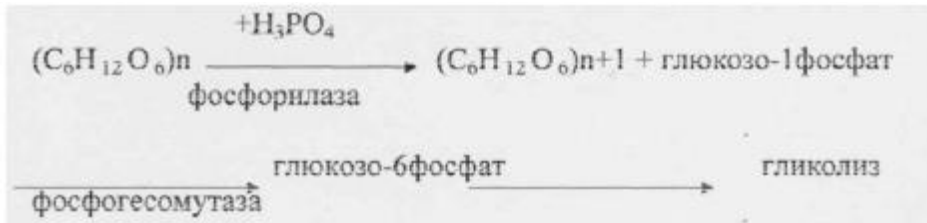


Окисление ФГА сопровождается фосфорилированием, перераспределением энергии и образованием макроэргической связи с последующим синтезом 2 АТФ путем первого субстратного фосфорилирования. Внутримолекулярное окисление фосфоглицерата (енозная реакция), ведет к возникновению макроэргической связи и второму субстратному фосфорилированию с синтезом 1 АТФ.

Восстановление пирувата в лактат - конечный продукт гликолиза.

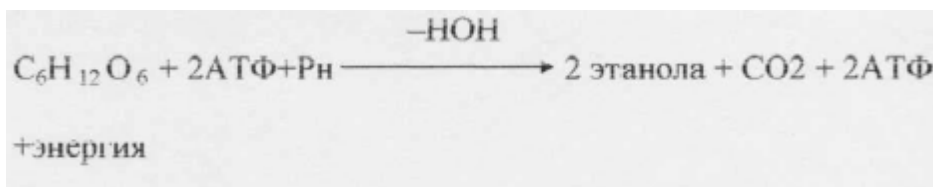


Лактат из мышечной клетки диффундирует в кровь, из которой его поглощают сердечная мышца и печень. Сердечная мышца окисляет лактат в пируват и расщепляет дальше через ЦТК, извлекая энергию для сократительной функции. Печень может не только подвергать молочную кислоту окислительному распаду, но и превращать ее в глюкозу. Гликогенолизом обозначается процесс распада гликогена, который начинается с отщепления в фосфорилазной реакции глюкозо-1-фосфата, в которой фосфоглюкомутазой глюкоза-1-фосфат превращается в глюкозо-6-фосфат, включающийся в гликолиз.



Следовательно, в подготовительной стадии гликогенолиза, в фосфофруктокиназной реакции, расходуется только 1 мол АТФ.

Под брожением понимаем распад глюкозы микроорганизмами в анаэробных условиях. Анаэробное окисление в этом процессе завершается образованием этанола:



Биологическая роль процессов брожения состоит в том, что микроорганизмы, расщепляя своими ферментами углеводы, получают аккумулированную в АТФ энергию, которую они используют для своей жизнедеятельности. В организме человека процесс брожения происходит в толстом кишечнике.

Биологическая роль гликолиза заключается в том, что интенсивно работающие мышцы в условиях недостаточно обеспечивающих их кислородом, получают значительное количество энергии: в процессе гликолиза путем субстратного фосфорилирования синтезируется 4 АТФ. Так как в начале процесса 2 АТФ расходуется на активирование гексозы, то накопление составляет 2 АТФ на каждую молекулу расщепившейся глюкозы. В процессе гликогенолиза путем субстратного фосфорилирования синтезируется 4 АТФ, расходуется 1 АТФ, чистый прирост - 3 АТФ на 1 мол распада гликогена.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии.

Обучающийся должен знать:

- Пути расходования глюкозы в организме.
- Характеристику анаэробного распада глюкозы (характеристику подготовительного этапа).
- Ферменты гликолиза.
- Гликолитическую оксидоредукцию.
- Субстратное фосфорилирование, как источник образования энергии при гликолизе.
- Энергетический выход гликолиза.

Обучающийся должен уметь:

- Открывать конечные продукты гликолиза.
- Интерпретировать соответствующие результаты и выводы.

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

- Общая схема источников и путей расходования глюкозы в организме.
- Анаэробный распад глюкозы, гликогенолиз. Ферменты гликолиза, их локализация. Гликолитическая оксидоредукция; пируват, как акцептор водорода.
- Субстратное фосфорилирование при гликолизе.
- Распределение и физиологическое значение анаэробного распада глюкозы. Энергетический выход гликолиза.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

- Экзергонические и эндэргонические реакции.
- Источник энергии для синтеза АТФ.

3. Глюкоза, как конечный продукт превращения пищевых углеводов.
4. Пути использования глюкозы в клетке.
5. Фосфорилирование глюкозы, как необходимый этап окисления глюкозы.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Виды анаэробного распада углеводов в организме.
2. Понятие гликолиз, гликогенолиз, их биологическая роль.
3. Пусковая реакция гликогенолиза.
4. Основные этапы гликолиза и ферменты, осуществляющие реакции процесса.
5. Локализация в клетке.
6. Гликолитическая окислоредукция.
7. Необратимые реакции гликолиза и ферменты, их катализирующие.
8. Лактат - дегидрогеназная реакция, источник «Н» для нее и конечный продукт гликолиза.
9. Реакции накопления энергии в гликолизе.
10. Роль гликолиза и гликогенолиза в энергообразовании.

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:

1. Активность ферментов гликолиза у плода и новорожденных.
2. Изменение активности ЛДГ сыворотки крови в онтогене-
3. Динамика изменения содержания лактата крови раннего постнатального периода.

IX. Самостоятельная работа Обучающийся:

Энергообеспечение работающей мышцы в ходе реакций гликолиза.

X. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

20.Аэробное окисление углеводов

I. Научно-методическое обоснование темы:

Окисление глюкозы в аэробных условиях является основным для энергообразования в организме и протекает прямым дихотомическим (дихотомия-расщепление глюкозы на 2 триозы) путем, который начинает функционировать с 3-4 месяца постнатального периода.

Дихотомический путь представлен тремя блоками реакций:

1. Окисление глюкозы или гликогена до ПВК;
2. Окисление ПВК до ацетил-Ко А;
3. Окисление ацетил Ко А в цтк и цпэ до CO_2 и H_2O

Реакции 1 этапа аналогичны гликолизу, однако заканчиваются на образовании пирувата, а освободившийся в ходе окислоредукции водород НАДН⁺ (Н⁺) поступает в митохондрию (а не восстанавливает в цитоплазме ПВК) с помощью глицерофосфатного или малатаспартатного челночного механизма. В первом случае образуется 2 молекулы, а во втором - 3 молекулы АТФ.



2.Сопряжение гликолиза и цикла лимонной кислоты происходит на уровне превращения пирувататав ацетил СоА, катализируемого в митохондриях мультиферментным пируватдегидрогеназным комплексом, аналогичным - а-кетоглутаратдегидрогеназному комплексу в ЦИК.

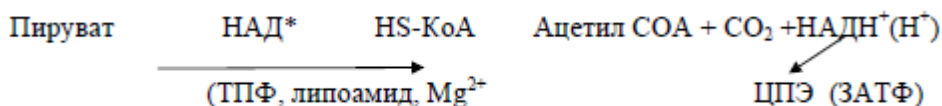
Внутри митохондрий, куда пируват транспортируется из цитоплазмы специальным переносчиком по механизму симпорта с протоном, происходит его окислительное декарбоксилирование, катализируемое тремя ферментами:

Пируватдекарбоксилирующей дегидрогеназой

Дигидролипоилтрансацилазой

Дигидролипоилдегидрогеназой

и пятью коферментами: ТПФ, ЛК, HS-CoA, ФАД, НАД.



3 - этап - цитратный цикл, в котором молекула ацетил СоА окисляется до двух молекул CO_2 , а освободившийся водород, источниками которого являются субстраты ЦИК (изоцитрат, а-кетоглутарат, сукцинат и малат) поступают в ЦПЭ, где освобождают энергию, достаточную для синтеза 11 молекул АТФ и образования воды.

В итоге, энергетический выход окисления глюкозы до CO_2 и H_2O вычисляется следующим образом:

1 этап - гликолиз:

Превращение глюкозы во фруктозо-1,6-дифосфат требует 2 молекулы АТФ. Окисление двух молекул глицероальдегид-3-фосфата в ПВК продуцирует 4 молекулы АТФ субстратным фосфорилированием и 2 НАДН⁺ (Н⁺), отдающий Н⁺ в митохондрии, либо через малатаспартатный челночный механизм, что генерирует 6АТФ, либо глицерофосфатный и тогда образуется только 4АТФ.

Итого: $6+4-2=8\text{АТФ}$

$4+4-2=6\text{АТФ}$.

2 этап - Окислительное декарбоксилирование двух молекул ПВК в митохондриях приводит к образованию 2 НАДН⁺ (Н⁺), окисление которых в ЦПЭ служит источником энергии для 6 АТФ.

3 этап - Окисление ацетил СоА в ЦИК образует 2 АТФ субстратным фосфорилированием и восстановленные коферменты (6НАДН⁺ (Н⁺), и 2ФАДН₂) для синтеза еще 22АТФ в ЦПЭ. Следовательно, при полном аэробном окислении глюкозы до CO_2 и H_2O образуется

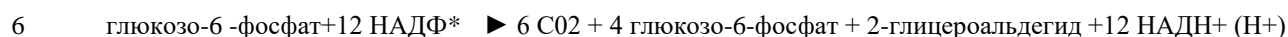
$8+6+24=38\text{ АТФ}$

$6+6+24=36\text{ АТФ}$

в зависимости от характера челночного механизма.

Альтернативным путем аэробного окисления глюкозы является апотомический, пентозофосфатный или гексозомонофосфатный шунт, который начинает функционировать у плода в раннем постнатальном периоде. Сущность этого процесса заключается в отщеплении от глюкозо-6-фосфата первого углеродного атома с образованием CO₂ и пентозо-фосфатов. Особенностью пентозофосфатного пути является то, что в разных тканях он имеет свою специфику, и особенно интенсивно протекает в жировой ткани, печени, лактирующей молочной железе, коре надпочечников, эритроцитах и семенниках.

Ферменты этого пути локализованы в цитоплазме клетки. Окисление осуществляется путем дегидрирования, акцептором водорода является НАДФ:



Последовательность реакций пентозофосфатного пути можно разделить на две фазы: окислительную и неокислительную. Окислительная фаза:

Глюкозо-6-фосфат окисляется НАДФ-зависимой дегидрогеназой до 6-фосфоглюконолактона.

6-фосфоглюконолактон гидролизуется до 6-фосфоглюконовой кислоты.

6-фосфоглюконовая кислота окисляется, декорбоксилируется НАДФ-зависимой дегидрогеназой с образованием рибулозо-5-фосфата.

Возможные пути использования продуктов окислительной части:

НАДН+(H⁺) используется:

Как источник электронов для цепи митохондриального окисления.

Как источник H⁺ для синтеза холестерина и жирных кислот.

Как источник H⁺ для обезвреживания аммиака путем восстановительного аминирования 2-оксоглутарата.

Как источник H⁺ для образования восстановленного глутатиона, стабилизирующего мембраны эритроцитов.

Как источник H⁺ для стероидогенеза.

Рибулозо-5-фосфат используется для синтеза гистидина, нуклеозидов и нуклеотидов, и получаемых из них коферментов (НАД, ФАД, HSCoA) и нуклеиновых кислот. Если в клетке одинаково используется и НАДН+(H⁺) и рибулозо-5-фосфат, то весь процесс заканчивается окислительной фазой. Когда используется НАДН+(H⁺), а рибулозо-5-фосфат нет, включается неокислительная фаза, в которой важнейшую роль играют ферменты - ТДФ-зависимые транскетолаза и трансальдолаза и суть которой заключается в обратном превращении пентоз в гептозы.

Из двух пентоз (рибулозо-5-фосфата и ксилулозо-5-фосфата) образуется гептоза - седогептулоза-7-фосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид.

Реагируя между собой, они образуют тетрозу - эритрозо-4-фосфат и гексозу - фруктозо-6-фосфат.

Тетроза реагирует с еще одной молекулой - ксилулозо-5-фосфата, образуя гексозу - фруктозо-6-фосфат и триозу - 3-фосфоглицериновый альдегид.

Таким образом, из 3 молекул пентоз получаем 2,5 молекулы гексоз, а, следовательно, из 6 молекул пентоз получаем 5 гексоз. В раннем постнатальном периоде пентозофосфатный путь используется как энергетический. Образующийся в неокислительной части ФГА не превращается в глюкозо-6-фосфат, а окисляется до CO₂ и H₂O с одновременным генерированием энергии. НАДФ Н+(H⁺) используется для синтеза холестерина и жирных кислот.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии:

Обучающийся должен знать:

Этапы гексозоди- и гексозомонофосфатного пути окисления глюкозы, их распространение и биологическую роль.

Обучающийся должен уметь:

Определять продукт аэробного дихотомического пути окисления глюкозы - пируват в моче, интерпретировать полученные результаты.

III. Содержание обучения.

Основные вопросы темы:

1. Важнейшие пути аэробного распада глюкозы.
2. Гексозодифосфатный путь: последовательность реакций до образования пирувата.
3. Окислительное декорбоксирование пировиноградной кислоты.
4. Судьба ацетил CoA и энергетика аэробного окисления глюкозы.
5. Локализация и последовательность реакций пентозофосфатного пути окисления глюкозы.

IV. Перечень наглядных пособий и средств ТСО

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Метаболически активная форма витамина B₆ и ее участие в аэробном окислении глюкозы.
2. Роль дегидрогеназ в окислении субстратов.
3. Реакция взаимопревращения пентоз.
4. Механизмы окисления цитоплазматического кофермента

НАДН+(H⁺)

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Виды аэробного окисления глюкозы.

2. Основные этапы аэробного дихотомического распада углеводов.
3. Челночные механизмы и их биологическая роль.
4. Окислительное декарбоксилирование ПВК, характеристика ферментов и коферментов мультиферментного пируватдегидро-геназного комплекса.
5. Энергетический выход аэробного дихотомического пути окисления глюкозы.
6. Апотомический распад глюкозы, его локализация, тканевая специфичность, последовательность реакций окислительной и неокислительной фаз.
7. Значение апотомического распада, как источника восстановительных эквивалентов и пентоз в биосинтетических реакциях.
8. Особенности использования этого процесса у детей раннего постнатального периода.

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:

Соотношение активностей аэробного дихотомического и апо-томического пути окисления глюкозы в раннем постнатальном периоде.

IX. Самостоятельная работа Обучающийся: составить ментальную карту по данной теме.

X. Перечень учебной литературы к занятию

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Распад и биосинтез полисахаридов. Глюконеогенез.

Синтез полисахаридов катализируют ферменты *гликозилтрансферазы*, которые осуществляют перенос остатков соответствующих моносахаридов, связанных с нуклеозиддифосфатными группировками, на акцептор, представляющий собой олигосахарид, который включает 2-4 соединённых О-гликозидными связями моносахаридных остатка. При этом могут синтезироваться полимеры, имеющие линейную (цепочечную) структуру или разветвлённые молекулы, состоящие как из одинаковых, так и из разных моносахаридных остатков. Многие гликозилтрансферазы представлены белками, которые связаны в определённых участках с внутриклеточными мембранами.

Синтез крахмала. Крахмал в растительных тканях представлен двумя полисахаридами амилозой и амилопектином. Синтез амилозы происходит в 3 этапа. Вначале осуществляется активирование α -глюкозы путём фосфорилирования и образования аденозиндифосфатглюкозы (АДФ-глюкозы) под действием фермента *АДФ-пирофосфорилазы*:

гексокиназа

глюкоза + АТФ $\xrightarrow{3/4}$ глюкозо-6-фосфат + АДФ

фосфоглюкоглюкозо-6-фосфат $\xrightarrow{3/4}$ глюкозо-1-фосфат + мутаза

АДФ-пиро-глюкозо-1-фосфат + АТФ $\xrightarrow{3/4}$ АДФ-глюкоза + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$ фосфорилаза

На следующем этапе с участием АДФ-глюкозы под действием фермента *гликозилтрансферазы* синтезируется олигосахарид, состоящий из 2-4 остатков глюкозы, соединённых $\alpha(1\rightarrow4)$ -связями. Фермент гликозилтрансферазу очень часто называют *D-ферментом*. Образующийся под действием D-фермента олигосахарид далее служит акцептором для присоединения глюкозных остатков от АДФ-глюкозы при синтезе полимера.

Образование цепочечных структур молекул амилозы катализирует фермент *АДФ-крахмалгликозилтрансфераза* (2.4.1.21). Реакция протекает по следующей схеме:

$(\text{глюкоза})_n + \text{АДФ-глюкоза} \xrightarrow{3/4} (\text{глюкоза})_{n+1} + \text{АДФ}$ первичный акцептор промежуточный продукт полимеризации

В этой реакции с помощью фермента остаток глюкозы от АДФ-глюкозы переносится на первичный акцептор, в результате чего его глюкозная цепь удлиняется на один остаток. Затем полученный продукт становится акцептором следующего остатка глюкозы и так продолжается присоединение глюкозных остатков от АДФ-глюкозы на соответствующий промежуточный акцептор, пока не закончится полный синтез молекулы амилозы.

В ходе синтеза амилозы образуется длинная цепь (до 300) глюкозных остатков, соединённых О-гликозидными $\alpha(1\rightarrow4)$ -связями. При этом следует отметить, что остатки глюкозы в процессе синтеза крахмала всегда присоединяются к нередуцирующим концам полисахаридной цепи акцептора (т.е. со стороны НО-группы четвёртого углеродного атома глюкозы).

Синтез $\alpha(1\rightarrow6)$ -связей в молекулах амилопектина, за счёт которых образуются разветвлённые молекулы, осуществляется с участием так называемого Q-фермента, который по современной номенклатуре ферментов получил название *α -глюкантрансферазы* (2.4.1.18). Q-фермент способен катализировать перенос определённого участка полиглюкозной цепи на НО-группу шестого углеродного атома одного из глюкозных остатков прилегающей и параллельно расположенной полисахаридной цепи. Расстояние между ответвлениями в цепи зависит от природы фермента.

Донором глюкозных остатков для синтеза крахмала может также служить УДФ-глюкоза, но при этом скорость реакции очень сильно замедляется. Однако в клетках животных организмов основным источником глюкозных остатков для построения молекул гликогена (аналога крахмала) служит УДФ-глюкоза.

Распад крахмала. Распад молекул крахмала может происходить путём гидролиза или фосфоролитических реакций. Гидролитическое расщепление $\alpha(1\rightarrow4)$ -связей в молекулах крахмала катализируют амилазы: α -амилаза (3.2.1.1), β -амилаза (3.2.1.2), глюкоамилаза (3.2.1.3).

α -Амилазы действуют на $\alpha(1\rightarrow4)$ -связи между точками вставки и способны расщеплять молекулы амилопектина на более мелкие фрагменты, представляющие собой низкомолекулярные полисахариды – декстрины. Для проявления каталитической активности α -амилаз необходимо присутствие в реакционной среде хлорид-ионов, которые служат активаторами фермента. Без участия α -амилаз невозможно полное гидролитическое расщепление молекул амилопектина.

Под действием *β -амилаз* происходит гидролитическое расщепление $\alpha(1\rightarrow4)$ -связей на концах полисахаридных цепей целых молекул или декстринов с образованием β -мальтозы. Действие этих ферментов прекращается при достижении точек ветвления молекул крахмала, в которых глюкозные остатки соединены $\alpha(1\rightarrow6)$ -связями.

Глюкоамилазы так же, как и β -амилазы, катализируют гидролиз $\alpha(1\rightarrow4)$ -связей на концах полисахаридных цепей, но в результате действия этих ферментов образуются молекулы глюкозы.

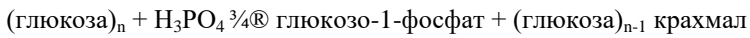
Гидролитическое расщепление $\alpha(1\rightarrow6)$ -связей в точках ветвления молекул амилопектина катализируют R-ферменты, которые называют *амилопектин-1,6-глюкозидазами* (3.2.1.9)

Под действием всего набора амилитических ферментов крахмал гидролизует с образованием мальтозы и глюкозы. Однако на мальтозу также действуют ферменты, относящиеся к гидролазам, *α -глюкозидазы* (3.2.1.20),

которые расщепляют молекулы мальтозы с образованием глюкозы. Схематически действие гидролитических ферментов на молекулу крахмала показано на рисунке 38.

Препараты, содержащие амилолитические ферменты, используются в производстве хлеба, пива, пищевого спирта, а также в качестве кормовых добавок в животноводстве для улучшения переваривания крахмала, содержащегося в кормах.

Фосфоролитическое расщепление молекул крахмала катализируют ферменты *α-глюканфосфорилазы* (2.4.1.1). Под действием этих ферментов осуществляется перенос глюкозных остатков от молекул крахмала на фосфорную кислоту, при этом в качестве основного продукта реакции образуется глюкозо-1-фосфат, который далее может быть использован для синтеза УДФ-глюкозы или включаться в анаэробную стадию дыхания. Реакции фосфоролиза крахмала проходят по следующей схеме:



Особенно высокая активность амилаз и α -глюканфосфорилаз наблюдается при прорастании семян, клубней и луковиц, когда в них происходит интенсивный распад полисахаридов крахмала и увеличивается концентрация декстринов, мальтозы и моносахаридов, используемых для формирования тканей проростков.

В процессе распада крахмал не только может превращаться в мальтозу и глюкозу, но также и в сахарозу. Наиболее активно такие превращения происходят в листьях растений с фотосинтетическим крахмалом. На первом этапе указанных превращений под действием соответствующего трансгликозилирующего фермента остатки глюкозы от крахмала переносятся на УДФ, в результате образуется УДФ-глюкоза:



крахмал декстрин

Затем под действием фермента сахарозо-УДФ-глюкозилтрансферазы остаток глюкозы от УДФ-глюкозы переносится на фруктозу с образованием сахарозы:



Совершенно очевидно, что в результате обращения указанных выше двух реакций возможно также превращение сахарозы в крахмал.

Синтез и распад полифруктозидов. В растениях найдены ферменты, катализирующие превращения сахарозы в полифруктозиды и свободную глюкозу. У некоторых растительных видов (мятликовые, лилейные, астровые, колокольчиковые) образовавшиеся при фотосинтезе углеводы превращаются во фруктозиды, которые затем поступают в созревающие семена или другие запасающие органы. Схематически превращение сахарозы в полифруктозиды можно представить следующим образом:



Ферменты, катализирующие указанные превращения содержатся также в клетках бактерий. Донором фруктозных остатков при синтезе полифруктозидов служит УДФ-фруктоза:

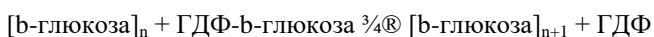
При биосинтезе инулина остатки фруктозы присоединяются от УДФ-фруктозы к молекуле сахарозы, включающей остатки глюкозы и фруктозы:



В ходе реакции между остатками фруктозы образуется $\beta(1 \rightarrow 2)$ -связь. В дальнейшем к полученному продукту вновь осуществляется перенос остатка фруктозы от УДФ-фруктозы с образованием новой $\beta(1 \rightarrow 2)$ -связи. Удлинение полифруктозной цепи по указанному механизму будет продолжаться до тех пор, пока полностью не закончится синтез молекулы инулина. Распад молекулы инулина происходит гидролитическим путём под действием фермента *инулазы* (3.2.1.7) с образованием свободной фруктозы и сахарозы. Другие полифруктозиды гидролизуются соответствующими гликозидазами до свободной фруктозы.

Синтез и распад целлюлозы. Молекулы целлюлозы построены из остатков β -D-глюкозы, соединённых $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связями. В опытах *in vitro* с использованием бесклеточных ферментных экстрактов, выделенных из растений, показано, что синтез клетчатки может осуществляться из УДФ-глюкозы или ГДФ-глюкозы (гуанозиндифосфатглюкозы), а также фрагментов целлюлозы (целлодекстринов), выполняющих роль акцепторов остатков β -глюкозы.

Содержащийся в составе этих экстрактов фермент *целлюлозосинтаза* (2.7.7.34) катализирует синтез молекул целлюлозы по схеме:



Молекулы фермента образуют полиферментный комплекс, который катализирует одновременный синтез многих молекул целлюлозы, формирующих микрофибриллу. В микрофибриллах полимерные цепи из остатков β -глюкозы соединены водородными связями.

Молекулы целлюлозы расщепляются в основном путём гидролиза под действием фермента *целлюлазы* (3.2.1.4) с образованием целлобиозы. Особенно высокой целлюлазной активностью отличаются клетки многих почвенных микроорганизмов, а также клетки бактерий пищеварительной системы жвачных животных. Имеются также

сведения о том, что и в листьях растений при их старении происходит процесс распада целлюлозы и превращения её в растворимые формы, которые затем подвергаются оттоку в созревающее зерно или клубни.

Продукт гидролиза целлюлозы – целлобиоза подвергается гидролитическому расщеплению с участием фермента *b-глюкозидазы* (3.2.1.21) до свободной *b-глюкозы*.

Гемицеллюлозы. В биосинтезе гемицеллюлоз также принимают участие ферменты, катализирующие перенос остатков моносахаридов от их нуклеозиддифосфатпроизводных на соответствующий олигосахарид, служащий первичным акцептором при образовании полисахарида. В качестве донора остатков ксилозы для синтеза ксиланов используется УДФ-ксилоза. Донором остатков арабинозы при образовании молекул арабанов служит УДФ-арабиноза. Для синтеза маннанов активированной формой моносахаридных остатков для включения в состав полисахаридной цепи является ГДФ-манноза (гуанозиндифосфатманноза).

Распад гемицеллюлоз происходит в основном гидролитическим путём под действием ферментов *гемицеллюлаз*. Такие ферменты найдены в клетках бактерий и плесневых грибов, а также в прорастающих семенах растений. Активирование гемицеллюлаз наблюдается в листьях растений в процессе их старения, при этом образующиеся в результате гидролиза гемицеллюлоз растворимые формы углеводов поступают в созревающие семена или клубни (у картофеля). Отмечается распад гемицеллюлоз и при созревании плодов у некоторых плодовых культур.

Пектиновые вещества. Пектины синтезируются из УДФ-галактурановой кислоты, которая образуется при окислении УДФ-глюкозы или УДФ-галактозы, а также в результате активирования свободной галактурановой кислоты путём фосфорилирования и взаимодействия с УТФ:

галактурановая кислота + АТФ $\frac{3}{4}$ ® 1-фосфогалактурановая кислота + АДФ

1-фосфогалактурановая кислота + УТФ $\frac{3}{4}$ ® УДФ-галактурановая кислота + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$

В ходе образования пектинов остатки α -D-галактурановой кислоты под действием специфических трансфераз переносятся от УДФ-галактурановой кислоты на соответствующий акцептор. Одновременно происходят реакции метилирования карбоксильных групп под действием фермента *метилтрансферазы*, катализирующего перенос метильных радикалов от S-аденозилметионина на полигалактурановую кислоту:

+ S-аденозилметионин \rightarrow S-аденозил-гомоцистеин полигалактурановая пектин кислота

При взаимодействии пектина с галактанами и арабанами осуществляется синтез сложноэфирных связей протопектина с участием карбоксильных групп, содержащихся в молекулах пектина. Эти реакции также катализируют специфические трансферазы, осуществляющие синтез протопектина в клеточных стенках растений или в формирующихся плодах.

Распад протопектина происходит гидролитическим путём под действием ферментов *протопектиназ*, катализирующих гидролиз сложноэфирных связей, соединяющих полимерные цепи пектина с галактанами и арабанами. Процессы гидролиза протопектинов очень активно протекают в растениях при созревании плодов и старении листьев.

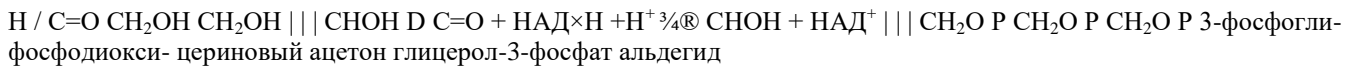
Под действием фермента *пектазы* (3.1.1.11), катализирующего гидролиз сложноэфирных связей метоксильных групп, пектины превращаются в полигалактурановую (пектиновую) кислоту и метиловый спирт. Полигалактурановая кислота в отличие от пектина не обладает способностью образовывать желе, но очень легко взаимодействует с катионами металлов, образуя нерастворимые соли. На этом основано химическое определение пектиновых веществ и происходит их защитное действие в пищеварительной системе человека и животных по связыванию и выведению из организма катионов тяжелых металлов.

Пектиновая кислота подвергается гидролизу с участием фермента *полигалактураназы* (3.2.1.15), или *пектиназы*, действующей на O-гликозидные связи, соединяющие остатки α -D-галактурановой кислоты. Комплекс ферментов, гидролизующих пектиновые вещества, особенно активен в препаратах, получаемых из плесневых грибов. В связи с этим указанные препараты применяются для осветления плодовых соков и вин, содержащих растворимый пектин, который является причиной их возможной непрозрачности.

Обмен липидов

Главными запасными формами липидов растений являются жиры, которые интенсивно синтезируются в хлоропластах, семенах и плодах. Особенно много накапливается жиров в семенах масличных растений. Изучение биохимических процессов в созревающих семенах масличных растений показало, что увеличение в них содержания жиров сопровождается понижением концентрации сахаров. При введении в созревающие семена сахаров, меченных радиоактивным изотопом углерода ^{14}C , радиоактивная метка довольно быстро обнаруживалась в составе ацилглицеринов жира. Это послужило доказательством, что синтез жира осуществляется из углеводов. В дальнейшем было выяснено, что непосредственными предшественниками в синтезе ацилглицеринов жира являются активированные формы жирных кислот и фосфорилированный глицерин, которые образуются из продуктов углеводного обмена.

Синтез глицеролфосфата. Исходными веществами для синтеза глицеролфосфата служат продукты фотосинтеза и дыхания 3-фосфоглицериновый альдегид и фосфодиоксиацетон. Они образуются в цикле Кальвина при фотосинтезе, на стадии гликолиза при дыхании, а также в реакциях пентозофосфатного цикла. Непосредственно глицеролфосфат синтезируется в результате восстановления фосфодиоксиацетона ферментом *глицерол-3-фосфатдегидрогеназой*:



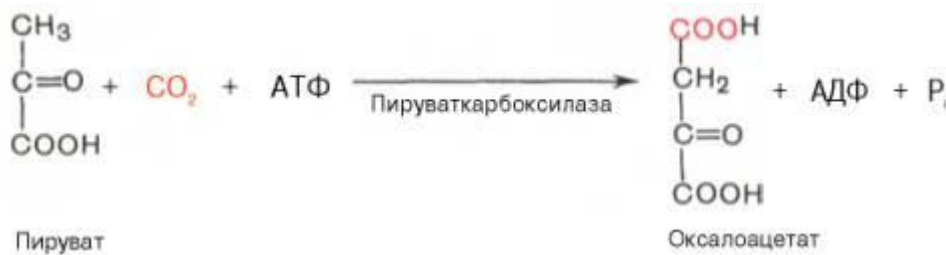
Синтезированный из углеводов продуктов глицерол-3-фосфат затем используется для синтеза ацилглицеринов жира, фосфолипидов и гликолипидов.

Глюконеогенез – синтез глюкозы из неуглеводных продуктов. Такими продуктами или метаболитами являются в первую очередь молочная и пировиноградная кислоты, так называемые гликогенные аминокислоты, глицерол и ряд других соединений. Иными словами, предшественниками глюкозы в глюконеогенезе может быть пируват или любое соединение, превращающееся в процессе катаболизма в пируват или один из промежуточных продуктов цикла трикарбоновых кислот.

У позвоночных наиболее интенсивно глюконеогенез протекает в клетках печени и почек (в корковом веществе).

Большинство стадий глюконеогенеза представляет собой обращение реакции гликолиза. Только 3 реакции гликолиза (гексокиназная, фосфо-фруктокиназная и пируваткиназная) необратимы, поэтому в процесс глюконеогенеза на 3 этапах используются другие ферменты. Рассмотрим путь синтеза глюкозы из пирувата.

Образование фосфоенолпирувата из пирувата. Синтез фосфоенолпирувата осуществляется в несколько этапов. Первоначально пируват под влиянием пируваткарбоксилазы и при участии CO_2 и АТФ карбоксилируется с образованием оксалоацетата:



Затем оксалоацетат в результате декарбоксилирования и фосфорилирования под влиянием фермента фосфоенолпируваткарбоксилазы превращается в фосфоенолпируват. Донором фосфатного остатка в реакции служит гуанозинтрифосфат (ГТФ):

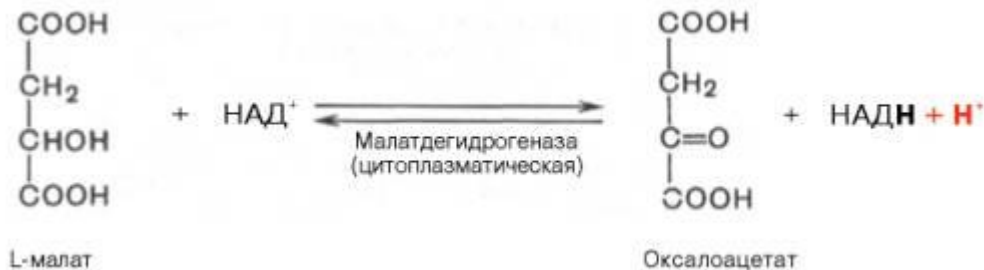


Установлено, что в процессе образования фосфоенолпирувата участвуют ферменты цитозоля и митохондрий.

Первый этап синтеза протекает в митохондриях (рис. 10.6). Пируват-карбоксилаза, которая катализирует эту реакцию, является аллостерическим митохондриальным ферментом. В качестве аллостерического активатора данного фермента необходим ацетил-КоА. Мембрана митохондрий непроницаема для образовавшегося оксалоацетата. Последний здесь же, в митохондриях, восстанавливается в малат:



Реакция протекает при участии митохондриальной НАД-зависимой малатдегидрогеназы. В митохондриях отношение НАДН/НАД⁺ относительно велико, в связи с чем внутримитохондриальный оксалоацетат легко восстанавливается в малат, который легко выходит из митохондрии через митохондриальную мембрану. В цитозоле отношение НАДН/НАД⁺ очень мало, и малат вновь окисляется при участии цитоплазматической НАД-зависимой малатдегидрогеназы:



Дальнейшее превращение оксалоацетата в фосфоенолпируват происходит в цитозоле клетки.

Превращение фруктозо-1,6-бисфосфата во фруктозо-6-фосфат. Фосфо-енолпируват, образовавшийся из пирувата, в результате ряда обратимых реакций гликолиза превращается во фруктозо-1,6-бисфосфат. Далее следует фосфофруктокиназная реакция, которая необратима. Глюконеогенез идет в обход этой эндергонической реакции. Превращение фруктозо-1,6-бис-фосфата во фруктозо-6-фосфат катализируется специфической фосфатазой:

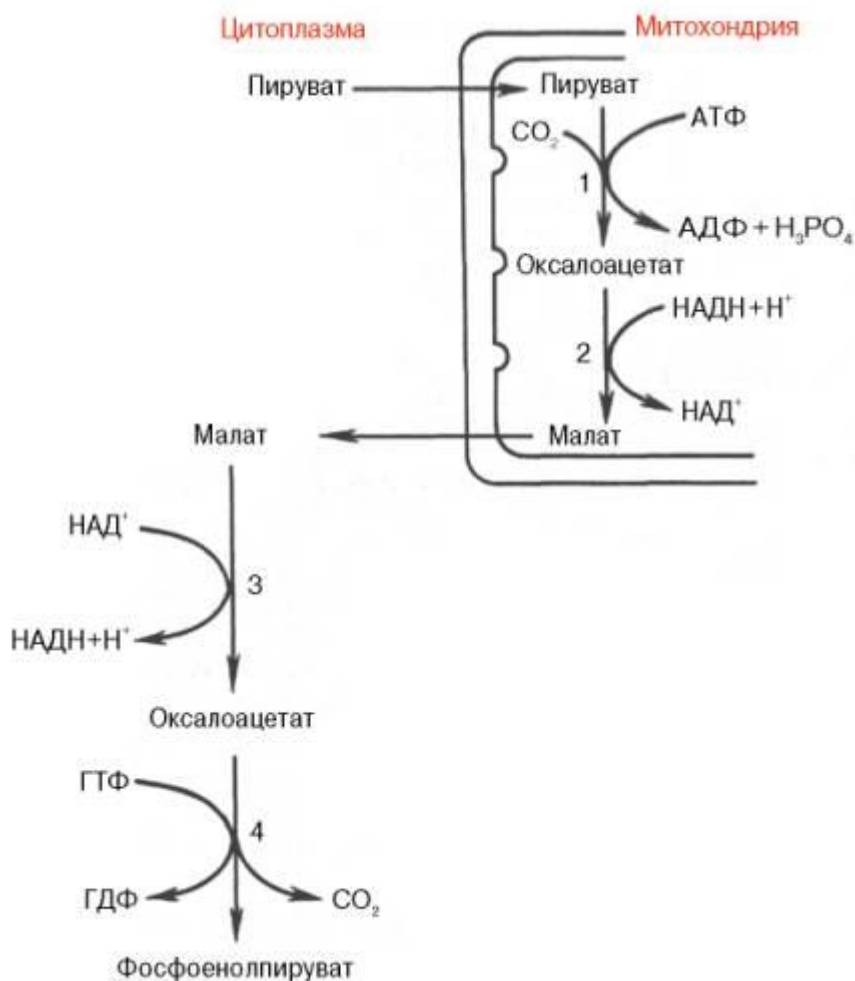


Рис. 10.6. Образование фосфоенол-пирувата из пирувата. 1 - пируваткарбоксилаза; 2 - малатдегидрогеназа (митохондриальная); 3 - малатдегидрогеназа (цитоплазматическая); 4 - фосфоенолпируват-карбоксикиназа.

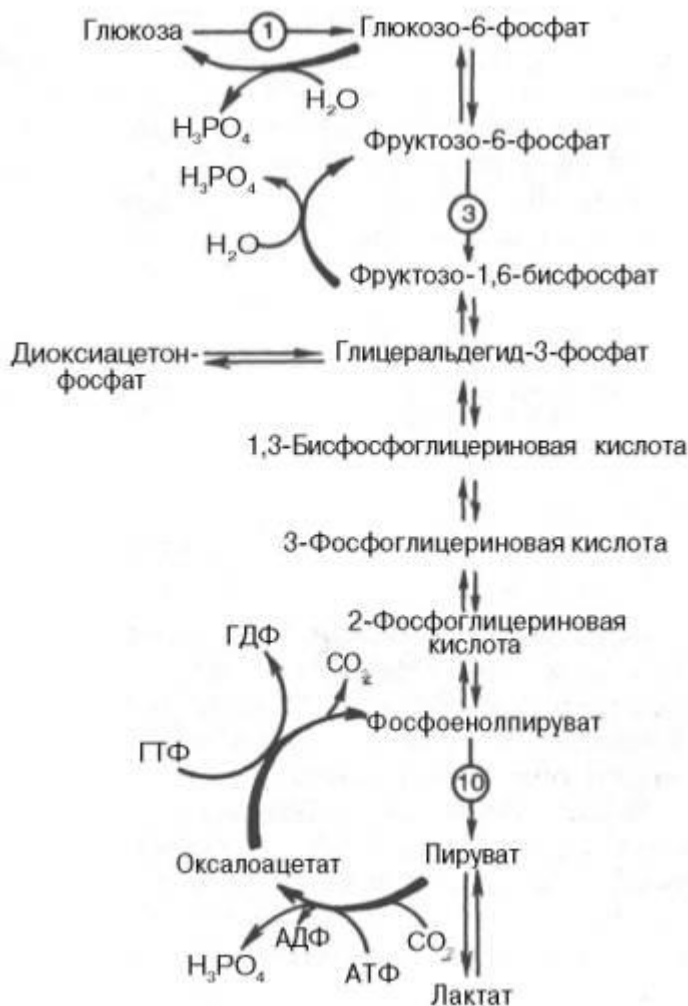


Рис. 10.7. Гликолиз и глюконеогенез. Красными стрелками указаны «обходные» пути глюконеогенеза при биосинтезе глюкозы из пирувата и лактата; цифры в кружках обозначают соответствующую стадию гликолиза.

Образование глюкозы из глюкозо-6-фосфата. В последующей обратимой стадии биосинтеза глюкозы фруктозо-6-фосфат превращается в глюкозо-6-фосфат. Последний может дефосфорилироваться (т.е. реакция идет в обход гексокиназной реакции) под влиянием фермента глюкозо-6-фосфатазы:

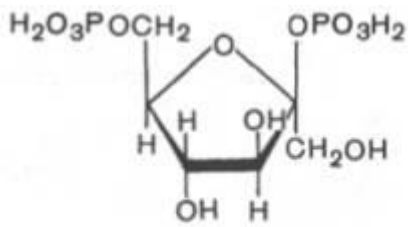


На рис. 10.7 представлены «обходные» реакции глюконеогенеза при биосинтезе глюкозы из пирувата и лактата.

Регуляция глюконеогенеза. Важным моментом в регуляции глюконеогенеза является реакция, катализируемая пируваткарбоксилазой. Роль положительного аллостерического модулятора этого фермента выполняет ацетил-КоА. В отсутствие ацетил-КоА фермент почти полностью лишен активности. Когда в клетке накапливается митохондриальный ацетил-КоА, биосинтез глюкозы из пирувата усиливается. Известно, что ацетил-КоА одновременно является отрицательным модулятором пируватдегидрогеназного комплекса (см. далее). Следовательно, накопление ацетил-КоА замедляет окислительное декарбоксилирование пирувата, что также способствует превращению последнего в глюкозу.

Другой важный момент в регуляции глюконеогенеза – реакция, катализируемая фруктозо-1,6-бисфосфатазой – ферментом, который ингибируется АМФ. Противоположное действие АМФ оказывает на фосфофруктокиназу, т. е. для этого фермента он является аллостерическим активатором. При низкой концентрации АМФ и высоком уровне АТФ происходит стимуляция глюконеогенеза. Напротив, когда величина отношения АТФ/АМФ мала, в клетке наблюдается расщепление глюкозы.

В 1980 г. группой бельгийских исследователей (Г. Херс и др.) в ткани печени был открыт фруктозо-2,6-бисфосфат, который является мощным регулятором активности двух перечисленных ферментов:



β-Фруктозо-2,6-бисфосфат

Фруктозо-2,6-бисфосфат активирует фосфофруктокиназу и ингибирует фруктозо-1,6-бисфосфатазу. Повышение в клетке уровня фруктозо-2,6-бис-фосфата способствует усилению гликолиза и уменьшению скорости глю-конеогенеза. При снижении концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата отмечается обратная картина.

Установлено, что биосинтез фруктозо-2,6-бисфосфата происходит из фруктозо-6-фосфата при участии АТФ, а распадается он на фруктозо-6-фосфат и неорганический фосфат. Биосинтез и распад фруктозо-2,6-бис-фосфата катализируется одним и тем же ферментом, т.е. данный фермент бифункционален, он обладает и фосфокиназной, и фосфатазной активностью:



Показано также, что бифункциональный фермент в свою очередь регулируется путем цАМФ-зависимого фосфорилирования. Фосфорилирование приводит к увеличению фосфатазной активности и снижению фосфо-киназной активности бифункционального фермента. Этот механизм объясняет быстрое воздействие гормонов, в частности глюкагона, на уровень фруктозо-2,6-бисфосфата в клетке (см. главу 16).

Активность бифункционального фермента регулируется также некоторыми метаболитами, среди которых наибольшее значение имеет гли-церол-3-фосфат. Действие глицерол-3-фосфата на фермент по своей направленности аналогично эффекту, который наблюдается при его фосфори-лировании с помощью цАМФ-зависимых протеинкиназ.

В настоящее время фруктозо-2,6-бисфосфат, помимо печени, обнаружен и в других органах и тканях животных, а также у растений и микроорганизмов.

Показано, что глюконеогенез может регулироваться и непрямым путем, т.е. через изменение активности фермента, непосредственно не участвующего в синтезе глюкозы. Так, установлено, что фермент гликолизапиру-ваткиназа существует в 2 формах – L и M. Форма L (от англ. liver – печень) преобладает в тканях, способных к глюконеогенезу. Эта форма ингибируется избытком АТФ и некоторыми аминокислотами, в частности ала-нином. M-форма (от англ. muscle – мышцы) такой регуляции не подвержена. В условиях достаточного обеспечения клетки энергией происходит ингибирование L-формы пируваткиназы. Как следствие ингибирования замедляется гликолиз и создаются условия, благоприятствующие глюконеогене-зу.

Наконец, интересно отметить, что между гликолизом, интенсивно протекающим в мышечной ткани при ее активной деятельности, и глюко-неогенезом, особенно характерным для печеночной ткани, существует тесная взаимосвязь. При максимальной активности мышц в результате усиления гликолиза образуется избыток молочной кислоты,

диффундирующей в кровь, в печени значительная ее часть превращается в глюкозу(глюконеогенез). Такая глюкоза затем может быть использована как энергетический субстрат, необходимый для деятельности мышечной ткани. Взаимосвязь между процессами гликолиза в мышечной ткани и глюконеогенезом в печени может быть представлена в виде схемы:



I. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

Контрольные вопросы

1. Как были открыты световые и темновые реакции фотосинтеза?
2. Какие функции в процессе фотосинтеза выполняют молекулы хлорофилла?
3. Каково участие в фотохимических реакциях каротиноидных пигментов?
4. Как под действием света инициируется перенос электронов и протонов по системе переносчиков, локализованных в тилакоидных мембранах хлоропластов?
5. Каковы механизмы нециклического и циклического транспорта электронов?
6. Какие механизмы реализуются в процессе синтеза восстановленных динуклеотидов НАДФ×Н и молекул АТФ с участием хлоропластного АТФ-синтетазного комплекса?
7. В какой последовательности происходит синтез гексозы из CO_2 и H_2O в ходе реакций цикла Кальвина?
8. При каких условиях усиливаются реакции фотодыхания и как они влияют на эффективность процесса фотосинтеза?
9. Как происходит ассимиляция CO_2 у C_4 -растений?
10. Какова эффективность использования энергии при фотосинтезе?
11. По каким механизмам происходит образование неуглеводных продуктов фотосинтеза?
12. Как зависит от условий окружающей среды выход продуктов фотосинтеза?
13. В чём состоят особенности фотосинтеза у бактерий?
14. Какие биологические реакции происходят при хемосинтезе?
15. Как были открыты реакции биологического окисления, называемого дыханием?
16. В какой последовательности осуществляются реакции гликолиза?
17. Какие химические и биоэнергетические продукты образуются в ходе гликолиза, а также из продуктов гликолиза?
18. По каким механизмам происходит превращение пировиноградной кислоты в продукты реакций цикла Кребса?
19. Какие химические и биоэнергетические продукты образуются в реакциях цикла Кребса?
20. Как происходит окисление восстановленных динуклеотидов, образующихся в цикле Кребса, с помощью ферментных комплексов митохондриальных мембран?
21. Каков механизм окислительного фосфорилирования?

22. С какой эффективностью используется энергия дыхания для синтеза АТФ?
23. Как влияют факторы окружающей среды на интенсивность дыхания растительных клеток? 24. Какие биохимические реакции происходят в пентозофосфатном цикле и какова его биологическая роль?
25. Как моносахариды превращаются в кислоты?
26. Каковы механизмы анаэробного дыхания?
27. Как происходит синтез из моносахаридов спиртов и аскорбиновой кислоты?
28. По какому пути осуществляется обращение реакций гликолиза и какое это имеет значение для организмов?
29. Какие известны взаимные превращения гексоз (глюкозы, фруктозы, маннозы и галактозы)? 30. Каковы механизмы образования в организмах рибозы, ксилозы, арабинозы, эритрозы, глицеринового альдегида и диоксиацетона?
31. Как осуществляются синтез и превращения сахарозы и других олигосахаридов?
32. Какие биохимические реакции лежат в основе синтеза крахмала, полифруктозидов, целлюлозы, гемицеллюлоз, пектиновых веществ?

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Гипертиреоз: биохимические основы ведущих симптомов».

III Список используемой литературы:

Обязательная:

1. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;
2. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

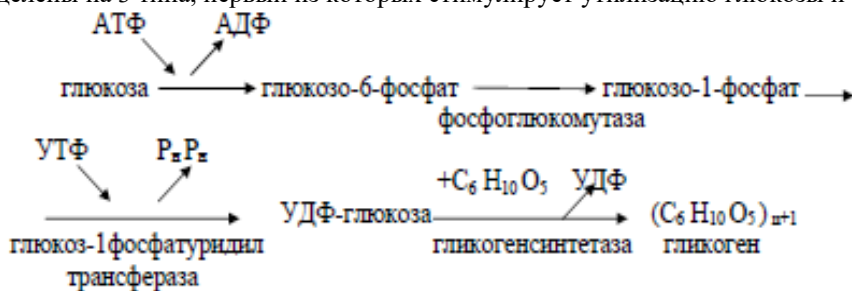
1. ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
2. МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Гормональная регуляция уровня глюкозы в крови. Качественное определение уровня глюкозы в крови

I. Научно-методическое обоснование темы:

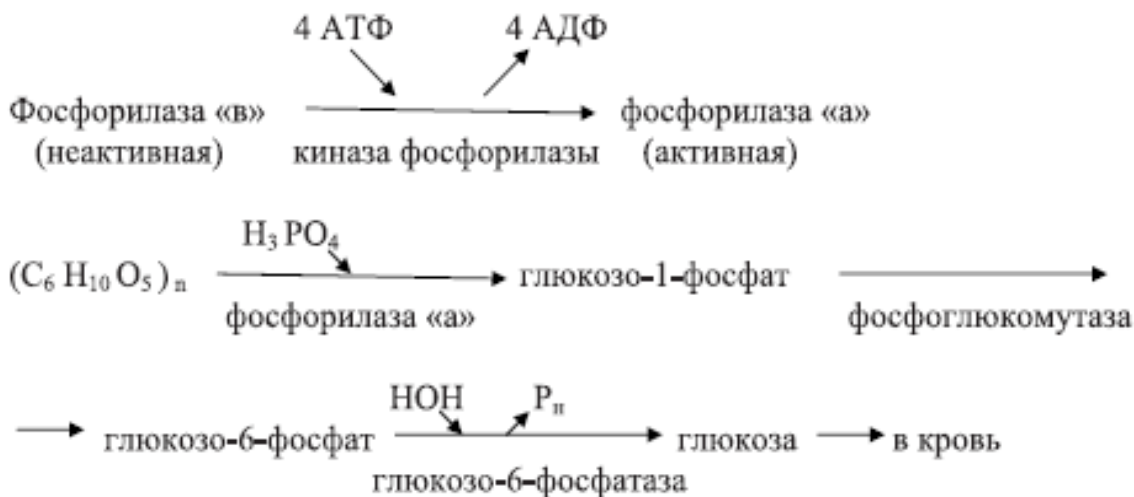
Интегральным показателем баланса обмена углеводов в организме человека и животных является концентрация глюкозы в крови. Этот показатель стабилен и составляет 4,2-5,3 ммоль/л. Концентрация же сахара (глюкоза и другие редуцирующие вещества несколько больше - 4,4-6,7 ммоль/л или 80-120 мг/100 мл. Поддержание уровня глюкозы в пределах нормы важно потому, что клетки ЦНС, мозгового слоя надпочечников и крови используют ее в качестве источника энергии. Уровень глюкозы в крови зависит, с одной стороны, от притока моносахаридов в кровь из кишечника, печени и почек и, с другой стороны, от его оттока в работающие и депонирующие ткани. Центральным органом, обеспечивающим приток глюкозы в кровь, является печень, в которой происходят процессы мобилизации гликогена и глюконеогенеза.

Отток глюкозы из крови в ткани находится в прямой зависимости от скорости ее транспорта в мышечные, адипозные и лимфоидные клетки, мембраны которых создают барьер для проникновения в них глюкозы. Метаболическая утилизация глюкозы, в свою очередь, зависит от проницаемости цитоплазматических мембран, ключевых ферментов ее распада. Все процессы, сопряженные с транспортом и метаболизмом глюкозы, непосредственно контролируются комплексом гормональных факторов, которые по действию на общее направление обмена и уровень гликемии могут быть условно разделены на 3 типа, первый из которых стимулирует утилизацию глюкозы и ее депонирование в форме гликогена,



но тормозит мобилизацию гликогена и глюконеогенез, а, следовательно вызывает снижение концентрации глюкозы в крови (инсулин).

Второй тип гормонов стимулирует распад гликогена и глюконеогенез, а, следовательно, вызывает повышение концентрации глюкозы в крови. К гормонам такого типа относятся глюкагон, секретин, ВИП и адреналин, содержание которого возрастает в крови при эмоциональном возбуждении, голоде, длительной работе, под влиянием холодовых факторов и т.д. Эти гормоны активируют каскадный механизм регуляции фермента фосфорилазы и распад гликогена:



В мышцах из-за отсутствия глюкозо-6-фосфатазы глюкозо-6- фосфат окисляется до лактата и обеспечивает работающую мышцу энергией.

Гормоны третьего типа стимулируют глюконеогенез в печени, тормозят утилизацию глюкозы различными клетками и, хотя усиливают депонирование глюкозы гепатоцитами, преобладают первые два эффекта, что приводит к повышению концентрации глюкозы в крови. К таким гормонам относятся глюкокортикоиды, СТГ и соматомедины.

Одной из причин утилизации глюкозы в тканях является стимуляция гликолиза, которая осуществляется активацией ключевых ферментов гликолиза (гексо- и глю ко киназы). Определенную роль в стимуляции катаболизма глюкозы инсулином пентозофос- фатным путем окисления играет активация глюкозо-6-фосфатде- гидрогеназной реакции.

Главной причиной стимуляции потребления глюкозы мышечными и жировыми клетками является избирательное повышение проницаемости мембран этих клеток к моносахаридам. Усиление гликолиза, по-видимому, важно не столько для образования энергии, сколько для накопления ацетил-Ко-А, малонил-Ко-А и гли- церол-3-фосфата, которые являются предшественниками высших жирных кислот и триацилглицеролов. В печени и адипозных тканях для повышения уровня липогенеза из глюкозы существенную роль играет стимуляция глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакции, которая

приводит к накоплению восстановленной формы кофермента НАДФ Н⁺(Н⁺), необходимого для редуцтазных реак-ций. При этом 3-5% глюкозы превращается в печени в гликоген, а более 30% - накапливается в виде жира в депонируемых органах. Повышение концентрации глюкозы в крови - гипергликемия может быть следствием:

1. Поступления углеводов с пищей (кратковременная алиментарная гипергликемия).
2. Возбуждения ЦНС (эмоциональная гипергликемия).
3. Гиперфункции аденогипофиза (избыток СТГ при акромегалии, болезни Иценко-Кушинга).
4. Гиперпродукции кортизола при опухолях коры надпочечников.
5. Феохромоцитомы - опухоли мозгового слоя надпочечников (гиперпродукции адреналина).
6. Сахарного диабета (недостаточность инсулина). Пониже-ние концентрации глюкозы в крови - гипогликемия - возникает при:
 9. Гипофизарной кахексии (пангипопитуитаризм-недостаточность гормона роста).
 10. Аддисоновой болезни (первичная недостаточность надпочечников).
 11. Опухолевых поражениях островкового аппарата поджелудочной железы (избыток инсулина).
 12. Передозировке инсулина.
 13. Болезни Гирке.
 14. Длительном голодании.
 15. Почечной глюкозурии.

II. Цель деятельности Обучающийсяовна занятии:

Обучающийся должен знать:

1. Понятие о глюкозе крови и других редуцирующих веществах.
2. Пути использования глюкозы в клетке.
3. Взаимоотношения между процессами катаболизма и анаболизма глюкозы.
4. Регуляция углеводного обмена. Роль гормонов.
5. Нарушения углеводного обмена: углеводное голодание, сахарный диабет.
6. Диагностическое значение сахарных кривых.

Обучающийся должен уметь:

1. Определять содержание глюкозы в крови.
2. Интерпретировать полученные результаты.

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

1. Глюкоза крови как важнейший фактор-метаболит углеводного обмена.
2. Роль печени в регуляции уровня сахара крови. Взаимоотношения между процессами катаболизма и анаболизма глюкозы.
3. Глюконеогенез (цикл Кори).
4. Роль гормонов (инсулина и контринсулярных гормонов) в регуляции резервирования и мобилизации гликогена.
5. Нарушение углеводного обмена: углеводное голодание и сахарный диабет.
6. Сахарные кривые, их диагностическое значение.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Источники глюкозы крови.
2. Понятие о глюкозе крови и других редуцирующих веществах.
Пути использования глюкозы в клетке.
Гормональная регуляция активности ферментов.
Пути использования глюкозо-6-фосфата в клетке.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Сахар крови как интегральный показатель углеводного обмена.
2. Синтез и мобилизация гликогена. Гормональная регуляция процесса.
3. Роль гликогенсинтазы и фосфоорилазы в регуляции обмена глюкозы.
4. Глюконеогенез и его значение в поддержании гомеостаза глюкозы крови.
5. Значение инсулина и контринсулярных гормонов в регуляции сахара крови.
6. Биохимические нарушения обмена углеводов при сахарном диабете.
7. Характерные проявления диабетической гиперосмолярной и гипогликемической комы.
8. Диагностика скрытого сахарного диабета. Сахарные кривые.

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:

1. Физиологическая гипогликемия новорожденных.
2. Особенности сахарных кривых у детей. Глюконеогенез у детей.

IX. Самостоятельная работа обучающихся:

1. Энергообеспечение работающей мышцы в ходе реакций гликолиза.

X. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Нарушение углеводного обмена-сахарный диабет. Гликогенозы.

Сахарный диабет (СД) – полиэтиологическое заболевание, связанное:

- со снижением количества β клеток островков Лангерганса,
- с нарушениями на уровне синтеза инсулина,
- с мутациями, приводящими к молекулярному дефекту гормона,
- со снижением числа рецепторов к инсулину и их аффинности в клетках-мишенях,
- с нарушениями внутриклеточной передачи гормонального сигнала.

Выделяют два основных типа сахарного диабета:

1. Инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД, диабет I типа) – диабет детей и подростков (ювенильный), его доля составляет около 20% от всех случаев СД.
2. Инсулиннезависимый сахарный диабет (ИНЗСД, диабет II типа) – диабет взрослых, его доля – около 80%.

Подразделение типов СД на взрослый и ювенильный не всегда корректно, так как встречаются случаи развития ИНЗСД в раннем возрасте, также ИНЗСД может переходить в инсулинзависимую форму.

Причины сахарного диабета

Развитие **ИЗСД** обусловлено **недостаточным синтезом инсулина** в β -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы. Среди причин этого в настоящее время на первый план выдвигаются аутоиммунные поражения и инфицирование β -тропными вирусами (вирусы Коксаки, Эпштейна-Бар, эпидемического паротита).



Для **ИНЗСД** ведущей причиной является **инсулинорезистентность** из-за снижения чувствительности клеток-мишеней к гормону

Причины инсулинорезистентности

Рецепторные механизмы

Функциональные нарушения рецепторов - замедляют связывание инсулина и ответ на него:

- увеличение **диаметра** и **площади поверхности** жировых клеток (ожирение) - снижение скорости образования рецепторных микроагрегатов,
- повышенная **вязкость** мембран (снижение доли ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах, увеличение содержания холестерина),
- блокирование инсулиновых рецепторов **антителами**,
- нарушение мембран в результате активации **процессов ПОЛ**.

Структурные нарушения рецепторов- не позволяют связываться с гормоном или отвечать на его сигнал.

- изменение конформации рецепторов инсулина под влиянием продуктов **окислительного стресса**.

Пострецепторные механизмы

Пострецепторные механизмы сопровождаются ослаблением проведения сигнала через ФИ-3-киназный путь:

1. Дефекты трансмембранных переносчиков глюкозы (ГлюТ4),
2. Нарушение активации белков сигнального пути.

В настоящее время **главной** причиной инсулинорезистентности считают ослабление проведения сигнала через IRS-ФИ-3-киназный путь.

Предложено два механизма возникновения резистентности к инсулину:

- фосфорилирование серина (но не тирозина) в составе IRS уменьшает его способность связываться с ФИ-3-киназой и ослабляет ее активирование. Данный процесс катализируется множеством серин-треониновых киназ, активность которых повышается при воспалении, стрессе, гиперлипидемиях, ожирении, переедании, дисфункции митохондрий.
- нарушение баланса между количеством субъединиц ФИ-3-киназы (p85 и p110), т.к. эти субъединицы могут конкурировать за одни и те же участки связывания с белком IRS. Этот дисбаланс меняет активность фермента и снижает передачу сигнала. Причиной патологического повышения отношения p85/p110 предполагают высококалорийное питание.

Развивающуюся при беременности инсулинорезистентность связывают с увеличенной экспрессией в клетках скелетных мышц субъединицы p85, вызванной повышением концентрации человеческого плацентарного гормона роста. Соответственно, изменяется соотношение p85/p110 и ухудшается развёртывание быстрых эффектов инсулина.



Причины развития инсулиннезависимого сахарного диабета
Сравнительная характеристика типов сахарного диабета

	Инсулинзависимый СД	Инсулиннезависимый СД
Возраст (чаще всего)	Дети, подростки	Средний, пожилой
Проявление симптомокомплекса	Острое (несколько дней)	Постепенное (годы)
Внешний вид (до лечения)	Худощавое	У 80% ожирение
Снижение массы тела (до лечения)	Обычно есть	Не характерно
Концентрация инсулина в крови	Снижена в 2-10 раз	В норме или повышена
Концентрация С-пептида	Резко снижена или отсутствует	В норме или повышена
Семейный анамнез	Отягощен редко	Часто отягощен
Зависимость от инсулина	Полная	Только у 20%
Склонность к кетоацидозу	Есть	Нет

Диагностика

Диагноз инсулинзависимого сахарного диабета ставится если:

1. Имеются классические симптомы (полиурия, полидипсия, снижение массы тела) и концентрация глюкозы натощак в нескольких повторных анализах капиллярной крови более 6,1 ммоль/л.
2. В сомнительных (и только!) случаях – отсутствие симптомов в сочетании неоднозначностью результатов анализов – рекомендуется нагрузочная проба с глюкозой. Она заключается в приеме испытуемым глюкозы из расчета 1,5-2,0 г на кг массы тела. Пробы крови отбирают непосредственно перед приемом глюкозы (нулевая минута, "тощаковый" уровень) и далее через 30, 60, 90 и 120 минут, при необходимости на 180 минуте.

В норме в относительных единицах повышение концентрации глюкозы составляет 50-75% к 60 минуте исследования и снижается до исходных величин к 90-120 минутам. В **абсолютных единицах** по рекомендации ВОЗ подъем уровня глюкозы должен быть не более 7,5 ммоль/л при исходном 4,0-5,5 ммоль/л.

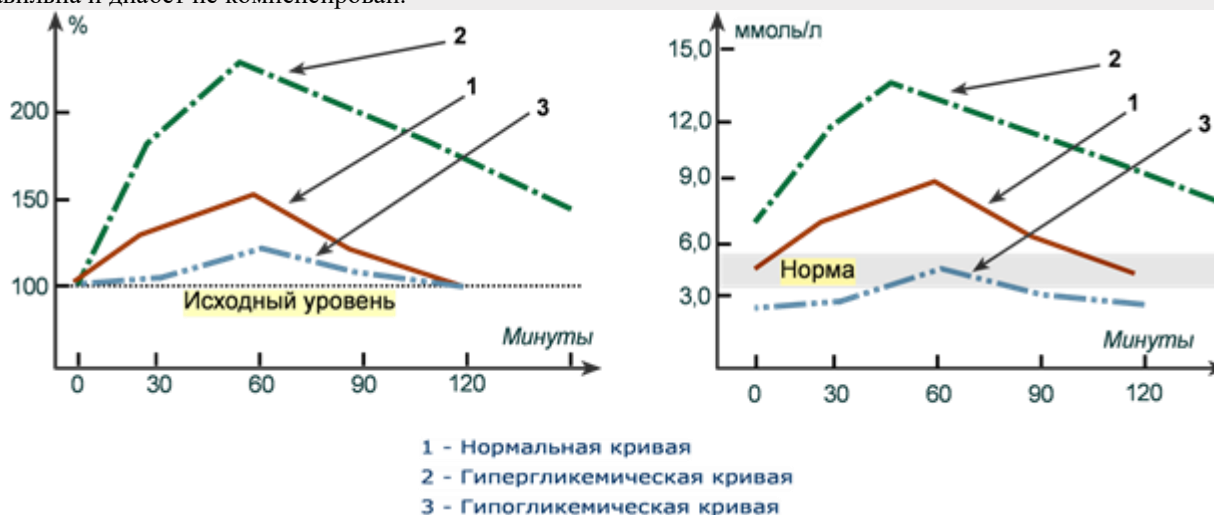
Иногда пробы берут только на 0 и 120 минутах, однако это нежелательно, так как упускается дополнительная информация о состоянии организма. Например, по крутизне восходящей части кривой можно судить **об активности n.vagus**, отвечающего за секрецию инсулина, о всасывающей функции **кишечника**, о способности **печени** усваивать глюкозу. К примеру, "голодная" печень с истощенными запасами гликогена более активно потребляет глюкозу из крови воротной вены по сравнению с "сытой", и подъем кривой более плавный. Аналогичная кривая наблюдается при ухудшении всасывания глюкозы вследствие заболевания слизистой кишечника. При циррозе печени отмечается обратная картина.

Довольно часто у взрослых вместо глюкозной нагрузки используется обычный завтрак, и кровь отбирают через 1, 2 или 2,5 часа после него. Если уровень глюкозы в указанное время не возвращается к норме, то подтверждается диагноз сахарного диабета.

Гипергликемические кривые проявляются повышенным в 2-3 раза уровнем глюкозы крови после нагрузки, что свидетельствует о нарушении гормональных взаимодействий.

Нормализация показателей происходит крайне медленно и завершается не ранее 150-180 минут. Наиболее частой причиной таких кривых является скрытый сахарный диабет 1 и 2 типа или повреждение паренхимы печени. Избыток катехоламинов при феохромоцитоме и трийодтиронина при гиперфункции щитовидной железы, гиперкортицизм, заболевания гипоталамуса и гипофиза также проявляются в виде гипергликемической кривой.

При измерении уровня глюкозы после еды у больных с хорошо контролируемым сахарным диабетом результаты должны укладываться в диапазон 7,6-9,0 ммоль/л. Величины большие 9,0 ммоль/л означают, что дозировка инсулина неправильна и диабет не компенсирован.



Типы гликемических кривых после нагрузки глюкозой

Гипогликемические кривые – повышение концентрации глюкозы не более, чем на 25% с быстрым возвращением к исходным значениям. Наблюдаются при аденоме островков Лангерганса, гипотиреозе, гипофункции коры надпочечников, заболеваниях кишечника и дисбактериозе, гельминтозе.

Осложнения сахарного диабета

Быстрые последствия

Быстрые последствия, как правило, характерны для ИЗСД.

1. **Высокая гипергликемия** – так как практически отсутствует влияние эндогенного инсулина и превалирует влияние глюкагона, адреналина, кортизола, гормона роста.

2. **Глюкозурия** – в результате превышения почечного порога для глюкозы, т.е. концентрации глюкозы в крови, при которой она появляется в моче (около 10,0 ммоль/л). В норме в моче уровень глюкозы 0,8 ммоль/л и до 2,78 ммоль/сут, в других единицах около 0,5 г/сут, при СД количество теряемой глюкозы составляет до 100 г/сут и более.

3. **Преобладание катаболизма** белков над анаболизмом ведет к накоплению продуктов азотистого обмена, в первую очередь, мочевины и ее повышенному выведению. Углеродный скелет аминокислот уходит в глюконеогенез.

4. Глюкоза и мочевина осмотически удерживают воду в просвете почечного канальца и возникает **полиурия**, объем мочи возрастает в 2-3 раза. Активируется центр жажды и начинается полидипсия.

5. Повышенный распад ТАГ в жировой ткани и печени обуславливает аномально высокое окисление жирных кислот и накопление их недоокисленных продуктов – **кетоновых тел**. Это приводит к кетонемии, кетонурии и кетоацидозу. При сахарном диабете концентрация кетоновых тел возрастает в 100-200 раз и достигает 350 мг% (норма 2 мг% или 0,1-0,6 ммоль/л).

6. При полиурии с мочой теряются ионы **натрия** и **калия**, ионы **бикарбоната**, что усугубляет ацидоз.

7. В результате п.п.4,5,6 возникает **дегидратация** (в тяжелых случаях до 5 л) организма, которая заключается в падении объема крови, приводит к обезвоживанию клеток и их сморщиванию (дряблая кожа, запавшие глаза, мягкие глазные яблоки, сухость слизистых), уменьшению артериального давления. Ацидоз вызывает одышку (дыхание Куссмауля, *Kussmaul*) и дополнительную дегидратацию.

8. Дегидратация неминуемо приводит к **недостаточности кровообращения** в тканях – активируется анаэробный гликолиз, накапливается лактат и в дополнение к кетоацидозу возникает лактоацидоз.

10. Закисление среды ухудшает взаимодействие инсулина с рецепторами, клетки становятся нечувствительными к инсулину – развивается **инсулинорезистентность**.

11. Ацидоз крови уменьшает концентрацию 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах. Это, повышая сродство гемоглобина к кислороду, создает **тканевую гипоксию** и усугубляет лактоацидоз.



Быстрые осложнения инсулинзависимого сахарного диабета

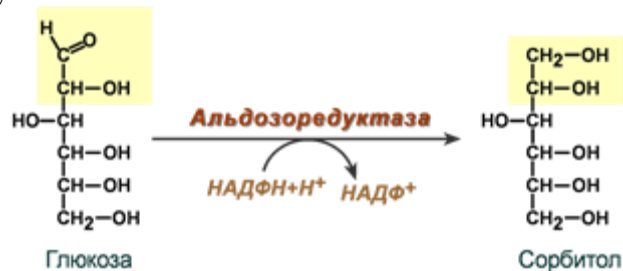
Отдаленные последствия

Характерны для обоих типов СД.

Гипергликемия резко повышает потребление глюкозы инсулиннезависимыми тканями (в частности, клетки артериальных стенок, эндотелий, клетки Шванна, эритроциты, хрусталик и сетчатка глаза, семенники и гломерулярные клетки почек), в них вынужденно активируются особые пути метаболизма глюкозы. Интенсивность последних определяется только доступностью глюкозы:

1. Превращение глюкозы в сорбитол.

Сорбитол плохо проникает через клеточные мембраны, его накопление в цитозоле приводит к осмотическому набуханию клеток и нарушению их функций. Например, возникновение катаракты хрусталика, развитие нейропатий (нарушение осязания) из-за нарушений в клетках Шванна.



Реакция превращения глюкозы в сорбитол

2. Неферментативное **гликозилирование** различных белков, изменение их свойств и активация их синтеза за счет избытка энергии:

- увеличивается синтез гликопротеинов базальной мембраны почечных клубочков, что приводит к окклюзии капилляров и нарушению фильтрации,
- увеличивается синтез гликопротеинов в стекловидном теле и сетчатке глаза, что вызывает отек сетчатки и кровоизлияния,

- гликозилированные белки хрусталика объединяются в крупные агрегаты, рассеивающие свет, что вызывает помутнение хрусталика и **катаракту**,
- гликозилирование гемоглобина в эритроцитах, образование гликозилированного гемоглобина **HbA1c**,
- гликозилирование белков свертывающей системы, что увеличивает **вязкость крови**,
- гликозилирование белков ЛПНП уменьшает их связывание с рецепторами и повышает концентрацию ХС в крови, что вызывает **макроангиопатии** и развитие **атеросклероза** сосудов мозга, сердца, почек, конечностей.
- гликозилирование белков ЛПВП, что усиливает их сродство к рецепторам и быструю элиминацию из кровотока,
- в конечном итоге возникают макроангиопатии, развивается **атеросклероз** сосудов мозга, сердца, почек, конечностей. Характерно в основном для ИНЗСД.

Диагностические критерии сахарного диабета

Выявление сахарного диабета базируется на показателях содержания глюкозы в крови натощак и после нагрузки глюкозой. Нормальное содержание глюкозы в крови натощак составляет 3,3 - 5,5 ммоль/л. **Содержание глюкозы в крови** натощак более 7,8 ммоль/л при повторном определении может служить основанием для установления диагноза сахарного диабета. Согласно исследованиям последних лет, с возрастом содержание глюкозы в крови увеличивается, поэтому пациентам после 60 лет необходимо проводить коррекцию показателей нормы, прибавляя 0,056 ммоль/л за каждый последующий год. У практически здоровых людей престарелого возраста гликемия натощак может варьировать от 4,4 до 8,0 ммоль/л. [2], стр.9]

При повышении уровня глюкозы в крови выше 8,8 ммоль/л появляется **глюкозурия**, которая редко возникает при нормогликемии как следствие снижения порога проходимости почечных канальцев для глюкозы (почечный диабет). Такая глюкозурия может быть первичной (идеопатическая) или вторичной (при заболевании почек). Она отмечается так же у беременных и при синдроме Де Тони - Фанкони - Дебре (ферментная тубулопатия, при которой нарушается реабсорбция глюкозы, аминокислот, фосфатов и бикарбонатов в почечных канальцах).

Когда сахарный диабет сочетается с нефросклерозом, при высокой гликемии, наоборот, выявляется минимальная глюкозурия или её нет вовсе. С возрастом повышается почечный порог для глюкозы, поэтому у больных сахарным диабетом 2 типа компенсацию углеводного обмена лучше контролировать по содержанию глюкозы в крови (гликемия), а не по её экскреции с мочой.

В том случае, если уровень глюкозы в крови натощак ниже 6,7 ммоль/л и клинические проявления отсутствуют, необходимо провести глюкозотолерантный тест (ГТТ).

Условия проведения нагрузки:

Последние 3 дня перед исследованием можно придерживаться свободной диеты с содержанием углеводов более чем 150 г в день и обычной физической активности. Пробу проводят натощак, и перед ней пациент не принимает пищу в течение 8 - 14 часов, пьёт умеренное количество жидкости.

После взятия образцов крови он в течение 5 минут принимает 75 г глюкозы, растворённой в 250 - 300 мл воды. Для детей доза глюкозы - 1,75 г на 1 кг массы тела. Через 2 часа кровь берут повторно.

О нарушенной толерантности к глюкозе по новым рекомендациям свидетельствует повышение содержания глюкозы натощак - в плазме венозной или капиллярной крови - не менее 7,8 ммоль/л; в цельной венозной или капиллярной крови - не менее 6,7 ммоль/л.

Через 2 часа после приёма 75 г глюкозы содержание глюкозы - в плазме венозной крови составляет - 8,9 - 12,2 ммоль/л; - в цельной капиллярной крови - 7,8 - 11,1 ммоль/л [4], стр.128]

Кроме того, как считают эксперты ВОЗ, «нарушенную толерантность к глюкозе» следует считать стадией «нарушенной регуляции глюкозы». Поэтому введено новое понятие «нарушенная гликемия натощак», которая характеризуется уровнем глюкозы в плазменной крови - равен или более 7,8 ммоль/л и через 2 часа не менее 8,9 ммоль/л.

Диагноз сахарного диабета может быть подтверждён определением содержания **гликозилированного (HbA1c) гемоглобина** в крови. В эритроцитах больных диабетом содержится большой процент минорного компонента гемоглобина, в котором содержится глюкоза. Этот неферментативный процесс происходит в течение всей жизни эритроцита (120 дней). HbA1c прямо коррелирует с уровнем глюкозы в крови, составляя 4 - 6 % от общего гемоглобина в крови у практически здоровых лиц, тогда как у страдающих сахарным диабетом уровень этого белка повышен 2 - 3 раза. У больных с первично диагностированным заболеванием содержание HbA1c достигает порой 11,4_2,5 %, а после назначения соответствующей диеты и инсулинотерапии снижается до 5,8_1,2 %. Этот критерий служит для скрининга населения при выявлении нарушений углеводного обмена и для контроля лечения больных диабетом.

Критерии сахарного диабета:

- гликемия выше 11,1 ммоль/л при наличии клинических симптомов диабета;
- гликемия натощак выше 7,8 ммоль/л, выявляемая не менее 2 раз, или повышенный уровень гликозилированного гемоглобина в крови;
- гликемия натощак 7,8 ммоль/л или ниже, а через 2 часа после нагрузки глюкозой выше 11,1 ммоль/л. Глюкозотолерантный тест не требуется проводить если уровень глюкозы натощак превышает 7,8 ммоль/л.

Для диагностики **кетоацидоза** необходимо определение кетоновых тел в крови и моче. При наличии у больного кетоацидоза (при отсутствии указаний в анамнезе на сахарный диабет) проводится дифференциальный диагноз с лактоацидозом, уремией, алкогольным кетоацидозом и некоторыми отравлениями. Если кетоновые тела в моче отсутствуют, уровень глюкозы в крови ниже 8 ммоль/л, то причина ацидоза не связана с диабетом.

Для диагностики поздних осложнений сахарного диабета используют различные методы инструментальной диагностики.

Для выявления **диабетической микроангиопатии** используют методы прижизненной биопсии кожи, мышц, желудка, кишечника, почек. Световая микроскопия позволяет обнаружить пролиферацию эндотелия, дистрофические изменения стенок артериол, венул и капилляров. **Диабетическая нейропатия** основывается на данных обследования больного невропатологом с привлечением при необходимости инструментальных методов, включая электромиографию. Для **диагностики патологии органа зрения** используют определение остроты и поля зрения, исследование глазного дна с определением степени выраженности диабетической ретинопатии. Ранняя диагностика **диабетической нефропатии** достигается путём выявления микроальбуминурии и пункционной биопсии почек.

Гликогенозы: виды, симптомы, лечение

Гликогенозы – это группа достаточно редких наследственных заболеваний, связанных с дефектами различных ферментов, необходимых для синтеза и распада гликогена. При этом происходит накопление нормального или «неправильного» гликогена в органах и тканях человека, что и вызывает клинические проявления заболевания. Преимущественное накопление гликогена может происходить в печени, мышцах, почках. Всего описано 12 форм гликогенозов, отличие которых состоит в характере ферментной недостаточности. Прогноз у каждого вида гликогеноза свой: некоторые имеют благоприятное течение, и больные доживают до старости, другие – заканчиваются летально еще в детском возрасте. Заболевания относят к категории неизлечимых, специфическая терапия на данный момент отсутствует. Основная роль в лечении отводится диетотерапии с высоким содержанием углеводов. В этой статье мы поговорим обо всех известных медицине разновидностях гликогенозов, их симптомах и возможностях лечения.

Что такое гликоген и для чего он нужен?

Гликоген является сложным углеводом, который синтезируется путем соединения между собой молекул глюкозы, которая поступает с пищей. Он представляет собой стратегический запас глюкозы в клетках. Хранится преимущественно в печени и мышцах с той особенностью, что гликоген из печени при своем расщеплении обеспечивает глюкозой весь организм человека, а гликоген из мышц – только лишь сами мышцы. Гликоген в печени может составлять 8% от ее веса, а в мышцах – всего 1%. Но при этом за счет того, что общая мышечная масса в организме значительно больше, чем масса печени, мышечный запас превышает печеночный. Небольшое количество гликогена содержится в почках.

Как только человек приступает к какому-то роду деятельности (физическому или умственному), ему требуется энергия, которую он черпает при расщеплении гликогена и глюкозы. Поначалу расщепляется глюкоза, содержащаяся в крови, однако когда ее запасы исчерпываются (а поступления извне нет), в расход идет гликоген. Израсходованный запас гликогена затем вновь пополняется (при поступлении пищи).

Таким образом, гликоген позволяет человеку вести активную деятельность при относительно больших перерывах в еде, а не быть «привязанным к тарелке».

Этапы превращения глюкозы в гликоген и его расщепление в обратном направлении осуществляются с помощью различных ферментов, причем в печени и мышцах они различные. Нарушения деятельности таких ферментов и приводят к развитию гликогенозов.

Гликогенозы встречаются, в среднем, с частотой 1 случай на 40-68 000 населения. Они всегда носят наследственный характер, то есть возникают тогда, когда в результате генных нарушений изменяется количество или активность одного из ферментов, необходимых для биохимических процессов создания и расщепления гликогена. Тип наследования, в основном, аутосомно-рецессивный (не связан с полом, и для его появления необходимо совпадение патологических генов, полученных от отца и от матери). Из всех 12 разновидностей гликогенозов, известных на сегодняшний день, 9 являются печеночными формами, 2 – мышечными, 1 – либо мышечной, либо генерализованной (с поражением практически всего организма). У каждой из разновидностей гликогенозов имеются свои отличительные особенности.

Дефект фермента	Тип гликогеноза
Глюкозо-6-фосфатазы	1-й тип (болезнь Гирке)
Альфа-1,4-глюкозидазы	2-й тип (болезнь Помпе)
Амило-1,6-глюкозидазы	3-й тип (болезнь Кори)
D-1,4-глюкано- α -глюкозилтрансферазы	4-й тип (болезнь Андерсен)
Гликогенфосфорилазы миоцитов	5-й тип (болезнь МакАрдля)
Гликогенфосфорилазы гепатоцитов	6-й тип (болезнь Гирса)
Фосфоглюкомутазы	7-й тип (болезнь Томпсона)
Фосфофруктомутазы	8-й тип (болезнь Таруи)
Киназы фосфорилазы в гепатоцитах	9-й тип (болезнь Хага)

Гликогеноз 0 типа (агликогеноз)

При гликогенозе часто развиваются гипогликемические состояния, требующие введения глюкозы.

Этот вид гликогеноза возникает при дефекте фермента, задействованного в создании гликогена из глюкозы, в результате чего гликоген просто не образуется в достаточном количестве. То есть возникает дефицит гликогена, поэтому этот гликогеноз стоит под нулевым номером, как бы обособленно от остальных.

При агликогенозе как только весь сахар, имеющийся в крови, израсходуется, развивается гипогликемический синдром с утратой сознания вплоть до комы. Заболевание проявляет себя практически с первых дней жизни, особенно при отсутствии у матери достаточного количества молока при грудном вскармливании. Большие перерывы между кормлениями, ночной промежуток становятся причинами развития коматозного состояния.

Кома развивается в результате отсутствия достаточного энергетического обеспечения мозга. Весьма велика вероятность смертельного исхода в раннем детском возрасте. Если же им удастся выжить, то развитие таких детей, как умственное, так и физическое значительно отличается от сверстников в худшую сторону. Введение глюкозы внутривенно выводит таких больных из коматозного состояния, однако при этом довольно долго сохраняется гипергликемия (поскольку не синтезируется гликоген).

Гликогеноз I типа (болезнь Гирке)

У таких детей может без видимой причины повышаться температура тела.

Источником этой разновидности является дефицит глюкозо-6-фосфатазы. Последствием становится избыточное аккумуляирование гликогена в печени и почках. В крови наблюдается низкое содержание глюкозы (гипогликемия). Возникает своеобразный парадокс: гликогена избыток, но расщепить его нечем, поэтому возникает дефицит глюкозы. Больные требуют очень частых приемов пищи, чтобы концентрация глюкозы в крови была достаточной для обеспечения энергетических нужд.

Болезнь проявляет себя в первые годы жизни. У таких деток нет аппетита, возникают частые рвоты. Наблюдаются проблемы с дыханием из-за обменных нарушений: одышка, кашель. Гипогликемии могут приводить к развитию ком с судорогами. Часто повышается температура без инфекционных причин.

Откладывание гликогена в печени и почках приводит к увеличению этих органов с нарушением их функции. Из-за поражения печени развивается геморрагический синдром (склонность к спонтанным кровотечениям), нарушение фильтрационной функции почек приводит к накоплению мочевой кислоты. Если смертельный исход не наступает больных в раннем возрасте, то в последующем они отстают в физическом развитии, имеют непропорциональное тело (большая голова с «кукольным» выражением лица). Умственное развитие не страдает. Характерна гипотония и гипотрофия мышц. Половое созревание наступает значительно позже, чем у сверстников. У некоторых больных наблюдается снижение количества нейтрофилов в крови. Часто присоединяются вторичные бактериальные инфекции. Больных, которым удалось выжить и повзрослеть, достигают подагрическая нефропатия и аденомы печени.

Поражение почек становится причиной потери белка с мочой и повышения артериального давления. Может возникать почечная недостаточность. Аденомы печени могут перерождаться в рак.

Гликогеноз II типа (болезнь Помпе)

Эта разновидность может быть представлена в виде двух форм: генерализованной (недостаток фермента наблюдается в печени, почках, мышцах) и мышечной (дефицит фермента только в мышцах).

Генерализованная форма дает о себе знать в первые полгода жизни. Связана с дефицитом α -глюкозидазы. Плохой аппетит, беспокойство, вялость, низкий мышечный тонус, задержка развития, нарушения дыхания становятся первыми симптомами. Постепенно увеличиваются в размерах сердце, печень, почки, селезенка. Со стороны дыхательной системы развиваются частые бронхиты и пневмонии. Развивается сердечная недостаточность.

Поражение нервной системы проявляется параличами, нарушением глотания. Прогноз для жизни при генерализованной форме неблагоприятный.

Мышечная форма имеет более благоприятное течение. Является результатом дефицита кислой α -1,4-глюкозидазы только в мышцах. Заявляет о себе позже: приблизительно в 15-25 лет. Основным проявлением мышечной формы являются слабость и снижение тонуса мышц. Помимо мышечных проблем, возникают нарушения осанки (сколиотическая деформация грудного отдела позвоночника), явления незначительной сердечной недостаточности. Больные с этой формой заболевания доживают до старости.

Гликогеноз III типа (болезнь Кори, болезнь Форбса, лимитдекстриноз)

Это самый распространенный гликогеноз. Его причиной становится недостаточность амило-1,6-глюкозидазы, в результате чего синтезируется неправильный гликоген. Неправильный гликоген депонируется в печени, сердце и мышцах. Начальные признаки заболевания выявляются еще у младенцев. У таких детей частые рвоты, задержка в физическом развитии, «кукольное» лицо. Гипогликемии могут приводить к утрате сознания. Мышечный тонус снижается, наряду с этим наблюдается утолщение мышц, связанное с накоплением гликогена. По этой же причине утолщается сердечная мышца (гипертрофия миокарда), из-за чего нарушается сердечная проводимость и ритм сердца. Иногда после периода полового созревания болезнь протекает менее агрессивно. При этом нарушения печени отходят на второй план, а доминирующей симптоматикой становится мышечная слабость и истончение мышц (преимущественно икроножных).

Гликогеноз IV типа (болезнь Андерсена, диффузный гликогеноз с циррозом печени, амилопектиноз)

Становится результатом дефицита амило-(1,4-1,6) -трансглюкозидазы. Это приводит к образованию неправильного гликогена. Эта разновидность гликогеноза может наследоваться сцепленно с полом, а не только аутосомно. С первых дней жизни начинается отложение неправильного гликогена в печени. Это быстро приводит к нарушению деятельности клеток печени, застою желчи, развитию гепатита, а затем и цирроза печени. Желтуха, повышенная кровоточивость, увеличение живота в размерах с накоплением жидкости в брюшной полости (асцит), кожный зуд, интоксикация организма, – все это следствия развившегося цирроза печени. Развиваются генерализованная мышечная гипотрофия и тяжелая кардиомиопатия. Часто присоединяются бактериальные инфекции. Смертельный исход наступает на 3-5 году жизни.

Гликогеноз V типа (болезнь Мак-Ардла, миофосфоорилазная недостаточность)

Это исключительно мышечный гликогеноз, потому что в основе лежит изъясн такого фермента, как мышечная фосфоорилаза. В мышечной ткани происходит отложение нерасщепленного гликогена, из-за чего мышцы уплотняются и утолщаются, однако при этом становятся очень слабыми, быстро утомляющимися. Возникают болезненные мышечные спазмы при физической нагрузке, которые могут сопровождаться повышенной потливостью и бледностью кожных покровов, тахикардией. С мочой может выделяться мышечный белок. Все эти проявления возникают до подросткового периода и постепенно нарастают. Возможно формирование контрактур крупных суставов. По сравнению с другими разновидностями гликогенозов, гликогеноз V типа является доброкачественным заболеванием.

Гликогеноз VI типа (болезнь Герса, гепатофосфоорилазная недостаточность)

В основе такого гликогеноза лежат проблемы с фосфоорилазой печени. В результате гликоген накапливается в печени. Уже у младенцев наблюдается увеличение размеров печени, отмечается отставание ребенка в развитии, дети слабо набирают вес. Вместе с другими обменными нарушениями в крови выявляют повышенное содержание жира. Отмечается увеличенное содержание гликогена в красных кровяных тельцах (эритроцитах).

Гликогеноз VII типа (болезнь Таруи, миофосфофруктокиназная недостаточность)

Заболевание связано с дефицитом миофосфофруктокиназы мышц, из-за чего в них возникает отложение гликогена. По своим клиническим признакам гликогеноз VII типа практически не отличается от гликогеноза V типа и также имеет относительно доброкачественное течение.

Гликогеноз VIII типа (болезнь Томсона)

При этом гликогенозе не известна точная генетическая причина, а изъясн фермента обнаружен в печени и головном мозге. На первое место выходят нарушения в нервной системе. Характерным является нистагм (непроизвольные дрожательные движения глазных яблок), что называют «танцующими глазами» в данном случае, дискоординация мышечных сокращений, что проявляется неточностью движений. Постепенно развиваются нарушение мышечного тонуса, парезы, судорожные подергивания. Неврологические расстройства неуклонно прогрессируют. Печень увеличивается в размерах, нарастают проявления печеночной недостаточности. У таких больных нет перспектив дожить до среднего возраста, заболевание заканчивается смертью в детстве.

Гликогеноз IX типа (болезнь Хага)

Это разновидность гликогеноза передается с половой хромосомой. Источником является дефицит фермента в печени. Накопление гликогена приводит к печеночной недостаточности.

Гликогеноз X типа

Эта разновидность описана всего лишь единственный раз во всем мире. Тип наследования установить не удалось. Заболевание протекало с увеличением печени, сопровождалось болью и напряжением мышц при вовлечении их в работу.

Гликогеноз XI типа (болезнь Фанкони-Бикеля)

Гликогеноз с неустановленным механизмом передачи. Ферментные дефекты обнаружены в печени и почках. Этой разновидности гликогенозов свойственно увеличение размеров и уплотнение печени, отставание в росте. Отличием от других разновидностей гликогенозов является уменьшение количества фосфатов в крови и развитие в связи с этим рахита. По достижении периода полового созревания наблюдается тенденция к некоторому улучшению состояния: печень уменьшается в размерах, содержание фосфора нормализуется, дети начинают расти.

Кукурузный крахмал обеспечивает ребенка глюкозой на несколько часов, это помогает избежать гипогликемии в ночное время.

Гликогенозы, как и практически все генетические заболевания, являются неизлечимой патологией. Все меры медицинской помощи, по существу, являются симптоматическими. Тем не менее, поскольку ряд гликогенозов имеет благоприятный прогноз для жизни при соблюдении ряда условий (в частности мышечная форма II типа, III, V, VI, VII, IX, XI тип), то лечебные мероприятия способствуют уменьшению ряда симптомов и улучшению состояния здоровья пациента.

В основу лечения при гликогенозах положена диетотерапия, позволяющая избежать гипогликемии и второстепенных нарушений метаболических процессов в организме. Суть диеты заключается в изучении гликемического профиля больного и подборе такого режима приема пищи, который позволит избежать прогрессирования биохимических нарушений (нарушений метаболизма жиров, молочной кислоты) и обеспечит достаточный уровень глюкозы в крови. Частые, в том числе ночные, кормления у маленьких детей помогают избежать гипогликемии. Обычно назначается пища, содержащая много белков и углеводов, а жиры ограничиваются. Процентное соотношение приблизительно следующее: углеводы — 70%, белки — 10%, жиры — 20%.

Для того чтобы не приходилось кормить ребенка несколько раз за ночь, может использоваться сырой кукурузный крахмал (назначается детям старше 1 года), который разводят водой в соотношении 1:2. Начинают введение с дозы 0,25 мг/кг, затем ее постепенно увеличивают настолько, чтобы введенной дозы крахмала хватало для обеспечения организма глюкозой на 6-8 часов, то есть на всю ночь. Таким образом, прием крахмала на ночь позволяет отказаться от ночных кормлений, что обеспечивает детям полноценный сон без перерывов.

В тех случаях, когда маленькие дети страдают от частых приступов гипогликемии, и повлиять на это только соблюдением диеты не удается, назначается дополнительное введение чистой глюкозы или смеси, обогащенной мальтодекстрином.

При гликогенозе I типа требуется значительно ограничить продукты, содержащие галактозу и фруктозу (молоко, большинство фруктов). При III типе гликогеноза таких ограничений нет. При VII типе нужно ограничить поступление сахарозы.

В ряде случаев (особенно при возникновении других, интеркуррентных заболеваний у таких детей) одного энтерального питания становится недостаточно, поскольку потребность организма в энергии повышается. Тогда прибегают к кормлению через назогастральный зонд и внутривенным инфузиям в условиях стационара.

Те разновидности гликогенозов, при которых дефекты ферментов локализованы только в мышцах, требуют употребления фруктозы внутрь по 50-100 г в день, комплекса витаминов, аденозинтрифосфорной кислоты.

Из медикаментозных препаратов при гликогенозе I типа используют препараты кальция, витамин Д и В1, аллопуринол (для предотвращения подагры и отложения уратов в почках), никотиновую кислоту (для снижения риска калькулезного холецистита и предотвращения панкреатита). Если с почками начинает выводиться белок, тогда назначают ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (Лизиноприл, Эналаприл и другие).

Для гликогеноза II типа разработана специфическая ферментная терапия (заместительная). Препарат Миозим вводится по 20 мг/кг каждые две недели. Миозим представляет собой созданный с помощью генной инженерии искусственный человеческий фермент α -глюкозидазу. Естественно, эффект тем больше, чем раньше начато лечение.

Но пока что препарат разрешен к применению только в некоторых странах Европы, в Японии и США. Генная инженерия продолжает разработки в этом направлении, пытаясь синтезировать и другие ферменты, необходимые для нормального синтеза и расщепления гликогена, чтобы помочь больным с остальными формами гликогенозов.

Некоторым больным помогает введение глюкокортикоидов, анаболических гормонов и глюкагона. Препараты стимулируют некоторые биохимические процессы (например, глюконеогенез, то есть процесс синтеза глюкозы из углеводовных веществ), тем самым уменьшая проявления заболевания.

Из хирургических методов лечения при некоторых формах гликогенозов используют наложение портокавального анастомоза или трансплантацию печени. Портокавальный анастомоз накладывают больным с тяжелой формой гликогеноза I и III типов. Он позволяет уменьшить обменные нарушения, способствует регрессу размеров печени, улучшает переносимость гипогликемии. Пересадка печени от донора осуществляется при I, III, IV типах гликогенозов. При гликогенозе I типа операция проводится только при неэффективности мероприятий диетотерапии, при гликогенозе III типа — когда печень больного уже не спасти.

Таким образом, гликогенозы — это довольно обширная группа болезней обмена веществ с генетическими истоками. На сегодняшний день, медицина не располагает 100%-ми методами эффективного лечения этого недуга, перспективы в этом направлении принадлежат генной инженерии.

Фруктоземия встречается крайне редко. Имеет наследственную природу и связано с нарушением расщепления молекул некоторых сахаров, содержащихся в фруктах. Основными поражаемыми органами являются печень и почки. Нередко они даже полностью разрушаются.

Несмотря на то что ребенок болен с рождения, первые признаки заболевания появляются только после введения в рацион фруктов. Чаще всего они возникают после того, как ребенку первый раз в жизни дается фруктовый сок. После этого возникает рвота, иногда понос, ребенок отказывается от дальнейшего приема пищи. Если вызвавшие такую реакцию продукты не исключены из рациона и ребенок продолжает их получать, то он начинает терять в весе. В дальнейшем ребенок становится вялым, сонливым, часто падает в обморок, развиваются судороги, во время которых ребенок сильно потеет. Все эти проявления обусловлены низким содержанием в крови глюкозы. При дальнейшем прогрессировании заболевания увеличивается в размерах печень, появляется желтушность кожи, признаки нарушения работы почек. Значительно позже и реже возникают нарушения со стороны нервной системы. Зачастую родители сами замечают, какие продукты приводят к ухудшению состояния ребенка и исключают их из его рациона. Поэтому тяжелые последствия заболевания возникают достаточно редко.

Основными методами, при помощи которых можно правильно поставить диагноз в больнице, являются различные лабораторные исследования.

Лечение фруктоземии в основном состоит в назначении диеты с исключением из рациона ребенка «вредных» продуктов питания. Подобные диетические рекомендации должны выполняться не менее трех последующих лет. Как правило, в дальнейшем переносимость фруктов улучшается, поэтому постепенно их можно добавлять в рацион. Однако существует ряд «особо опасных» продуктов, употребление которых нежелательно. Сюда относят тростниковый сахар, сахарную свеклу, мед, яблоки, груши, сливу, апельсины, арбуз, клубнику, вишню, фруктовые джемы, повидло, морковь, репу, какао.

Прогноз всегда хороший, но лишь при условии строгого соблюдения диеты. галактоземия фруктоземия углеводов лечение

Большое значение для выявления наследственных болезней обмена углеводов имеют методы качественного и количественного определения углеводов в биологических жидкостях организма, основной из которых является кровь. С целью быстрого определения содержания глюкозы в моче используются специальные индикаторные полоски бумаги. Однако данный метод является только лишь относительно точным в связи с тем, что он определяет только наличие глюкозы и ее приблизительное количество. Эти данные получают при изменении цвета индикаторной полоски после помещения ее в мочу исследуемого.

Для выявления болезней депонирования гликогена большое значение имеет нагрузочный тест. В этом случае исследуемому предлагается выпить раствор галактозы с определенным ее количеством, после чего определяют содержание глюкозы в крови. В ряде случаев для уточнения типа болезни необходимо изучение активности ферментов, принимающих участие в обмене глюкозы. Данные ферменты содержатся в мышцах, печени и некоторых других органах. Исследование проводится на кусочках ткани органа, которые берутся при проведении специального метода под названием биопсия.

Галактоземия - наследственная ферментопатия, характеризующаяся нарушением нормального процесса углеводного обмена, а именно – метаболизма галактозы. Признаками галактоземии являются непереносимость грудного молока и молочных смесей, рвота, анорексия, гипотрофия, желтуха, цирроз печени, спленомегалия, отеки, катаракта, задержка психомоторного развития. Скрининг на галактоземию проводится всем новорожденным; дополнительное обследование включает определение уровня галактозы в крови и моче, проведение нагрузочных проб с галактозой и глюкозой, генетическое тестирование, УЗИ брюшной полости, ЭЭГ и др. Основу терапии галактоземии составляет безлактозная диета, назначаемая с первых дней жизни ребенка.

Галактоземия – наследственная патология обмена веществ, обусловленная недостаточностью активности ферментов, принимающих участие в метаболизме галактозы. Неспособность организма утилизировать галактозу приводит к тяжелым поражениям пищеварительной, зрительной и нервной системы детей в самом раннем возрасте. В педиатрии и генетике галактоземия относится к редким генетическим заболеваниям, встречающимся с частотой один случай на 10 000 - 50 000 новорожденных.

Впервые клиника галактоземии была описана в 1908 году у ребенка, страдавшего сильным истощением, гепато- и спленомегалией, галактозурией; при этом заболевание исчезло сразу после отмены молочного питания. Позднее, в 1956 г. ученый Герман Келкер определил, что в основе заболевания лежит нарушение метаболизма галактозы.

Причины галактоземии

Галактоземия является врожденной патологией, наследуемой по аутосомно-рецессивному типу, т. е. заболевание проявляется только в том случае, если ребенок наследует две копии дефектного гена от каждого из родителей. Лица, гетерозиготные по мутантному гену, являются носителями заболевания, однако у них тоже могут развиваться отдельные признаки галактоземии в легкой степени.

Превращение галактозы в глюкозу (метаболический путь Лелуара) происходит при участии 3-х ферментов: галактоза-1-фосфатуридилтрансферазы (GALT), галактокиназы (GALK) и уридиндифосфат-галактозо-4-эпимеразы (GALE). В соответствии с дефицитом этих ферментов различают 1 (классический вариант), 2 и 3 тип галактоземии.

Выделение трех типов галактоземии не совпадает с порядком действия ферментов в процессе метаболического пути Лелуара. Галактоза поступает в организм с пищей, а также образуется в кишечнике в процессе гидролиза дисахарида лактозы. Путь метаболизма галактозы начинается с ее превращения под действием фермента GALK в галактозо-1-фосфат. Затем при участии фермента GALT галактозо-1-фосфат преобразуется в УДФ-галактозу (уридилдифосфогалактозу). После этого с помощью GALE метаболит превращается в УДФ – глюкозу (уридилдифосфоглюкозу).

При недостаточности одного из названных ферментов (GALK, GALT или GALE) концентрация галактозы в крови значительно повышается, в организме накапливаются промежуточные метаболиты галактозы, которые вызывают токсическое поражение различных органов: ЦНС, печени, почек, селезенки, кишечника, глаз и др. Нарушение метаболизма галактозы и составляет суть галактоземии. Наиболее часто в клинической практике встречается классический (1 тип) галактоземии, обусловленный дефектом фермента GALT и нарушением его активности. Ген, кодирующий синтез галактоза-1-фосфатуридилтрансферазы, находится в околоцентромерном участке 2-ой хромосомы.

Симптомы галактоземии

По тяжести клинического течения выделяют тяжелую, среднюю и легкую степени галактоземии.

Первые клинические признаки галактоземии тяжелой степени развиваются очень рано, в первые дни жизни ребенка. Вскоре после кормления новорожденного грудным молоком или молочной смесью возникает рвота и расстройство стула (водянистый понос), нарастает интоксикация. Ребенок становится вялым, отказывается от груди или бутылочки; у него быстро прогрессируют гипотрофия и кахексия. Ребенка могут беспокоить метеоризм, кишечные колики, обильное отхождение газов.

В процессе обследования ребенка с галактоземией неонатологом выявляется угасание рефлексов периода новорожденности. При галактоземии рано появляется стойкая желтуха различной степени выраженности и гепатомегалия, прогрессирует печеночная недостаточность. К 2-3 месяцу жизни возникают спленомегалия, цирроз печени, асцит.

Нарушения процессов свертывания крови приводит к появлению кровоизлияний на коже и слизистых оболочках. Дети рано начинают отставать в психомоторном развитии, однако степень интеллектуальных нарушений при галактоземии не достигает такой тяжести, как при фенилкетонурии. К 1-2 месяцам у детей с галактоземией выявляется двусторонняя катаракта. Поражение почек при галактоземии сопровождается глюкозурией, протеинурией, гипераминоацидурией. В терминальной фазе галактоземии ребенок погибает от глубокого истощения, тяжелой печеночной недостаточности и наложения вторичных инфекций.

При галактоземии средней тяжести также отмечается рвота, желтуха, анемия, отставание в психомоторном развитии, гепатомегалия, катаракта, гипотрофия. Галактоземия легкой степени характеризуется отказом от груди, рвотой после приема молока, задержкой речевого развития, отставанием ребенка в массе и росте. Однако даже при легком течении галактоземии продукты обмена галактозы токсическим образом воздействуют на печень, приводя к ее хроническим заболеваниям.

Галактоземия может протекать в моносимптомной форме, при которой обнаруживается только поражение ЦНС, катаракта или диспепсические расстройства. Описан вариант бессимптомной (асимптоматической) галактоземии Дюарте, при которой недостаточность ферментов выявляется только при биохимическом исследовании крови.

Осложнения галактоземии включают цирроз печени, сепсис, кровоизлияния в стекловидное тело, первичную аменорею, синдром истощения яичников. При галактоземии у 50% детей дошкольного возраста выявляется моторная алалия, характеризующаяся трудностью организации и координации речевых движений, бедностью словарного запаса, обилием парафазий и персевераций при сохранном понимании обращенной речи.

Диагностика галактоземии

Для снижения риска развития осложнений при галактоземии необходимо как можно более раннее выявление патологии. Возможна пренатальная диагностика галактоземии, включающая проведение биопсии хориона, амниоцентеза с последующим исследованием ворсин и амниотической жидкости. В России, согласно современным стандартам, осуществляется скрининг новорожденных на следующие наследственные заболевания: фенилкетонурию, врожденный гипотиреоз, галактоземию, адреногенитальный синдром и муковисцидоз. Неонатальный скрининг проводится на 3-5 сутки у доношенных детей и 7-10 сутки – у недоношенных. С этой целью производится забор капиллярной крови, которая переносится на фильтровальную бумагу и в виде высушенных пятен отправляется в генетическую лабораторию.

Если при неонатальном скрининге у ребенка выявляется подозрение на галактоземию, проводится повторное решающее тестирование. В случае повторного обнаружения высокого уровня галактозы в крови или низкого уровня исследуемого фермента, ребенку устанавливается диагноз галактоземии. Сведения о таком ребенке сообщаются участковому педиатру, а семья новорожденного приглашается на консультацию генетика в медико-генетическую консультацию. Врач-генетик проводит подробный анализ родословной, выполняет генетическое тестирование для выявления мутантного гена, объясняет специфику питания ребенка с галактоземией.

Иногда для диагностики галактоземии прибегают к определению уровня галактозы в моче, проведению нагрузочных проб с галактозой и глюкозой. Мониторинг биохимических показателей крови и общего анализа крови и мочи при галактоземии позволяет определить степень повреждения внутренних органов (почек, печени и др.).

Дети с галактоземией нуждаются в консультации детского невролога, детского офтальмолога, проведении электроэнцефалографии, УЗИ органов брюшной полости, биомикроскопии глаза. В некоторых случаях показана пункционная биопсия печени. Галактоземию следует дифференцировать от других гликогенозов, сахарного диабета I типа, врожденной атрезии желчных протоков, гепатита, гемолитической болезни новорожденных.

Лечение галактоземии

Основная роль в лечении галактоземии принадлежит диетотерапии. Особенность питания при галактоземии заключается в пожизненном исключении из рациона продуктов, содержащих лактозу и галактозу: любого молока (женского, коровьего, козьего, детских молочных смесей, низколактозных смесей и пр.), всех молочных продуктов,

хлеба, выпечки, колбас, конфет, маргаринов и др. При галактоземии запрещается употребление растительных и животных продуктов, содержащих потенциальные источники галактозы - галактозиды (бобовые, соя) и нуклеопротеины (почки, печень, яйца и др.).

Дети, страдающие галактоземией, обеспечиваются специальными смесями на основе изолята соевого белка, гидролизата казеина, синтетических аминокислот, а также безлактозными казеинпреобладающими молочными смесями. С 4-х месячного возраста вводятся фруктовые и ягодные соки; с 4,5 месяцев - фруктовое пюре; с 5 месяцев – овощное пюре; с 5,5 месяцев – безмолочные каши из кукурузной, гречневой или рисовой муки в разведении специализированной смесью; с 6 месяцев - мясной прикорм на основе мяса кролика, цыпленка, индейки, говядины; с 8 месяцев – рыба. Альтернативным источником углеводов для пациентов с галактоземией служат продукты на основе фруктозы.

Для улучшения метаболических процессов назначаются поливитамины, кокарбоксилазу, АТФ, оротат калия. Лицам с галактоземией противопоказан прием спиртовых настоек и гомеопатических препаратов, поскольку последние содержат лактозу. Дети с речевыми нарушениями нуждаются в консультации логопеда и целенаправленной работе по коррекции ОНР.

Прогноз и профилактика галактоземии

Лечение галактоземии, начатое с первых дней жизни позволяет избежать развития цирроза, катаракты, олигофрении. Если лечение начато в более поздние сроки, когда уже произошло поражение печени и ЦНС, с помощью рациональной диетотерапии прогрессирование заболевания можно замедлить. При тяжелых формах галактоземии может быть летальный исход. Диспансерное наблюдение ребенка с галактоземией осуществляется педиатром, генетиком, диетологом, детским окулистом и детским неврологом. Детям с галактоземией присваивается инвалидность.

Учитывая наследственную обусловленность галактоземии, медико-генетическое консультирование рекомендуется пройти будущим родителям, в чьих семьях есть родственники или дети с данным заболеванием. Беременным с высоким риском рождения ребенка с галактоземией, следует ограничить употребление молочных продуктов.

I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Гликогенозы: виды, симптомы, лечение.
2. Что такое гликоген и для чего он нужен?
3. Виды гликогенозов, их характеристика.
4. Фруктоземия.
5. Галактоземия.

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Наследственные нарушения обмена углеводов (обмен гликогена, фруктозы, галактозы)».

III Список используемой литературы:

Обязательная:

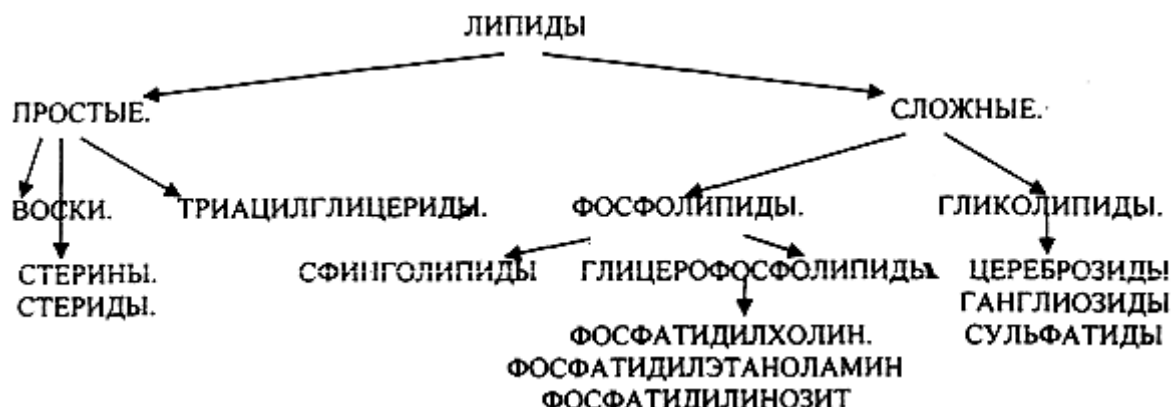
- 1.Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;
- 2.Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

- 1.ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
- 2.МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Липиды, их биологическая роль. Общие свойства, распространение, классификация, номенклатура. Строение, свойства и функции простых и сложных липидов. Фосфолипиды, гликолипиды, оксипирины, стерины. Цветные реакции на холестерин.

ЛИПИДАМИ называются сложные органические вещества биологической природы нерастворимые в воде, но растворимые в органических растворителях. ЛИПИДЫ являются основным продуктом питания. Они поступают в организм с продуктами растительного и животного происхождения. Суточная потребность в ЛИПИДАХ для взрослого человека составляет 80-100 гр.



Воска - это сложные эфиры одно- или двухатомных спиртов с количеством углеводных звеньев в цепи 16-35 и ВЖК. Они входят в состав ЛИПИДОВ, покрывающих листья и плоды растений, шерсть животных, перья птиц. К природным воскам относятся пчелиный воск, спермацет, ланолин. В организме человека ЛИПИДЫ представлены:

1. Структурными липидами.
2. Резервными липидами.

3. Свободными липидами. — хиломикроны,

- липопротеины низкой плотности (лпнп),
- липопротеины очень низкой плотности (лпонп),
- липопротеины высокой плотности (лпвп).

ЛИПИДЫ - трудно растворимые в воде вещества, поэтому для транспорта их кровью нужны —специальные- транспортные частицы. Ими являются ЛИПОПРОТЕИНЫ крови, где роль стабилизатора выполняют белки. ЛИПОПРОТЕИНЫ осуществляют транспорт ЛИПИДОВ от органов и тканей, где они синтезируются к местам их потребления. С их помощью осуществляется транспорт ВЖК и жирорастворимых витаминов А, D, E, K. **БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЛИПИДОВ.**

1. Структурная. Липиды являются обязательным структурным компонентом биологических мембран клеток.
2. Резервная. ЛИПИДЫ могут откладываться в запас.
3. Энергетическая. Было установлено, что при окислении 1 гр. ЛИПИДОВ до конечных продуктов выделяется 9,3 ккал энергии.
4. Механическая. ЛИПИДЫ подкожной жировой клетчатки, соединительной ткани предохраняют внутренние органы от механических повреждений.
5. Теплоизолирующая. Защищают организм от переохлаждения и перегревания.
6. Транспортная. ЛИПИДЫ мембран клеток участвуют в транспорте катионов.
7. Регуляторная. Некоторые гормоны являются СТЕРОИДАМИ (АНДРОГЕНЫ, ЭСТРОГЕНЫ, ГЛЮКО- и МИНЕРАЛОКОРТИКОИДЫ), «Местные» гормоны - ПРОСТАГЛАНДИНЫ, ПРОСТАЦИКЛИНЫ, тромбосаны, лейкотриены образуются в организме из ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ВЖК, входящих в состав ЛИПИДОВ.
8. Участвуют в передаче нервного импульса.
9. Являются источником эндогенной воды. При окислении 100 гр. ЛИПИДОВ выделяется 107гр эндогенной воды.
10. Растворяющая роль. В ЛИПИДАХ растворяются витамины А, D, E, K.
11. Питательная. С пищей в организм поступают незаменимые ВЖК, которые имеют 2 и более связи (ЛИНОЛЕВАЯ, ЛИНОЛЕНОВАЯ, АРАХИДОНОВАЯ).

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ВЖК:

1. Они являются обязательным структурным компонентом мембран клеток.
2. Являются источником гормон подобных веществ.
3. Стимулируют синтез желчных кислот в печени.
4. Предупреждают развитие атеросклероза, ограничивая всасывание холестерина пищи в кишечнике, тормозя образование АТЕРОГЕННОЙ фракции ЛИПОПРОТЕИНОВ.
5. Понижают свёртываемость крови и уменьшают возможность тромб образования.
6. Повышают защитные силы организма.

Липиды - важнейший компонент пищи, во многом определяет ее пищевую ценность и вкусовое достоинство.

В растениях они накапливаются главным образом в семенах и плодах. Содержание в них липидов зависит не только от индивидуальных особенностей растений, но и от сорта, места и условий произрастания. У животных и рыб липиды концентрируются в подкожных жировых тканях, в брюшной полости и тканях, окружающих многие важные органы (сердце, почки), а также в мозговой и нервной тканях. Особенно много липидов в подкожной жировой ткани китов (25-30 % от их массы), тюленей и других морских животных.

У наземных животных содержание липидов сильно колеблется от 33,3% (мясная свинина), 16,0% (говядина) до 3,0% (поросята) и 2,0 % (телятина); в тушке рыб (угорь) может достигать 30 %, сельди - 7,0-19,5, у трески - 0,6 %; в молоке животных: оленя - 17-18 %, козы - 5,0, коровы - 3,5-4,0 %.

По химическому строению липиды отличаются большим разнообразием. Молекулы их построены из различных структурных компонентов, в состав которых входят спирты и высокомолекулярные кислоты, а в состав отдельных групп липидов могут также входить остатки фосфорной кислоты, углеводов, азотистых оснований и другие компоненты, связанные между собой различными связями.

Липиды часто делят на две группы: простые и сложные.

Простые липиды. Молекула простых липидов не содержит атомов азота, фосфора, серы. К ним относят производные одноатомных (высших с 14-22 атомами углерода) карбоновых кислот и одно - и многоатомных спиртов (в первую очередь трехатомного спирта - глицерина). Наиболее важными и распространенными представителями простых липидов являются ацилглицерины. Широко распространены воски.

Ацилглицерины (глицериды) - сложные эфиры глицерина высокомолекулярных карбоновых кислот. Они составляют основную массу липидов (иногда до 95-96 %) и именно их называют маслами и жирами.

В состав жиров входят в основном триацилглицерины (три глицериды), но присутствуют ди - и моноацилглицерины.

Одним, из структурных компонентов всех ацилглицеринов является глицерин, поэтому свойства конкретных масел определяются составом жирных кислот, участвующих в построении их молекул и положением (1, 2,3), которое занимают остатки (ацилы) этих кислот в молекулах ацилглицеринов.

В жирах и маслах обнаружено до 300 карбоновых кислот различного строения, однако большинство из них присутствует в небольшом количестве. Наиболее распространенные (их 5-6) растений, животных и рыб встречаются, как правило, в незначительном количестве (исключение - рицинолевая кислота в касторовом масле).

Природные жиры содержат главным образом триацилглицерины, в состав которых входят остатки различных кислот: насыщенных и ненасыщенных. В природных растительных триацилглицеринах положения 1 и 3 (см. формулу) заняты преимущественно остатками насыщенных кислот, 2 - ненасыщенной. В животных жирах картина бывает обратная. Разнообразие триацилглицеринов связано с различным строением (1, 2,3) остатков жирных кислот в молекулах триацилглицеринов. Положение остатков жирных кислот в ацилглицеринах существенно влияет на их физико-химические свойства.

Ацилглицерины - жидкости или твердые вещества с низкими (до 40°C) температурами плавления и довольно высокими температурами кипения, с повышенной вязкостью ("маслообразные"), без цвета и запаха, легче воды, нелетучие. Относительно высокие температуры кипения жиров позволяют жарить на них пищу, так как жиры не испаряются со сковороды, а низкие температуры плавления создают приятное ощущение во рту. Они как указывалось, хорошо растворимы в органических растворителях и нерастворимы в воде. В твердом состоянии триацилглицерины существуют в нескольких кристаллических формах (поли морфизм).

Восками называют сложные эфиры высокомолекулярных одно основных карбоновых кислот и одноосновных высокомолекулярных (с 18-30 атомами углерода) спиртов, входящие в состав липидов.

Они широко распространены в природе, покрывая тонким слоем листья, стебли, плоды растений, предохраняя их от смачивания водой, высыхания, действия микроорганизмов. Содержание их в зерне и плодах невелико. В оболочках семян подсолнечника содержится 0,2 % восков от массы оболочки, в семена сои - 0,01, риса - 0,05 %.

Сложные липиды. Наиболее важная и распространенная группа сложных липидов - фосфолипиды. Молекула их построена из остатков спиртов, высокомолекулярных жирных кислородсодержащих кислот, азотистых оснований.

В молекуле фосфолипидов имеются группировки двух типов: гидрофильные и гидрофобные. В качестве гидрофильных (полярных) группировок выступают остатки фосфорной кислоты и азотистого основания, гидрофобных (неполярных) - углеводородные радикалы ("хвосты", рис.7).

Фосфолипиды - обязательный компонент клеток. Вместе с белками и углеводами фосфолипиды участвуют в построении мембран (перегородок) клеток и субклеточных структур (органелл), выполняя роль несущих конструкций мембран.

У фосфолипидов преобладает структурная функция

Фосфолипиды (ФЛ, фосфатиды) представляют собой соединение спирта **глицерола** или **сфингозина** с высшими жирными кислотами и фосфорной кислотой. В их состав также входят азотсодержащие соединения **холин**, **этаноламин**, **серин**, циклический шестиатомный спирт **инозитол**(витамин В₈).

Пищевые источники фосфолипидов

Доля фосфолипидов в пищевом жире невелика (не более 10%), это фосфолипиды клеточных мембран и жировых эмульсий. Источниками фосфолипидов является практически любой жир, используемый в пищу – любые растительные масла, свиной, говяжий и другой животный жир, жир молочных продуктов и сливочное масло. В результате фосфолипидов поступает около 8-10 г в сутки. В организме человека наиболее распространены глицерофосфолипиды.

Глицерофосфолипиды

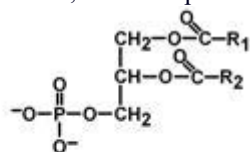
Жирные кислоты, входящие в состав этих фосфолипидов, неравноценны. Ко **второму** атому углерода присоединена, как правило, **полиненасыщенная** жирная кислота. При углероде С¹находятся любые кислоты, чаще мононенасыщенные или насыщенные.

Наиболее простым глицерофосфолипидом является **фосфатидная кислота** (ФК) – промежуточное соединение для синтеза ТАГ и ФЛ.

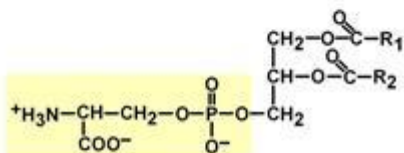
Фосфатидилсерин(ФС), фосфатидилэтаноламин(ФЭА, кефалин), фосфатидилхолин (ФХ, лецитин) – структурные ФЛ, они вместе с холестерином формируют липидный бислой клеточных мембран, обеспечивают активность мембранных ферментов, вязкость и проницаемость мембран.

Кроме этого, **дипальмитоил-фосфатидилхолин**, являясь поверхностно-активным веществом, служит основным компонентом **сурфактанта** легочных альвеол. Его недостаток в легких недоношенных младенцев приводит к развитию синдрома дыхательной недостаточности.

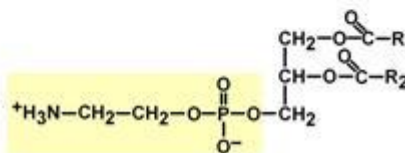
Также **фосфатидилхолин**, являясь одним из важнейших **компонентов желчи**, поддерживает находящийся в ней холестерин в растворенном состоянии и, таким образом, препятствует образованию желчных камней.



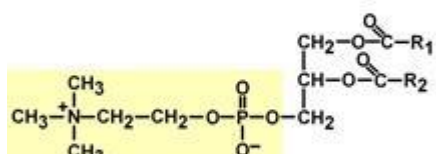
Строение фосфатидной кислоты



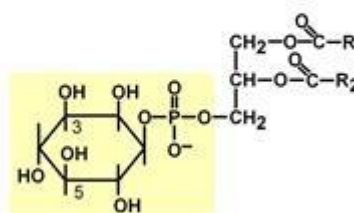
Фосфатидилсерин



Фосфатидилэтаноламин



Фосфатидилхолин



Фосфатидилинозитол

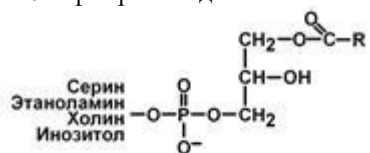
Строение преобладающих в организме фосфолипидов

Фосфатидилинозитол (ФИ) – играет ведущую роль в фосфолипид-кальциевом механизме передачи гормонального сигнала в клетку.

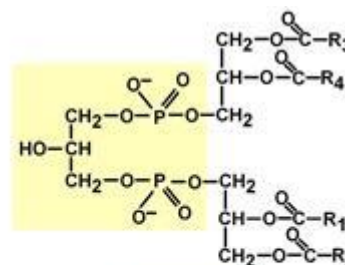
Лизофосфолипиды – продукт гидролиза фосфолипидов фосфолипазой А₂, образуются при определенных стимулах, вызывающих в клетке синтез эйкозаноидов (простагландинов, лейкотриенов).

Гораздо более редким является **кардиолипин** – структурный фосфолипид в мембране митохондрий.

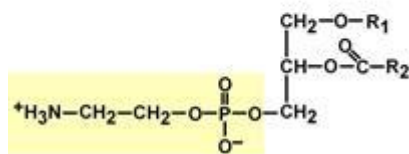
Плазмалогены при С¹ содержат высший спирт вместо жирной кислоты. Они участвуют в построении структуры мембран, составляют до 10% фосфолипидов мозга и мышечной ткани.



Лизофосфолипид



Кардиолипин

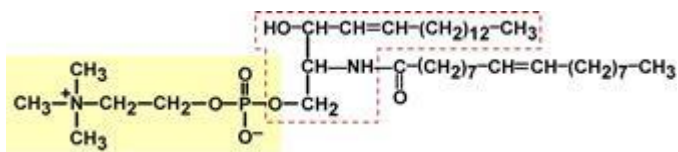


Плазмалоген

Строение менее распространенных фосфолипидов

Сфингофосфолипиды

Основным представителем у человека являются **сфингомиелины** – основное их количество расположено в сером и белом веществе головного и спинного мозга, в оболочке аксонов периферической нервной системы, есть в печени, почках, эритроцитах и других тканях. В качестве жирных кислот выступают насыщенные и мононенасыщенные, которые присоединены к спирту сфингозину.



Строение сфингомиелина, содержащего олеиновую кислоту
(сфингозин обведен красной рамкой)

В нервной ткани сфингомиелин участвует в **передаче нервного сигнала** по аксонам. В последние годы активно разрабатывается роль сфинголипидов в **регуляции внутриклеточных процессов** в качестве источника вторичного мессенджера **церамида**.

Фосфолипиды, выделенные в качестве побочных продуктов при получении масел, - хорошие эмульгаторы. Они применяются в хлебопекарной и кондитерской промышленности, при производстве маргариновой продукции.

В состав простых и сложных липидов могут входить гликолипиды, содержащие в качестве структурных компонентов углеводные фрагменты (обычно остатки галактозы, глюкозы, маннозы).

По своим функциям, которые выполняют липиды в организме, их часто делят на две группы: запасные и структурные. Это деление условное, но оно широко применяется. Отдельные авторы, подчеркивая защитные функции липидов, выделяют их в особую группу. Запасные липиды, в основном ацилглицерины, обладают высокой калорийностью, являются энергетическим резервом организма и используются им при недостатке питания и заболеваниях. Следовательно, запасные липиды являются защитными веществами, помогающими организму переносить неблагоприятное воздействие внешней среды. Большая часть (до 90 %) растений содержит запасные липиды главным образом в семенах. У животных и рыб они, концентрируясь в подкожной жировой ткани, защищают организм от травм. В растениях и у животных опасные липиды являются основной по массе группой липидов (иногда до 95-96 %) и относительно легко извлекаются из жиросодержащего материала ("свободные липиды").

Воски, которые выполняют защитные функции, могут быть условно отнесены к защитным липидам.

Структурные липиды (в первую очередь фосфолипиды) образуют сложные комплексы с белками (липопротеиды), углеводами, из которых построены мембраны клеток и клеточных структур, они участвуют в разнообразных и сложных процессах, протекающих в клетках. По массе структурные липиды составляют значительно меньшую группу липидов (в масличных семенах 3-5 %). Это трудно извлекаемые "связанные" и "прочносвязанные" липиды. Для извлечения липидов необходимо предварительно разрушить их связь с белками, углеводами и другими компонентами клетки.

При выделении липидов из масличного сырья в масло переходит большая группа сопутствующих им жирорастворимых веществ: стероиды, пигменты, жирорастворимые витамины и некоторые другие соединения. Извлекаемая из природных объектов смесь, которая состоит из липидов и растворенных в них соединений, получила название "сырого" жира.

Вещества, сопутствующие липидам и входящие в состав "сырого" жира, играют большую роль в пищевой технологии, влияют на пищевую и физиологическую ценность полученных продуктов питания. Некоторые из этих соединений рассмотрим подробнее.

Среди жирорастворимых природных пигментов наиболее распространены каротиноиды и хлорофиллы. В хлопковых семенах содержится пигмент госсипол. Госсипол и продукты его превращения окрашивают хлопковые масла в темно-желтый или коричневатый цвет.

Каротиноиды - растительные красно-желтые пигменты, обеспечивающие окраску ряда жиров, овощей и фруктов, яичного желтка и других продуктов. Это углеводороды состава $C_{40}H_{56}$, каротины и их кислородсодержащие производные. Среди них необходимо отметить β -каротин.

Помимо красящих свойств отдельные каротиноиды обладают провитаминными свойствами, так как они, распадаясь в живом организме, превращаются в витамин А.

Каротиноиды, выделенные из моркови, плодов шиповника, а также полученные микробиологическим и синтетическим путем, применяют для окраски пищевых продуктов. Они устойчивы к изменению pH среды, но легко окисляются под действием света, кислорода воздуха, других окислителей.

Другой группой природных жирорастворимых пигментов, придающих зеленую окраску маслам и жирам, а также многим овощам (лук, салат, укроп и т.д.), являются хлорофиллы.

Кратко остановимся на стероидах, которые также содержатся в "сыром" жире. Они широко распространены в природе, многочисленны (до 20 тыс. соединений) и выполняют разнообразные функции в организме. Все стероиды - производные циклопента-пергидрофенантрена; общий скелет стероидов имеет следующий вид (X - OH, OR):

Из них выделим две группы: высокомолекулярные циклические спирты - стерины и их сложные эфиры. В молекуле стерина у 3-го атома углерода (С-3) находится гидроксильная (-ОН) группа и у 17-го атома углерода (С-17) - разветвленная углеродная цепь (3-й и 17-й атомы обведены кружочками). Стерины нерастворимы в воде и хорошо растворимы в жирах. Несмотря на невысокое содержание, стерины и их производные играют исключительно важную роль в жизни живых организмов. В виде сложных комплексов с белками они входят в состав протоплазмы и мембран, регулируют обмен веществ в клетке.

Один из наиболее распространенных стерина - холестерин. Он обнаружен во всех животных липидах, в крови и яичном желтке и отсутствует или присутствует в незначительном количестве в липидах растений. Холестерин является структурным компонентом клетки, участвует в обмене желчных кислот, гормонов. 70-80 % холестерина от его общего содержания в организме человека (250 г на 65 кг массы тела)

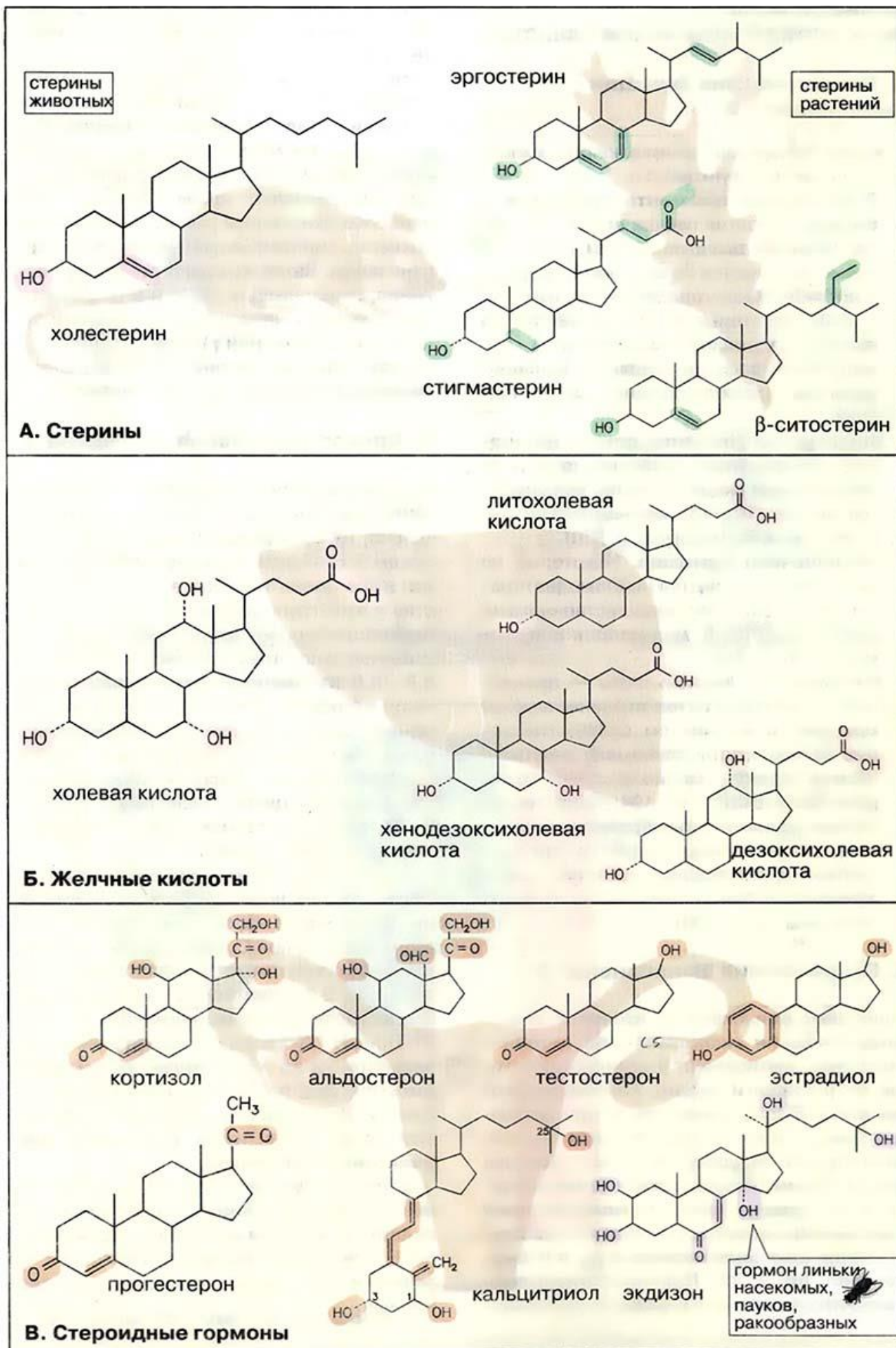
Стеринами называются *стероидные спирты*. Все стерины содержат β -гидроксильную группу при С-3 и одну или несколько двойных связей в кольце В и боковой цепи. В молекулах стерина отсутствуют карбоксильные и карбонильные группы.

В организме животных наиболее важным стеринем является **холестерин**. В растениях и микроорганизмах содержится множество родственных соединений, например **эргостерин**, **β -ситостерин**, **стигмастерин**.

Холестерин присутствует во всех животных тканях, особенно в нервных тканях. Он является важнейшей составной частью клеточных мембран, где регулирует их текучесть (см. Функции и состав биомембран). Запасной и транспортной формами холестерина служат его эфиры с жирными кислотами. Наряду с другими липидами холестерин и его эфиры присутствуют в составе липопротеидных комплексов плазмы крови (см. Липопротеины).

Холестерин входит в состав желчи и многих желчных камней. Вопросы биосинтеза, метаболизма и транспорта холестерина обсуждаются в других разделах (см. Водорастворимые витамины. II, Метаболизм липидов).

Нарушение обмена холестерина играет важную роль в развитии атеросклероза, заболевания связанного с отложением холестерина (бляшек) на стенках кровеносных сосудов (кальцинирование) из-за повышенного уровня холестерина в крови. Для предупреждения атеросклероза важно, чтобы в пищевом рационе преобладали продукты растительного происхождения, для которых характерно низкое содержание холестерина. Напротив, пищевые продукты животного происхождения содержат много холестерина, особенно яичный желток, мясо, печень, мозги.



I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Липиды, определение, характеристика.

2. Классификация липидов.
3. Характеристика основных липидов.
4. Биологическая роль липидов.

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Липиды, их биологическая роль. Общие свойства, распространение, классификация, номенклатура. Строение, свойства и функции простых и сложных липидов. Фосфолипиды, гликолипиды, оксипирины, стериды. Цветные реакции на холестерин.»

III Список используемой литературы:

Обязательная:

1. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;
2. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

1. ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
2. МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Переваривание и всасывание липидов в желудочно-кишечном тракте.

I. Научно-методическое обоснование темы:

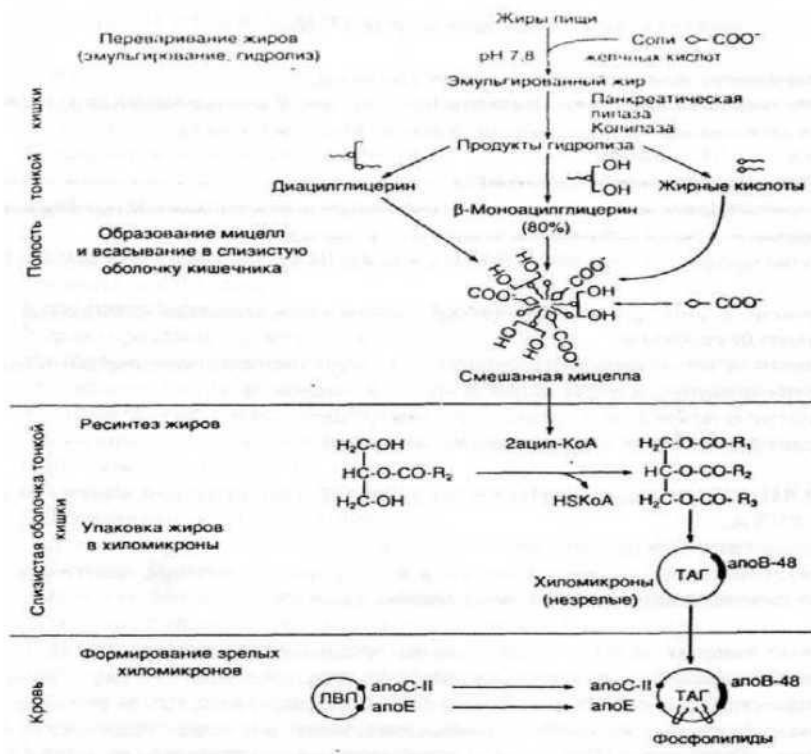
Пищевые липиды на 90% представлены триацилглицеринами (ТАГ), меньший процент приходится на сложные липиды: глицерофосфолипиды, гликолипиды, холестерин и его эфиры. Вместе с пищевыми веществами поступают незаменимые факторы: жирорастворимые витамины и полиеновые (эссенциальные) жирные кислоты. Суточная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

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

Указанные этапы и основные условия гидролиза липидов

можно отобразить в виде схемы (стр. 14).

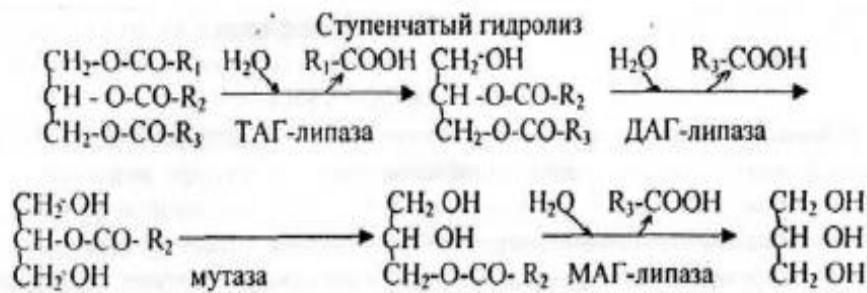
1. Эмульгирование - это физический процесс, увеличивающий дисперсность жировых капель. Ему способствуют поверхностноактивные вещества (ПАВ). В организме к ПАВ относятся желчные кислоты, фосфолипиды, поступающие в двенадцатиперстную кишку с желчью, бикарбонаты поджелудочного сока, мыла. Желчные кислоты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



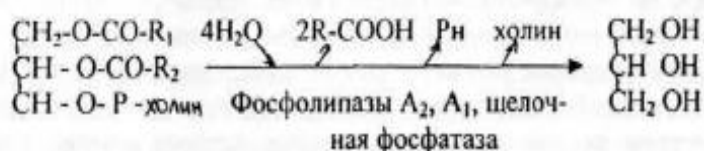
рохоловую кислоты. Желчные кислоты могут быть в виде натриевых и калиевых солей. Синтез желчных кислот может осуществляться в кишечнике при участии кишечной флоры (вторичные желчные кислоты). К ним относятся дезоксихолевая, литохолевая. Желчные кислоты амфифильные соединения, гидрофобная часть которого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

жира. Таким образом, диспергируя липиды, увеличивается площадь контакта его с ферментом, облегчая их взаимодействие.

2. Эмульгированные липиды подвергаются частичному гидролизу комплексом ферментов III класса (гидролазы), подклассом эстеразы, подподклассом карбоксиэстеразы. Источником ферментов является сок поджелудочной железы, изливающийся в 12- перстную кишку. Липолитические ферменты активируются коли-пазой и желчными кислотами. Панкреатическая липаза расщепляет в ТАГ эфирные связи в а и а₁ положениях, поэтому основными продуктами переваривания липидов являются Р-моноглицериды и свободные жирные кислоты (СЖК).



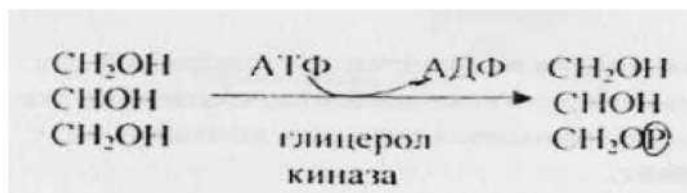
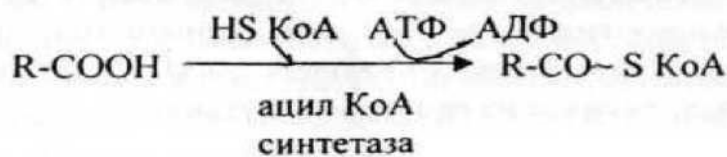
Полному гидролизу подвергаются 40% ТАГ. Сложные липиды подвергаются расщеплению ферментами поджелудочного сока - фосфолипазами.



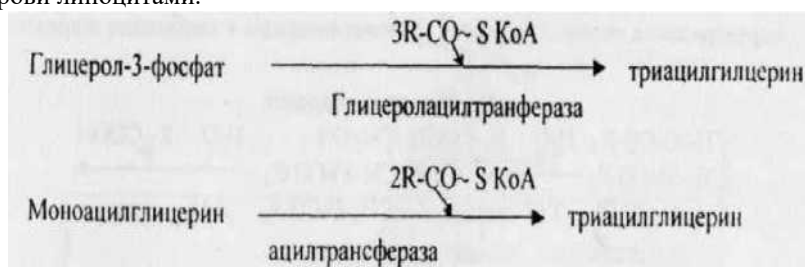
Стериды расщепляются специфическим ферментом - холес-теринэстеразой до холестерина и жирной кислоты.

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

Активация продуктов гидролиза:



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



В слизистой кишечника ресинтезируются и сложные липиды.

1. Ресинтезированные простые и сложные липиды, холестерин, его эфиры, жирорастворимые витамины образуют комплекс с апопротеином В₄₈ и формируются транспортные формы - незрелые хиломикроны (ХМ). Всасываются хиломикроны в лимфу и через грудной лимфатический проток попадают в кровь. Хиломикроны транспортируют 85% ТАГ, 6% холестерина и его эфиров, 7% ФЛ в комплексе с белком - 2%. Это крупные, но очень легкие частицы с d - 100 - 500 нм. В крови незрелые ХМ получают от ЛПВП, образующихся в печени, апопротеины С_п и апо Е, превращаясь в зрелые. Далее в кровотоке ХМ подвергаются действию фермента липопротеинлипаза, который локализуется на поверхности эндотелия сосудов. Активируется и освобождается этот фермент с помощью гепарина (фактор просветления). Маркерным белком для фермента является апо С_п. Около 50% ХМ утилизируются в легких, являющихся первым паренхиматозным органом, встречающимся на их пути. Здесь они используются для обогрева вдыхаемого воздуха и синтеза сурфактантов. Остальные ХМ через большой круг кровообращения приносятся к адипоцитам. Активная липопротеинлипаза гидролизует ТАГ ХМ до глицерина и свободных жирных кислот. Глицерин транспортируется в печень, а жирные кислоты в комплексе с транспортным альбумином приносятся к тканям, где они окисляются, образуя энергию или депонируются в виде ТАГ. Структуры, образовавшиеся из ХМ называются ремнантными или остаточными ХМ. Они захватываются клетками печени и связываются с рецептором посредством апо Е. В печени остаточные ХМ подвергаются лизосомальному гидролизу с высвобождением холестерина, жирных кислот, аминокислот. Следовательно, функция ХМ заключается в транспорте экзогенных пищевых липидов из кишечника в ткани.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии:

Обучающийся должен знать:

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

Обучающийся должен уметь:

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

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

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

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.

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

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

Лабораторные работы:

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

Оснащение занятия

Оборудование и реактивы:

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

V. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

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

Тестовые задачи.

1. Соединения, обозначенные цифрами, образуются при переваривании
А. Жиров 1. Сфингозин
Б. Фосфоацилглицеринов 2. Р-моноацилглицерины

Тема: Процесс окисления жирных кислот. Биосинтез жирных кислот.

I. Научно-методическое обоснование темы:

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

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

1. Подготовительный этап:
 - а) реакция активирования жирной кислоты.
 - б) транспорт ацил-КоА в митохондрии.
2. Р-окисление ацил КоА в митохондриях путем отщепления двууглеродного фрагмента - ацетил КоА.
3. Третий этап завершается окислением ацетил КоА в ЦТК до CO₂ и H₂O.

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



ацил КоА синтетаза (6 класс)

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

2. В матриксе митохондрий начинается процесс Р-окисления, представляющий собой 4 последовательные реакции, которые повторяются. Эти 4 реакции Р-окисления (дегидрирования, гидратации, дегидрирования, отщепления ацетил КоА) называют циклом Р-окисления, так как одни и те же реакции повторяются до тех пор, пока вся кислота не превратится в ацетильные остат-ки.

3. На третьем этапе молекула ацетил КоА окисляется в ЦТК до CO₂ и H₂O.

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

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

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

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

Схема транспорта

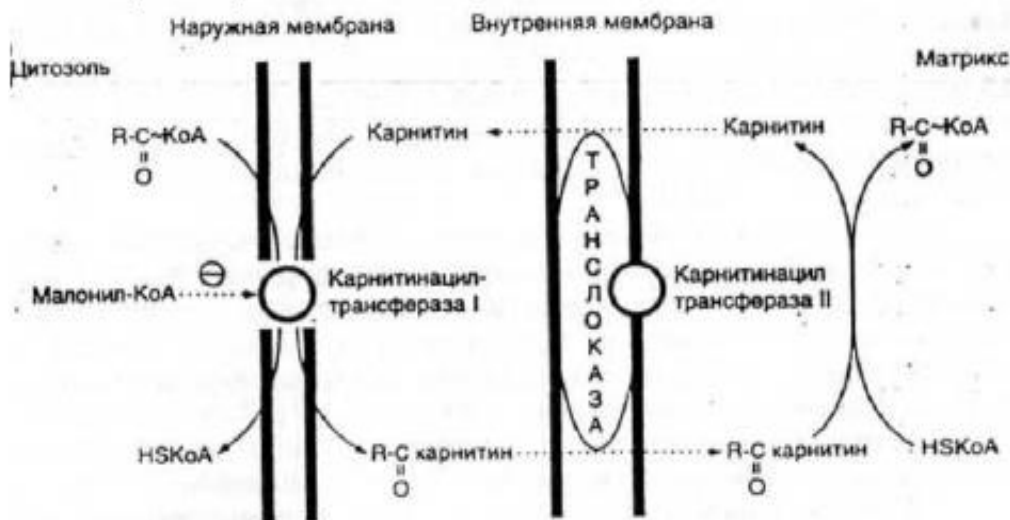
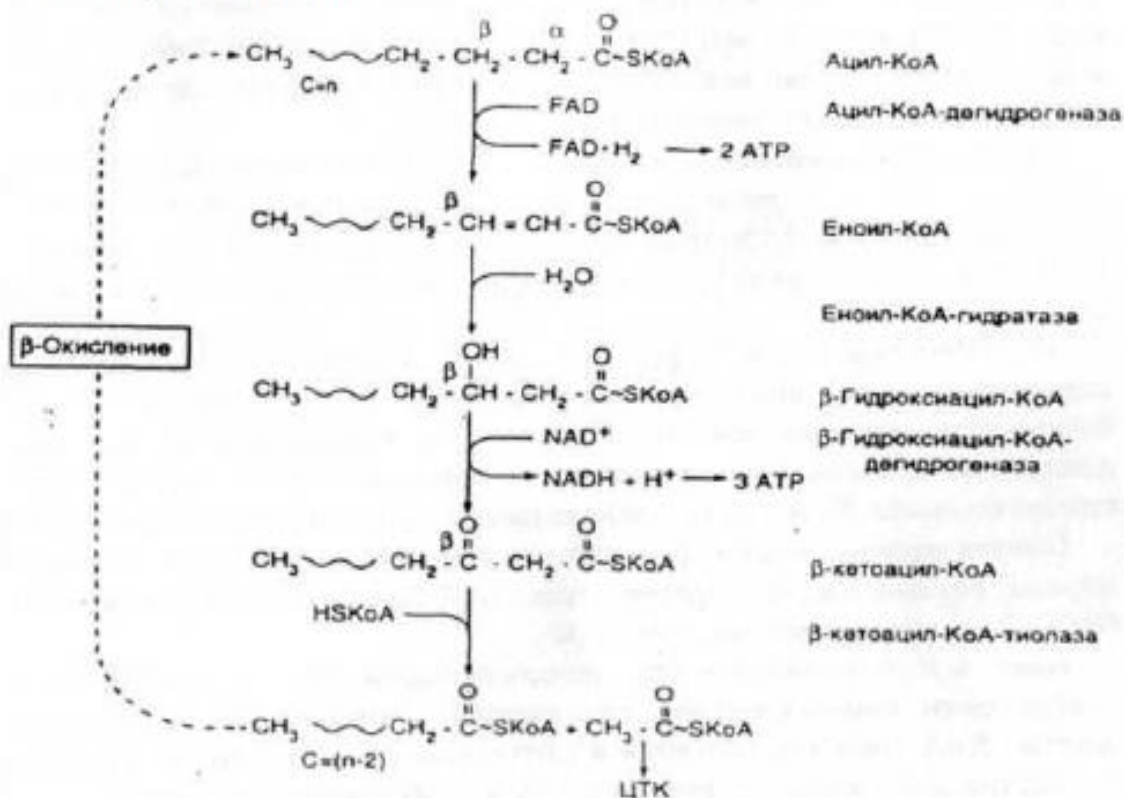


Схема β-окисления



Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов подобно кислотам с четным числом С-атомов, при распаде подвергаются многократному β-окислению. При этом образуется ряд молекул ацетил КоА и одна молекула пропионил КоА. Ацетил КоА окисляется в ЦТК. Пропионил КоА сначала карбоксилируется (присоединяет CO₂, фермент пропионил КоА карбоксилаза, кофермент биотин), превращаясь в D-метилмалонил КоА. Это соединение под влиянием метил-малонил-КоА-рацемазы переходит в L форму и подвергается воздействию фермента метилмалонил-КоА-мутазы (коферментом является 5-дезоксадезилкобаламин), превращающего его в сукцинил КоА. Последний субстрат окисляется в ЦТК.

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

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

Регуляция β-окисления.

Скорость β-окисления зависит от доступности субстрата, поэтому активируется β-окисление в постабсорбтивном периоде или на фоне липолиза в результате длительной физической работы. В этих условиях увеличивается концентрация в крови жирных кислот и мышцы, миокард, печень активно используют их как источник энергии.

Мозг не использует жирные кислоты, так как они не проникают через гематоэнцефалический барьер, являясь гидрофобными молекулами.

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

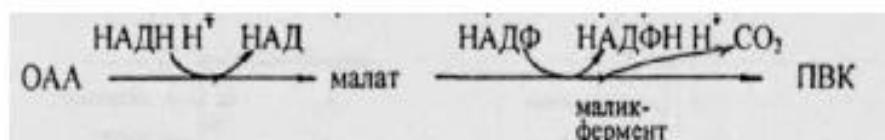
3) Регулируемый фермент - карнитин-ацил-трансфераза I аллостерический. Ингибируется малонил КоА, который образуется при биосинтезе жирных кислот. Поэтому, в постабсорбтивном периоде, когда поступление ацетильных остатков из митохондрий в цитозоль прекращается, синтез малонил-КоА также прекращается, и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

Синтез жирных кислот происходит в цитоплазме клеток из ацетил КоА и водорода, переносимого коферментом НАДФ. В процессе синтеза участвует CO_2 , HCO_3^- , используется энергия АТФ.

Ацетил КоА возникает при окислительном декарбоксилировании ПВК, при β -окислении жирных кислот, при распаде аминокислот, углеводов, глицерина. Ацетил КоА транспортируется в цитоплазму цитратным механизмом, поэтому ацетил КоА конденсируется с ОАА с образованием цитрата, который с помощью транслоказы переносится в цитоплазму. В цитоплазме под действием фермента цитрат-лиазы идет реакция - цитрат + $\text{HSCoA} + \text{АТФ} \rightarrow$ ацетил КоА + АДФ + $\text{P}_n + \text{ОАА}$

Ацетил КоА является исходным субстратом для синтеза жирных кислот.

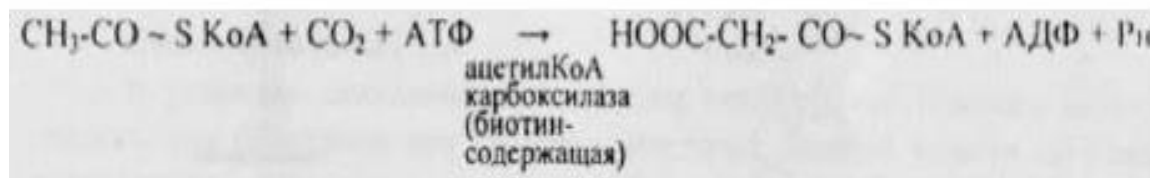
ОАА в цитоплазме подвергается следующим превращениям



НАДФН+(H+) используется для последующего синтеза жирных кислот. 2-ой источник - пентозофосфатный цикл. Источником НАДФН+(H+) является апотомический распад глюкозы, а также окисление в цитоплазме изолимонной и яблочной кислот.

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

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



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

5. Синтез высших жирных кислот.
6. Формульный материал одного цикла синтеза высших жирных кислот.

III. Содержание обучения

Основные вопросы:

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

IV. Оснащение занятия:

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Эндогенные и экзогенные источники жирных кислот
2. β -окисление жирных кислот - один из центральных метаболических путей, обеспечивающих клетки энергией. Локализация процесса.
3. Напишите подготовительный этап β -окисления
4. Активизация жирных кислот, участие в этом процессе тио-киназы и тиофераз.
5. Карнитин, его роль в β -окислении.
6. Напишите реакции одного цикла β -окисления.
7. Напишите реакции, через которые β -окисление связано с ЦПЭ.
8. Напишите схему окисления масляной кислоты
9. Рассчитайте выход АТФ при окислении стеариновой жирной кислоты
10. Напишите завершающий этап β -окисления жирной кислоты с нечетным количеством атомов углерода.
11. Охарактеризуйте особенность β -окисления ненасыщенных жирных кислот.
12. Напишите реакцию, катализирующуюся регуляторным ферментом β -окисления жирных кислот. Укажите локализацию этого фермента в клетке.
13. Какую функцию выполняет этот метаболический путь в миокарде.
14. Как изменяется скорость этого пути при уменьшении концентрации O_2 в крови, питающей миокард.
15. Известно наследственное заболевание, при котором в скелетных мышцах снижена концентрация карнитина в результате дефекта ферментов, участвующих в его синтезе.
16. Как скажется на способности выполнять длительную физическую работу низкие концентрации карнитина?
17. Под микроскопом в клетках таких мышц видны вакуоли жира. Объясните происхождение.
18. Биосинтез жирных кислот, его условия. Роль цитрата в синтезе жирных кислот.
19. Напишите реакции биосинтеза жирных кислот (1 цикл)
20. Напишите реакции биосинтеза, в которых используется НАДФН(H^+)
21. Источники НАДФН (H^+), роль апоптомического распада глюкозы и пируватмалатного шунта.
22. Напишите пусковую реакцию синтеза высших жирных кислот.
23. Охарактеризуйте роль АПБ.
24. Характеристика синтетазы высших жирных кислот.
25. Из каких веществ в печени образуется ацетилКоА при голодании и сахарном диабете?
26. Почему скорость окисления ацетил КоА в ЦТК клеток печени в этих условиях меньше, чем в норме?

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.

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

VIII. Самостоятельная работа обучающихся:

IX. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»

4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Обмен ТАГ. Биосинтез и распад. Количественное определение триглицеридов в сыворотке крови. Обмен фосфолипидов: биосинтез и катаболизм.

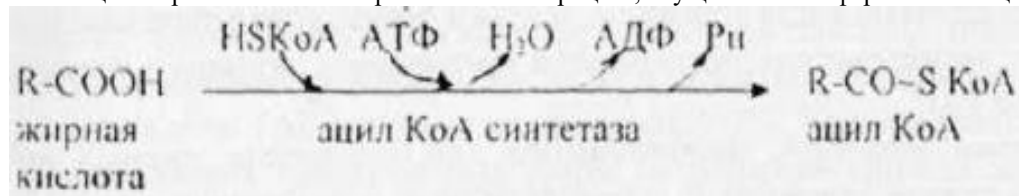
I. Научно-методическое обоснование темы:

Нейтральные жиры - триацилглицеролы - являются эфирами трехатомного спирта глицерина и высших жирных кислот. Депонируются они в основном в подкожной жировой клетчатке, брыжейке, сальнике, желтом костном мозге. Многие животные во время зимней спячки в период миграции и других ситуаций, требующих приспособительных реакций, используют в качестве энергии запас жира. Верблюды, например, могут даже использовать воду, полученную при окислении жира. Нейтральные жиры представляют собой наиболее компактную форму запаса энергетического материала. Поэтому на их образование используются и метаболиты углеводного обмена.

Биосинтез триацилглицеролов осуществляется практически во всех органах и тканях, наиболее интенсивно протекает он в клетках печени и жировой ткани.

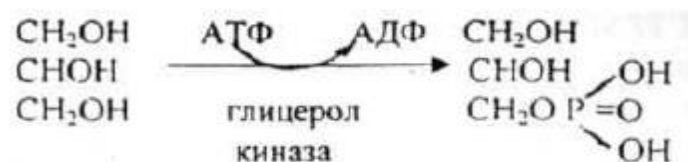
В животных тканях биосинтез ТАГ и фосфолипидов (фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина) начинается с 2-х общих предшественников и имеет несколько общих этапов. Общими предшественниками служат КоА-эфиры жирных кислот и глицерол-3-фосфат.

Активация жирных кислот - энергозависимый процесс, осуществляется ферментом - ацил КоА синтетазой.



Глицерол-3-фосфат образуется двумя путями:

а) Фосфорилирование свободного глицерина ферментом гли-церолкиназой. В почках и в стенке кишечника активность глицеролкиназы высока.



б) Из фосфодиоксиацетона (ФДОА) - метаболита гликолиза под действием цитоплазматического НАД-зависимого фермента глицерол-3-фосфат дегидрогеназы.

На первом этапе биосинтеза ТАГ происходит ацилирование двух свободных гидроксильных групп глицерол-3-фосфата двумя молекулами КоА-производных жирных кислот с образованием ДАГ-3-фосфата

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

В ходе синтеза ТАГ фосфатидная кислота гидролизуется фосфатидат-фосфатазой с образованием 1,2 ДАГ.
 Фосфатидная кислота + H₂O → 1,2 ДАГ + P_n.

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

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

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

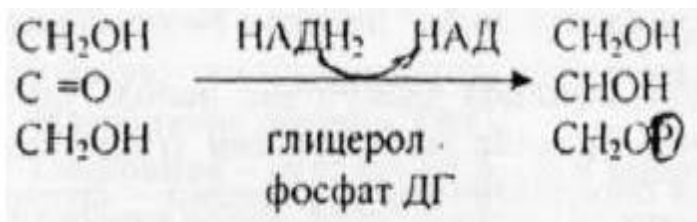
В норме у взрослых людей и животных биосинтез и окисление ТАГ протекает одновременно и для этих процессов установлено стационарное состояние, так что количество жира в организме сохраняется в течение сравнительно длительного времени на относительно постоянном уровне, хотя при изменении калорийности пищевого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

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

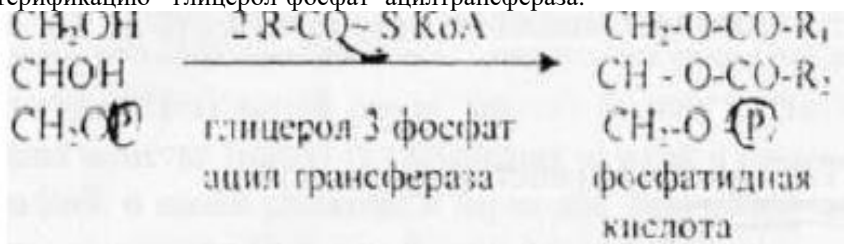
Второй путь образования глицерол-3-фосфата.

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

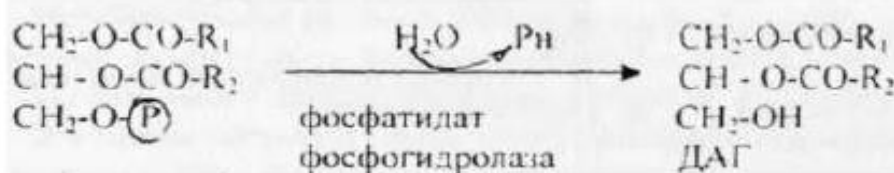
Восстановление диоксиацетонфосфата (метаболита глюкозы) ферментом глицерол-фосфат дегидрогеназой в основном происходит в жировой ткани и мышцах.



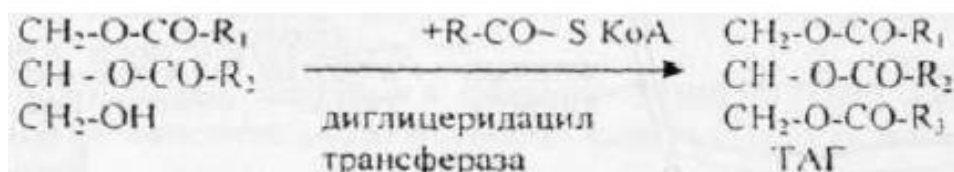
Образовавшийся глицерол-3-фосфат последовательно ацилируется двумя молекулами жирных кислот (активные формы) и через фосфатидную кислоту образуются триацилглицеролы. Фермент, осуществляющий этерификацию - глицерол-фосфат- ацилтрансфераза.



Образовавшаяся фосфатидная кислота гидролизуется фосфатидатфосфогидролазой до диацилглицеролов.



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



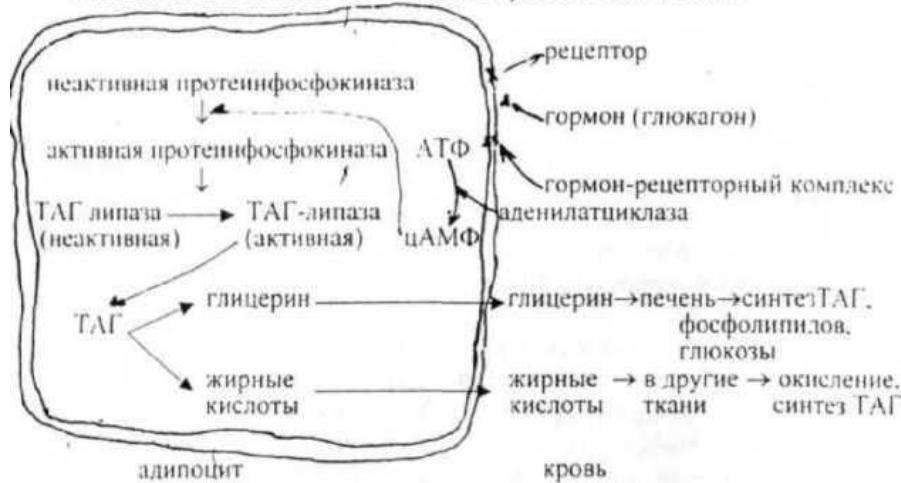
ТАГ, синтезированные в печени, образуют ЛПОНП с Apo B₁₀₀ и путем экзоцитоза секретируются в кровь. В клетках органов и тканей, в частности адипоцитах депонируются, а в клетках мышечной системы, помимо того, расщепляясь, освобождают жирные кислоты и глицерол, который окисляется. Поэтому содержание ТАГ в печени не превышает 5%. Увеличивается при нарушении формирования транспортных форм (нарушение синтеза апопротеинов фосфолипидов при отсутствии липотропных веществ). В этом случае наблюдается жировой гепатоз и содержание жира достигает 50% в печени.

Липогенез стимулируется гормоном поджелудочной железы инсулином, который:

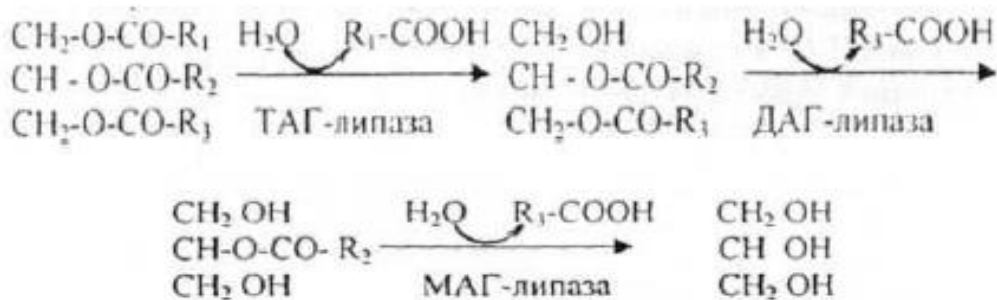
- улучшает транспорт глюкозы в клетки, ее окисление. В адипоцитах межтучный продукт окисления глюкозы (диоксиацетонфосфат) является источником глицерол-3-фосфата.
- активирует липопротеидлипазу, которая гидролизует нейтральные жиры хиломикронов. Образовавшийся глицерин и жирные кислоты печенью и адипоцитами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

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

Механизм активации ТАГ-липазы представлен схемой:



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



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

Нарушение обмена ТАГ.

Ожирение - отложение жира в адипоцитах по сравнению с нормой. В норме у человека весом 70 кг количество жира приблизительно 10-12 кг. Оно наблюдается у 50% людей старше 50 лет. Увеличение количества жирных кислот у плода начинается в последнем триместре беременности, заканчивается в препубертатном периоде. После этого жировые клетки увеличиваются или уменьшаются в размерах, но количество их не изменяется в течение жизни.

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

Генетические факторы в развитии ожирения.

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

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

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

Однако ожирение - полигенное заболевание. Если даже жировые клетки продуцируют достаточное количество лептина, может развиваться ожирение в силу индивидуальных особенностей организма и повышения порога концентрации лептина. На синтез лептина влияют и другие гормоны.

В настоящее время изучаются свойства белка лептина и возможности его применения для регуляции массы тела.

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

Биологические функции:

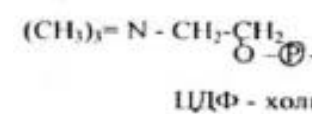
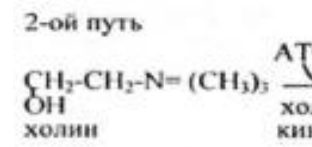
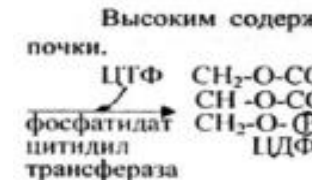
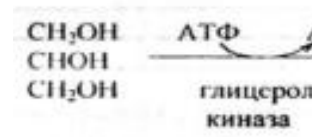
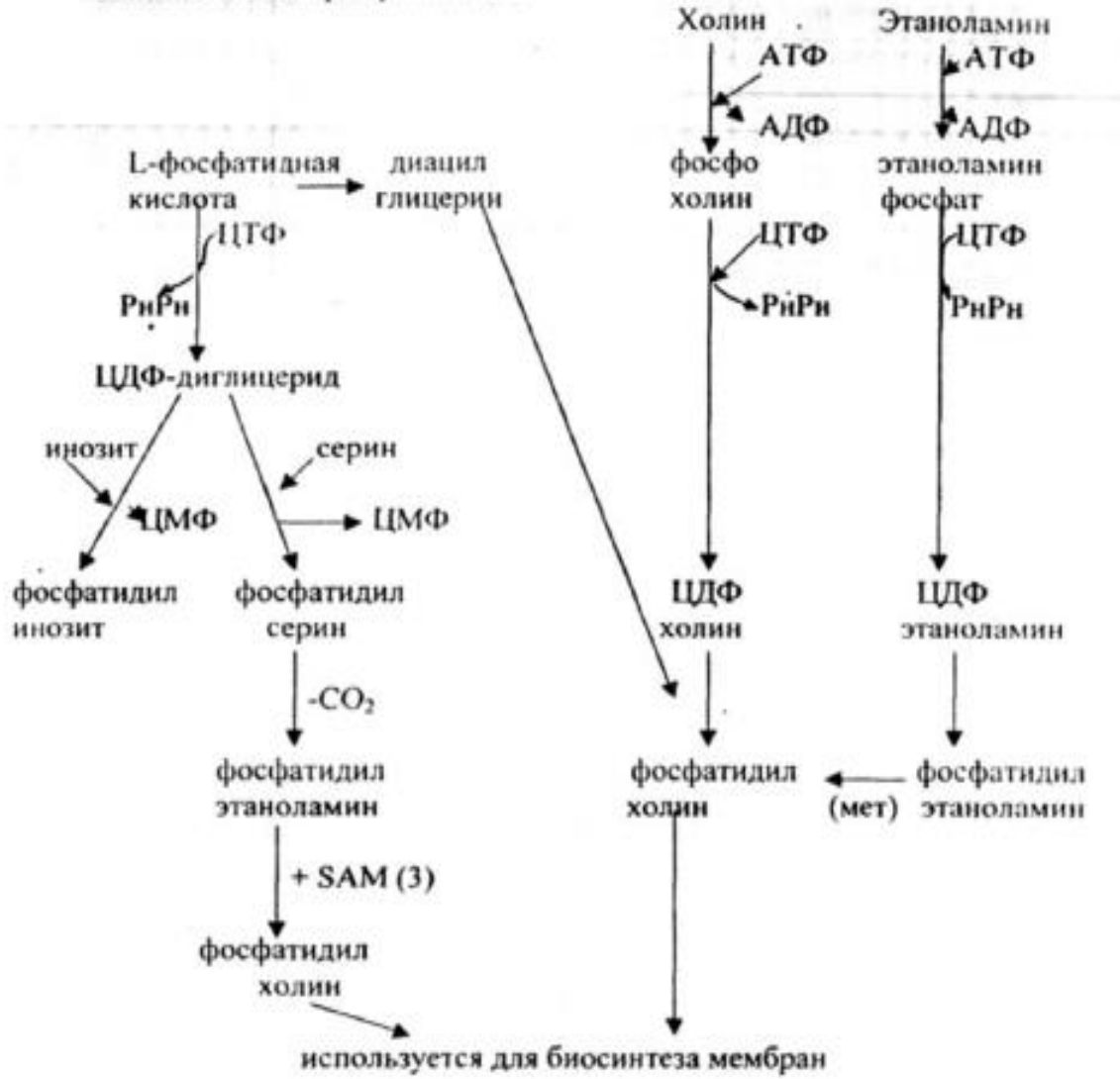
- пластическая, то есть являются компонентами клеточных мембран
- полиненасыщенные жирные кислоты — предшественники простагландинов.
- определяют проницаемость клеточных мембран (участвуют в процессе мембранного транспорта).
- являются антиоксидантами.
- снижают поверхностное натяжение альвеол - против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

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

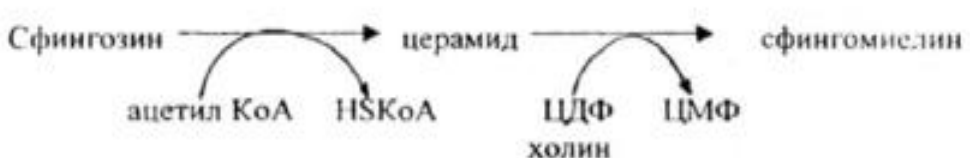
Фосфолипиды в а положении содержат насыщенные жирные кислоты: пальмитиновую, стеариновую, а в Р-

ненасыщенные (олеиновую, линолевую, арахидоновую).

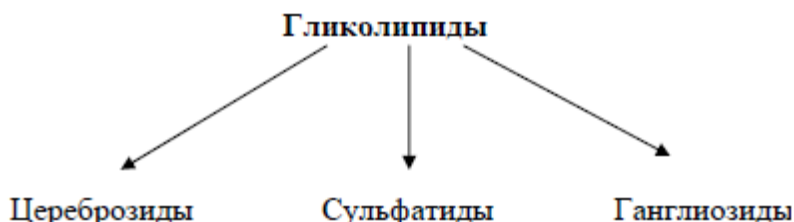
Схема синтеза фосфолипидов



Сфингомиелин – основной компонент миелиновых оболочек, коры головного мозга



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



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

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

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

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

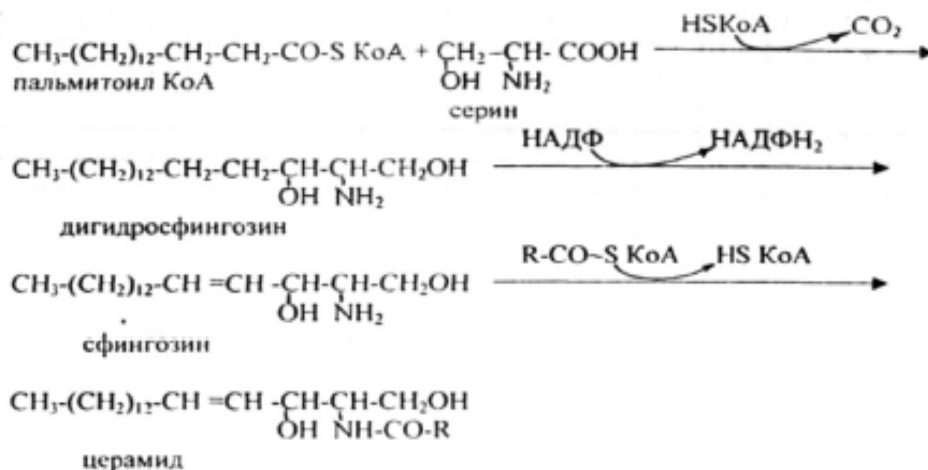
В регуляции транспорта катионов принимает участие взаимопревращение с участием фермента — нейраминидазы, ее актив-ность в нервной ткани высока.

Связывает токсины столбняка, инактивирует некоторые бактериальные яды (дифтерийный токсин, связывает вирусные частицы). Ганглиозиды придают мембране эритроцита характер-ную 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 ре- тиккулаума. Мембраны ЭПР служат предшественниками мембран аппарата Гольджи. От аппарата Гольджи постоянно отшнуровы- ваются мембранные пузырьки, в которых продуцируемый секрет транспортируется к плазматической мембране. Фосфоглицеролы мембран переносятся из ЭПР в митохондрии при помощи транспортных белков. Таким образом, в клетках существует поток вновь синтезированных липидов, направленных к различным ти-пам клеточных мембран.

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

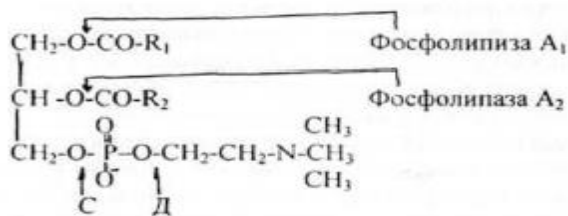
Схема биосинтеза сфинголипидов, цереброзидов и ганглиозидов:



Затем последующее присоединение:

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

Расщепление липидов катализируется гидролитическими ферментами, способными расщеплять строго определенные 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 O₂ 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 NH₂ группами белков, вызывая их необратимую денатурацию. Результатом ПОЛ является увеличение проницаемости для кальция, натрия и воды, они входят в клетку и субклеточные частицы, вызывая их набухание и разрушение. Свободные радикалы проникают в ядро и митохондрии, окисляя ДНК, вызывая разрыв цепей ДНК и другие изменения. Повреждение тканей в результате может быть причиной заболевания, усиливает развитие осложнений, может быть следствием повреждения клеток другими факторами. Свободно-радикальный процесс в норме происходит в клетках постоянно, но с низкой активностью, так как имеются различные системы защиты от активных форм кислорода (антиоксидантная система).

II. Цель деятельности обучающихся на занятии:

Обучающийся должен знать:

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

Обучающийся должен уметь:

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

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

1. Биосинтез триацилглицеридов.
2. а) активация высших жирных кислот.
3. б) источники образования глицерол-3-фосфата.
4. Фосфатидная кислота - важный промежуточный продукт в синтезе липидов.
5. Влияние инсулина и других гормонов на липогенез.
6. Мобилизация жира из депо.
7. Механизмы регуляции липолиза.
8. Нарушение обмена триацилглицеридов - ожирение.
9. Классификация сложных липидов.
10. Биологическая роль фосфолипидов.
11. Пути биосинтеза глицерофосфолипидов.
12. Биосинтез сфинголипидов и их биологическая роль.
13. Гликолипиды — биосинтез цереброзидов, роль церамида в процессе синтеза.
14. Характеристика ганглиозидов, основные реакции синтеза.
15. Катаболизм фосфолипидов — роль фосфолипазы А₂
16. Роль перекисного окисления липидов в самообновлении фосфолипидов клеточных мембран.
17. Болезни накопления — липидозы.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

VII. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Триацилглицериды как резервное метаболическое топливо.
2. Активация жирной кислоты.
3. Пути образования глицерол-3-фосфата.
4. Роль процесса гликолиза.
5. Фосфатидная кислота - важный промежуточный продукт в синтезе липидов.
6. Схема синтеза ТАГ, объяснить ее.

7. Биосинтез ТАГ (формульный материал).
8. Транспортные формы ТАГ.
9. Регуляция липогенеза - роль инсулина.
10. 10. Условия, необходимые для мобилизации ТАГ из депо.
11. Липолиз - ступенчатый гидролиз ТАГ.
12. 12. Роль гормонов в регуляции липолиза.
13. 13. Нарушение обмена ТАГ - жировой гепатоз и ожирение.
14. 14. Современные теории развития ожирения, роль лептина и других гормонов.
15. Перечислите и напишите представители фосфоглицеро-
16. лов.
17. Перечислите биологические функции фосфоглицеролов.
18. Пути синтеза глицерофосфолипидов. Роль фосфатидной кислоты.
19. Запасной путь синтеза глицерофосфолипидов.
20. Ферменты, участвующие в катаболизме фосфолипидов.
21. Роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) в самообновлении фосфолипидов клеточных мембран.
22. Напишите синтез сфингомиелина, роль церамида.
23. Представители гликолипидов и их биологическая роль.
24. Напишите синтез цереброзидов.
25. Охарактеризуйте структурные особенности ганглиозидов и их биологическую роль.
26. Нарушения обмена сфинголипидов — липидозы

IX. Самостоятельная работа обучающихся:

X. Список использованной литературы:

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Нарушение липидного обмена-атеросклероз. Атерогенные липопротеины, их роль в развитии атеросклероза. Количественное определение общего холестерина в сыворотке крови.

I. Научно-методическое обоснование темы:

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

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

Чтобы восполнить эту потерю, организм синтезирует в сутки около 0,8 г холестерина и 0,4 г получает с пищей. Лишь в плазме крови и тканях, синтезирующих стероидные гормоны, эстерифи- цированная форма холестерина (ЭХС) преобладает над свободной (НЭХС), составляя 70-80%. Эфиры холестерина находятся в цитозоле клетки в виде мелких жировых капель и рассматри-ваются как запасная форма холестерина. Во всех остальных тка-нях около 80-90% от общего количества составляет свободный холестерин. Хотя в целом в организме млекопитающих НЭХС преобладает на ЭХС, есть органы и ткани, в которых преимущес-твенно содержится последний: надпочечники (75-83%), плазма крови (75%), спинномозговая жидкость (более 50%), а также кожа, соединительная ткань, атеросклеротически пораженные артерии, ксантомы.

Таким образом, в организме выделяют два основных фонда холестерина: структурный, представленный свободным холестерином плазматических мембран, и метаболически активный (эстерифицированный), который обнаруживается в основном в липопротеидах плазмы крови, коре надпочечников.

С возрастом в плазме крови, в соединительной ткани, жировой, коже и в интима артерий происходит увеличение содержания холестерина, преимущественно за счет ЭХС - олеата, линолеата.

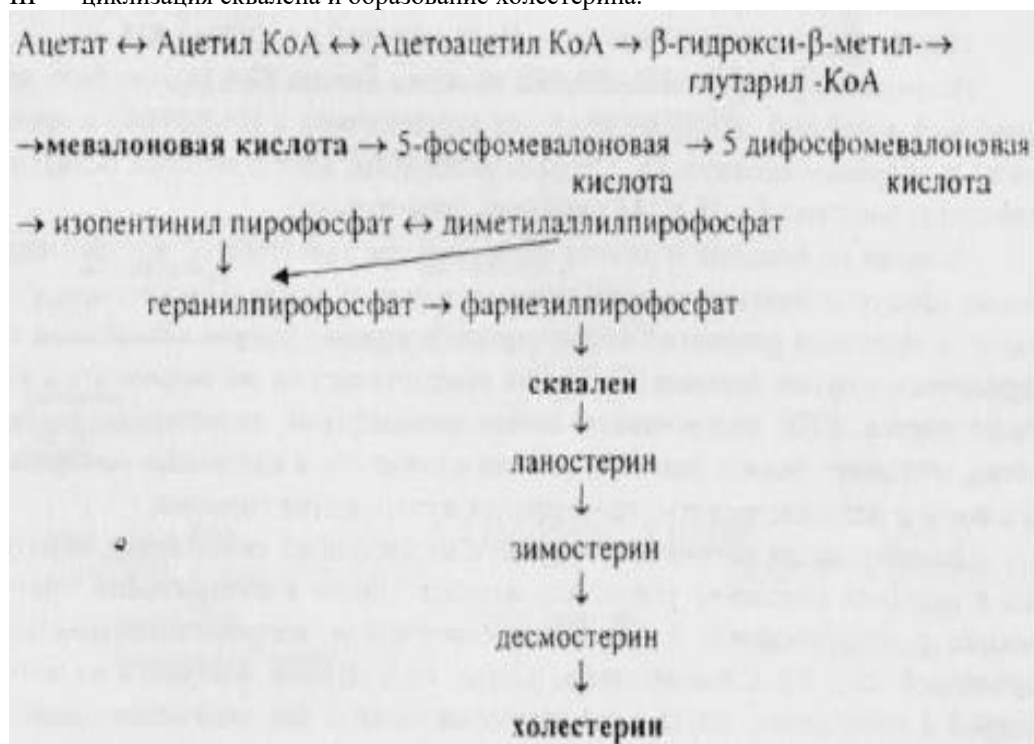
Биосинтез холестерина.

Синтез холестерина осуществляется в клетках почти всех органов и тканей, кроме зрелых эритроцитов. В значительных количествах - в печени (80%), стенке тонкой кишки (10%) и коже (5%). Именно в печени и стенке тонкой кишки происходит и образование содержащих холестерин липопротеинов.

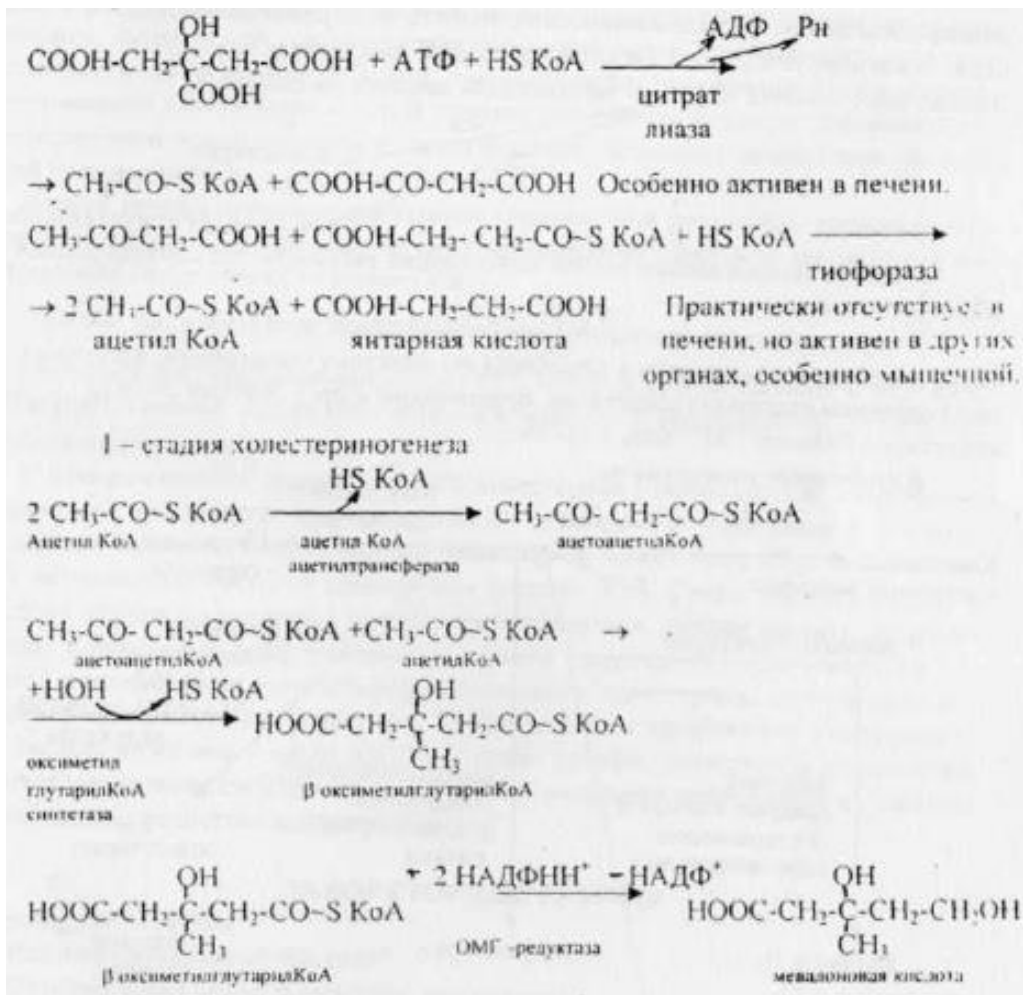
Благодаря исследованиям К.Блоха и др. известны основные реакции биосинтеза холестерина.

Таких реакций не менее 25. Биосинтез холестерина можно разделить на 3 этапа:

- I - биосинтез мевалоновой кислоты.
- II - образование сквалена из мевалоновой кислоты.
- III - циклизация сквалена и образование холестерина.



Основным источником образования мевалоновой кислоты в печени является ацетилКоА, а в мышечной ткани - лейцин. И то и другое соединения в результате ряда реакций образуют Р-гидрокси-Р-метилглутарил-КоА,



Регуляция холестериногенеза.

Реакцией, регулирующей скорость биосинтеза холестерина, в целом является восстановление ОМГ-КоА в мевалоновую кислоту, катализируемая ОМГ-КоА-редуктазой. Скорость синтеза редуктазы в печени подвержена суточным колебаниям: максимум приходится на полночь и минимум - на утренние часы.

Активность фермента (или содержание ее в клетках печени) возрастает при действии ионизирующей радиации, введении инсулина и тиреоидных гормонов. Угнетение синтеза холестерина отмечается при голодании, тиреозектомии, введении глюкагона и глюкокортикоидов, больших доз никотиновой кислоты. Пищевой холестерин угнетает синтез собственного холестерина в печени.

Угнетение образования мевалоновой кислоты происходит по принципу отрицательной обратной связи, то есть образуется холестерин и его производные, вызывающие изменение физико-химических свойств мембраны эндоплазматической сети, и ингибируется синтез и активность ОМГ-редуктазы.



В стенке тонкой кишки синтез холестерина регулируется концентрацией желчных кислот.

В последние годы проводится усиленный поиск лекарственных ингибиторов редуктазы и внедрение в клиническую практику соединений, известных под названием статинов (левастатин, правостатин и др.). Эти соединения структурно близки ГМГ-КоА и лактону.



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

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

К первому типу относятся так называемые «факторы риска»: курение, гиподинамия, загрязнение окружающей среды, ведущее к попаданию в организм ксенобиотиков (фториды, CO, H₂S, свинец, бензол, соединения ртути), стресс, артериальная гипертензия и т.д. В стенках сосудов эти факторы усиливают перекисное окисление липидов и, как следствие, возникает повышение сосудистой проницаемости.

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

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

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

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

Липиды не растворяются в водных фазах организма, поэтому их транспорт кровью и лимфой осуществляется в виде комплексов с белками и фосфолипидами, которые называются липопротеинами (транспортные формы липидов). Методом ультрацентрифугирования различают транспортные формы в зависимости от плотности: хиломикроны (ХМ), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины очень высокой плотности.

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

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

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

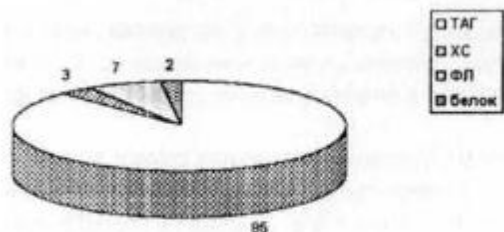
разнообразные функции:

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

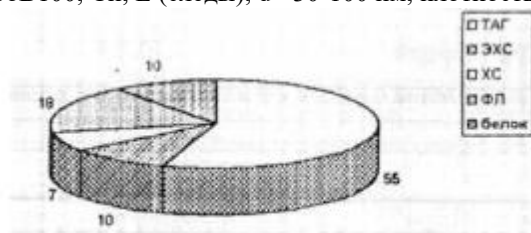
Различают: апопротеины AI, AII, B - B100 и B48, C - CI, C II, C

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

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

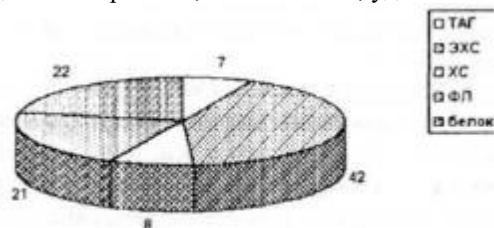


ЛПОНП синтезируются в клетках печени и транспортируют эндогенные ТАГ. Белковая часть представлена apoB100, CII, E (следы), d= 30-100 нм, плотность 0,96 - 1,006 г/мл.

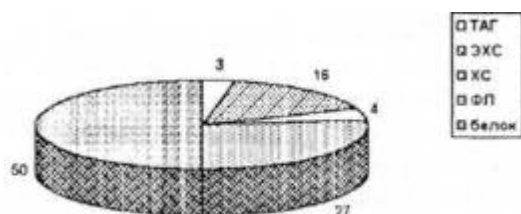


ЛППП - образуются в крови из ЛПОНП (промежуточная форма превращения ЛПОНП в ЛПНП). Плотность 1,006-1,019. Содержат 2 5% ТАГ, 30% ЭХС, 8% ХС, 23% ФЛ, 11% белка.

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



ЛПВП образуются в гепатоцитах. Белок, представлен apoA, CII, E. d их колеблется от 7 до 15 нм (это самые маленькие, но самые тяжелые липопротеины), удельный вес 1,063-1.21. Синтезируются как предшественники в печени, обогащаются холестерином в крови, возвращают избыточный холестерин в печень и поставляют апопротеины в другие ЛП. (Например, apoCII, E в хило-микроны). Концентрация в плазме - 1,3-4,2 г/л.



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

Метаболизм липопротеинов.

Ресинтезированные в эпителиальных клетках кишечника триглицериды и фосфолипиды, а также поступивший в эти клетки холестерин (здесь он частично этерифицируется), соединяются с основным белком хиломикронов apo B48, который синтезируется в энтероцитах и образуются незрелые хиломикроны. Они из-за своих больших размеров не способны проникать в кровеносные капилляры и диффундируют в лимфатическую систему, а затем в кровоток. В крови незрелые ХМ получают от ЛПВП апопротеины CII, E, превращаясь в зрелые. Apo CII, входящий в состав ХМ, взаимодействует с липопротеинлипазой, локализуемой на поверхности эндотелия сосудов, активирует ее и гидролизует ТАГ в составе ХМ до глицерина и свободных жирных кислот.

Глицерин переносится в печень, СЖК окисляются в тканях или депонируются в виде ТАГ. Остаточные хиломикроны (структуры, образовавшиеся из ХМ после удаления основной части ТАГ) захватываются печенью через рецепторы, связывающие apoE. В гепатоцитах они подвергаются гидролитическому действию лизосомальных ферментов, в результате освобождаются холестерин, жирные кислоты, аминокислоты. В печени холестерин, синтезированный гепатоцитами и поступивший из остаточных ХМ, вместе с другими липидами, включается в ЛПОНП, которые образуются с участием apo B100 (синтезируется в печени). В эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи липопротеины упаковываются в покрытые мембраной пузырьки и выводятся с помощью экзоцитоза. В кровь секретируются незрелые ЛПОНП, и получая от ЛПВП apo C и apo E, становятся зрелыми, способными взаимодействовать с липопротеинлипазой. Липопротеинлипаза способствует гидролизу ТАГ, в липопротеинах возрастает относительное содержание холестерина и его эфиров, увеличивается плотность и уменьшаются линейные размеры. В результате ЛПОНП превращаются в ЛППП, а затем в ЛПНП.

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

Холестерин может накапливаться в цитозоле клеток в виде капель эфиров холестерина (этерификацию холестерина катализирует фермент ацетилхолинэстераза), он откладывается на мембране клетки, принимая участие в ее формировании, является ингибитором ключевого фермента синтеза холестерина - ОМГ-КоА-редуктазы. Из-за большого содержания холестерина ЛПНП могут участвовать в формировании атеросклеротического повреждения артерий, потому они названы «атерогенными».

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

ЛХАТ холестерина

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

Антиатерогенность ЛПВП связана также с высоким содержанием в них ФЛ, которые работают как антиоксиданты.

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

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

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

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

Существует несколько теорий развития атеросклероза:

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

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

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

II. Цель деятельности обучающихся на занятии:

Обучающийся должен знать:

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

Обучающийся должен уметь:

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

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

1. Краткая характеристика холестерина, особенности его структуры, содержание холестерина в организме, во внутренних органах.
2. Соотношение свободного и этерифицированного холестерина в крови, тканях.
3. Экзогенный холестерин и его судьба
4. Источники эндогенного холестерина. Основные этапы холестериногенеза, их особенности.
5. Регуляция холестериногенеза в печени и стенке тонкой кишки.
6. Пути катаболизма холестерина

7. Нормальные величины концентрации холестерина в плазме крови
8. Нарушение обмена холестерина (гиперхолестеринемии, холестериноз) - атеросклероз.
9. Липопротеины, как транспортные формы липидов. Основные классы липопротеинов.
10. Характеристика отдельных классов липопротеинов.
11. Метаболизм липопротеинов.
12. Типы гиперлипидемий.
13. Изменение липопротеинового спектра плазмы крови при атеросклерозе. Теории развития атеросклероза

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

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

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

Тестовые задачи:

1. Атерогенными липопротеинами являются:
 - 1) хиломикроны
 - 2) ЛПОНП
 - 3) ЛПНП
 - 4) ЛПВП
 - 5) 2,3
2. Антиатерогенными липопротеинами являются:
 - 1) хиломикроны
 - 2) ЛПОНП
 - 3) ЛПНП
 - 4) ЛПВП
 - 5) 2,3
3. Хиломикроны являются основной транспортной формой :
 - 1) ТАГ экзогенного происхождения
 - 2) ТАГ эндогенного происхождения
 - 3) холестерина
 - 4) фосфолипидов
 - 5) белка
 - 6)

4. Какие из перечисленных функций выполняют ЛПВП:
 - 1) холестеринацепторная
 - 2) задерживают пероксидацию ЛПНП
 - 3) транспорт холестерина в клетку
 - 4) транспорт ТАГ
 - 5) всё вышеизложенное не верно
 - 6) верно 3,4
5. Какие из перечисленных рецепторов участвуют в катаболизме ЛПНП:
 - 1) Аро - СШ - рецепторы
 - 2) Аро - АГ - рецепторы
 - 3) Аро - В100 - рецепторы
 - 4) Аро - В48 - рецепторы
 - 5) Аро - Е - рецепторы
 - 6) Аро - В100 Е - рецепторы
6. Какое соединение тормозит синтез этих рецепторов?
 - 1) холевая кислота;
 - 2) холестерин;
 - 3) жирные кислоты;
 - 4) триацилглицерины;
 - 5) все перечисленное выше не верно.
16. Холестерин синтезируется:
 - 1) из бутирил КоА
 - 2) из малонил КоА
 - 3) из сукцинил КоА
 - 4) из ацетил КоА
17. Синтез холестерина регулируется на уровне:
 - 1) ГМГ КоА-синтетазы
 - 2) ГМГ КоА-лиазы
 - 3) ГМГ КоА-редуктазы
 - 4) 7 а-гидроксилазы
18. Активность ГМГ КоА редуктазы регулируется:
 - 1) Аллостерически по механизму ретроингибирования холес-терином, поступающим в цитозоль клетки в составе ЛНП.
 - 2) Фосфо- и дефосфорилированием.
 - 3) Изменением количества ферментов.
 - 4) Ассоциацией-диссоциацией субъединиц.
19. Холестерин является:
 - 1) Компонентом клеточных мембран.
 - 2) Предшественником витамина Д3
 - 3) Предшественником желчных кислот.
 - 4) Предшественником стероидных гормонов (половых и коры надпочечников).

Задача

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

Вопросы для педиатрического факультета:

1. Особенности обмена холестерина у новорожденных детей.

VII. Хронокарта учебного занятия

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

IX. Самостоятельная работа Обучающийсяя:

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

Х. Список использованной литературы:

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можасва, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Аминокислоты, их свойства, классификация и биологическая функция. Протеиногенные аминокислоты. Свойства аминокислот, обусловленные наличием аминогруппы. Определение pH водных растворов аминокислот.

Пути образования и распада аминокислот в организме. Общие пути катаболизма аминокислот.

Трансаминирование. Качественный метод определения пирувата-конечного продукта процесса трансаминирования.

Декарбоксилирование и дезаминирование аминокислот в тканях животных и человека. Основные биологически активные метаболиты аминокислот. Методы количественного определения мочевины в моче.

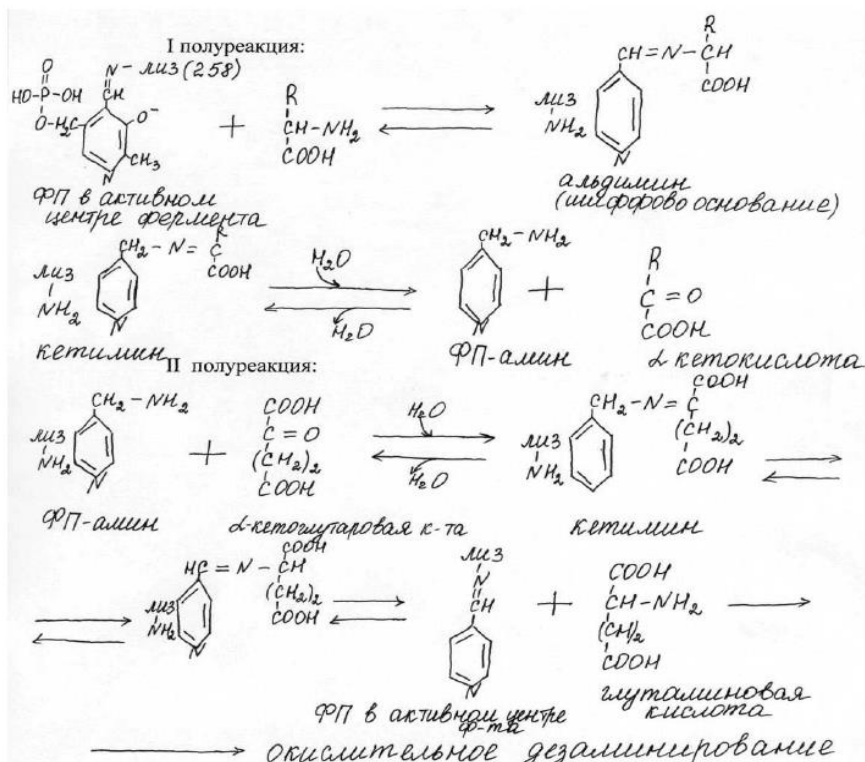
I. Научно-методическое обоснование темы:

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 углеводородных 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 α-аминокислоты (донор) на α-кетокислоту с образованием новой аминокислоты и кетокислоты без промежуточного образования аммиака. Основными кетокислотами, участвующими в реакции переаминирования, являются пируват, ЦУК, α-кетоглутарат. Катализируют этот процесс и определяют специфичность ферменты — аминотрансферазы (трансаминазы), которые локализируются в цитоплазме и митохондриях клеток. Реакции трансаминирования обратимы. Коферментом трансаминаз является метаболитическая форма Витамина В₆ (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 В₆ (фосфопиридоксамин) — временный акцептор NH₂ 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.

Трансаминирование собирает весь пул NH₂ в виде глутамата, который идёт на процесс окислительного дезаминирования.

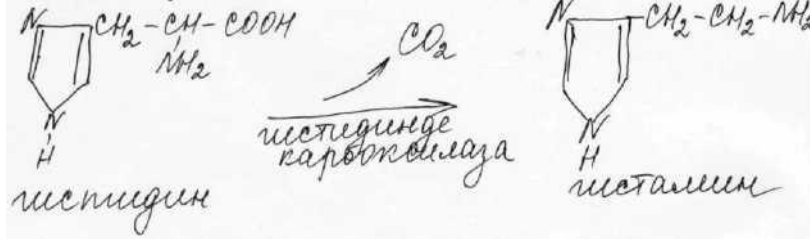
1. Осуществляется перераспределение аминного азота в органах и тканях.

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 АсАТ/АлАТ = 1,33. Коэффициент > 1,33 — поражение сердечной мышцы, если < 1,33 — поражение печёночной паренхимы.

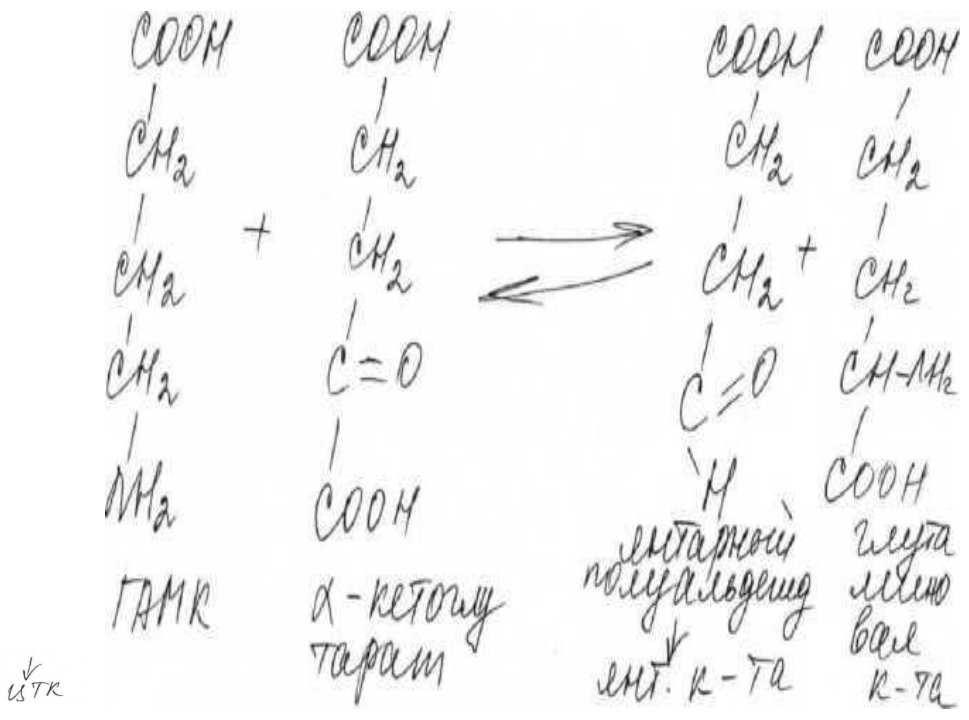
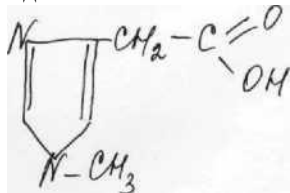
Другой важный путь катаболизма — декарбоксилирование

— процесс отщепления карбоксильной группы в виде 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 гистидиндекарбокси-лаза:



Депонируются гистамины в тучных клетках, лейкоцитах крови. Биологические эффекты гистамин реализует через гистамино-вые рецепторы H_1 и 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 H_2 рецепторы гистамин стимулирует секрецию HCl в желудке, через H_1 — рецепторы стимулирует сокращение гладкой мускулатуры бронхов и кишечника, участвует в сенсibilизации организма. Повышение концентрации гистамина опасно, поэтому он разрушается под действием специфической гистаминазы (ДАО). Сначала гистамин метилируется, а затем дезаминируется и окисляется до 1-метилимидазол-4-ацетата, который выводится с мочой:



↓
УТК

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 координации 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 α -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 ГПСП.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся 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.

Обучающийся должен уметь:

1. Написать полуреакции трансминирования (схему пири-доксалевого катализа).
2. Указать соответствующие ферменты.
3. Воспроизвести переаминирование в пробирке, интерпретировать полученные результаты.
4. Написать кофермент трансаминаз.
5. Объяснить биологическое значение трансминирования.
6. Объяснить диагностическое значение трансминирования.
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.В₆), 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.

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 трансминирования.
5. Назвать наиболее активные трансаминазы.
6. Структурная организация трансаминаз.
7. Полуреакции фосфопиридоксалевого катализа.
8. Биологическое значение трансминирования.
9. Коэффициент Де Ритиса, клиничко-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 (фосфопиридоксальевый катализ).
2. Указать ферменты процесса, источники их в эксперименте (АлАТ).
3. Каково клиническое значение определения АлАТ и Ас АТ 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 Ри- тиса, 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 В₆ и нарушение этого процесса в патологии.

IX. Самостоятельная работа обучающихся:

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

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Особенности обмена отдельных аминокислот. Роль метионина в реакциях трансметилирования. Синтез креатинина и креатина. Количественное определение креатинина в моче.

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, кетонные тела, «кетогенные» аминокислоты (лейцин), смешанные аминокислоты, способные превращаться в глюкозу и кетонные тела (лизин, изолейцин, тирозин и др.). В процессы синтеза углеводов и липидов включаются аминокислоты в виде метаболитов общих путей катаболизма: ацетила КоА, α-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 CH₃ 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 ^ адреналин, гликоциамины ^ креатин, креатинин

фосфатидилэтаноламин ^ фосфатидилхолин ^ α-аминомасляная кислота ^ 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 + H₂O ^ S-аденозилметионин + PP_н + P_н

2. S-AM отдаёт CH₃ на метилирование субстратов (ферменты метилтрансферазы) при этом образуются метилированные производные SK-субстрата и освобождается S-аденозилгомоцистеин (8-AG):

субстрат + S-AM ^ субстрат-CH₃ + S-AG метилтрансферазы

3. S-AG распадается на аденозил + гомоцистеин S-AG ^ 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

Аргинин + Глицин -----> Орнитин + Гликоциамин

Гликоциамин

трансмидиназа

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

гуанидинацетат + S-AM ^ креатин + S-AG гуанидинацетатметилтрансфераза

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 гомогентизатак시다зой и через ряд реакций образуются конечные продукты — фумарат и ацетоацетат. Но тирозин может подвергаться гидроксированию в ди-оксифенилаланин (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 Т₄, Т₃.

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 олигофрениии, 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 обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Процессы катаболизма, осуществляемые по специфическому радикалу.
2. Процессы трансметилирования, источники метильных групп, основные реакции трансметилирования. Синтез креатинина.
3. Продукты трансметилирования, гидроксирования, ферменты.
4. Специфические пути катаболизма фенилаланина и тирозина.
5. Энзимопатии, связанные с дефектами определённых ферментов специфических путей катаболизма фенилаланина и тирозина.

Обучающийся должен уметь:

1. Написать реакции синтеза креатинина.
2. Объяснить значение этого процесса, роль метионина в этом процессе.
3. Объяснить значение фолиевой кислоты и витамина В₁₂ 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 (фенилке- тонурия, 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 наглядных пособий и средств ТСО.**

1. Определение креатинина в моче по Фолину.

1. Качественная реакция на гомогентизиновую кислоту.

Наглядные пособия:

Таблицы

V. **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 В₁₂, фолиевой кислоты?
12. Назовите конечные продукты превращения гомоцистеина.
13. Превращения цистеина. Как используется активная серная кислота (ФАФС)?

VI. 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. В₁₂.
8. Схема образования цистеина и его дальнейшее превращение.

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.

1. Фенилпировиноградная олигофрения
2. Гомоцистинурия, причины

VII. Самостоятельная работа обучающихся:

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

VIII. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

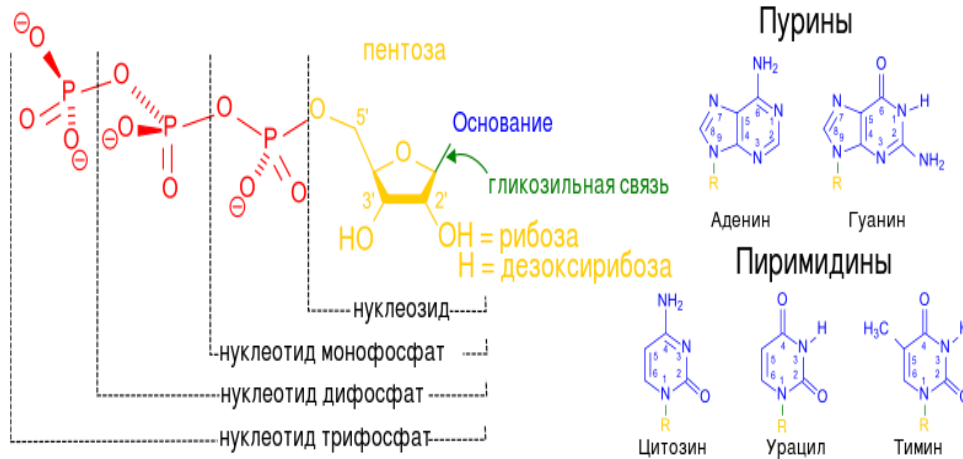
1. Е.А. Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия». 1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная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

Тема: Обмен нуклеопротеинов. Синтез и распад пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Методы определения мочевой кислоты в моче.

I. Научно-методическое обоснование темы:

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

СТРОЕНИЕ НУКЛЕОТИДА



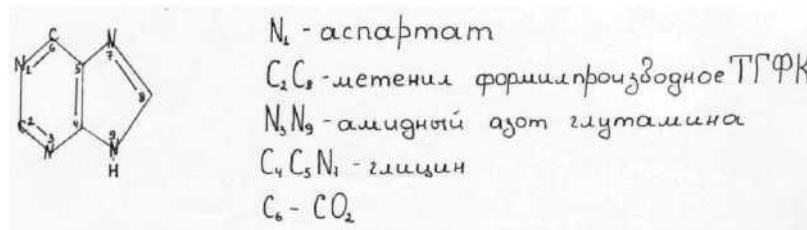
Азотистые основания могут быть производными пурина (аденин, гуанин), пиримидина (урацил, тимин, цитозин). Соответственно мономеров, которые используются в биосинтезе РНК, ДНК пять: АМФ, ГМФ, ЦМФ, ТМФ, УМФ.

Моонуклеотиды ДНК: АМФ, ГМФ, ЦМФ, ТМФ.

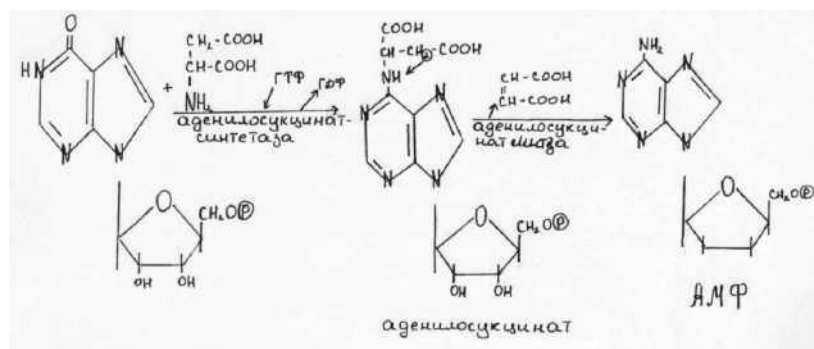
Моонуклеотиды РНК: АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ.

Активный 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 — амидо- трансферазой. В дальнейшем синтезе пуринового кольца используются следующие соединения:



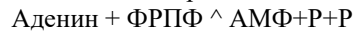
Формирование структуры пуринового нуклеотида происходит на фосфорибозилфосфоамине. В процессе синтеза образуется первый нуклеотид 5-ИМФ, который через ряд последовательных реакций превращается в 3-АМФ и 5-ГМФ. Схема превращения ИМФ в АМФ:



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) Аденинфосфорилтрансфераза, отвечающая за образование АМФ.



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



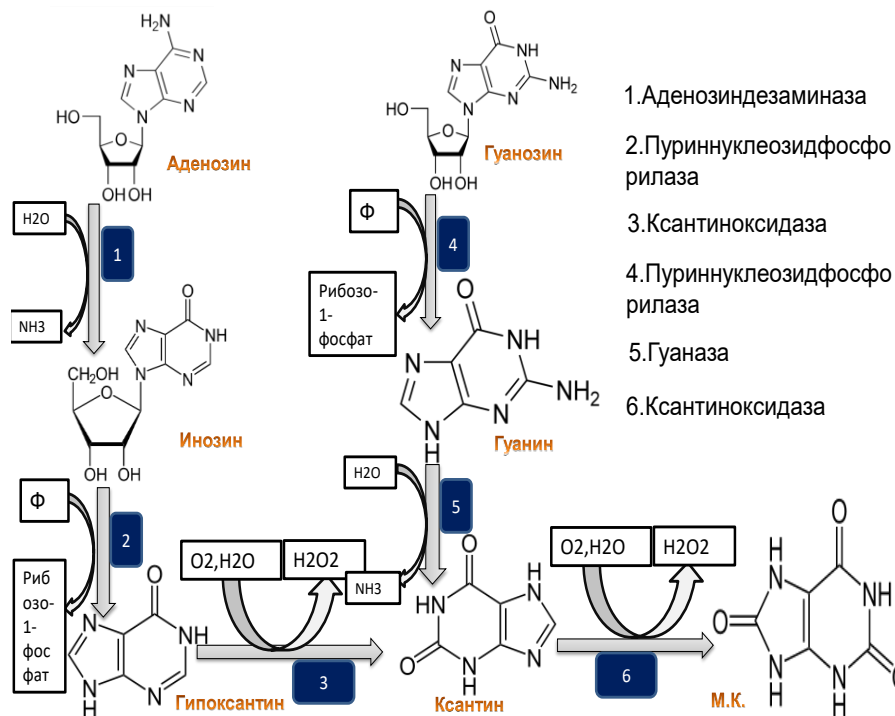
Этот путь синтеза нуклеотидов снижает выход конечного продукта катаболизма пуринов — мочевой кислоты, накопление которой опасно для жизни.

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

Процессы синтеза нуклеотидов пуринового ряда регулируются собственными 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 полирибонуклеотидов, 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.

РАСПАД НУКЛЕОТИДОВ ПУРИНОВОГО РЯДА



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:

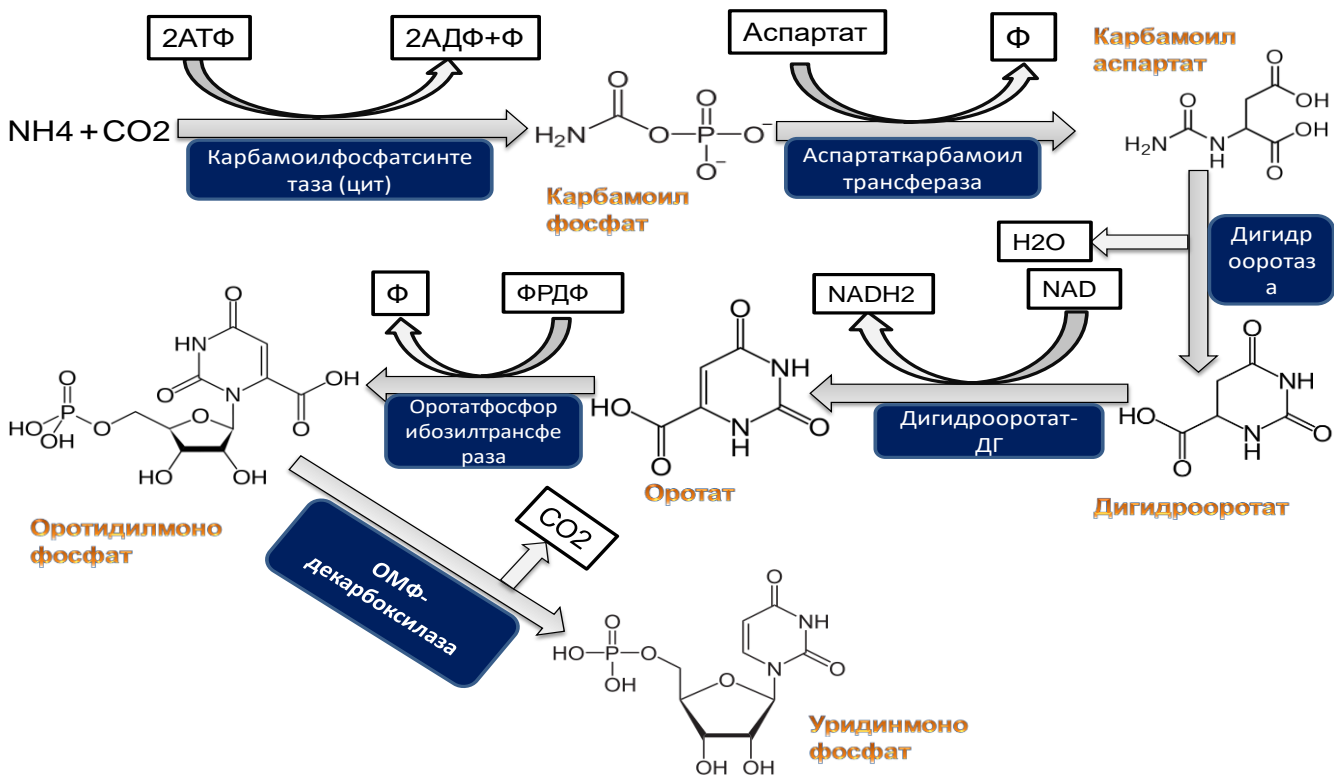
1) при повышении активности ксантиноксидазы;

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-фосфорилтрансферазы. 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.

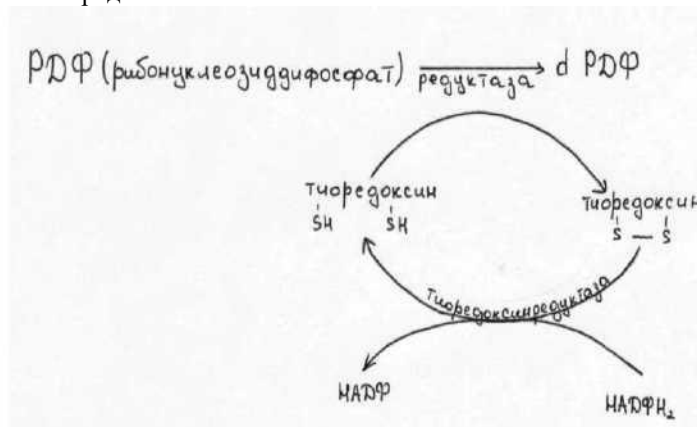
Синтез пиримидиновых оснований идет в основном de novo, и локализуется в цитоплазме. Осуществляется при участии трех ферментов, два из которых полифункциональны. Первый поли-функциональный фермент состоит из трех доменов, обладающих ферментативной активностью и обеспечивают ход первых трех реакций: образование активной формы NH_3 , перенос этой активной формы на аспарат, и, наконец, отщепление молекулы воды, что ведет к образованию пиримидинового кольца. Образовавшийся дигидрооротат 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 ^{глю} и ^и энергию АТФ.

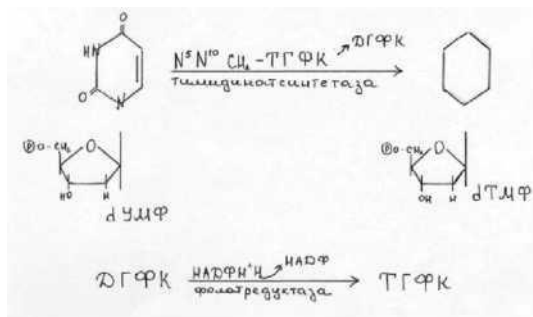
СИНТЕЗ ПИРИМИДИНОВОГО КОЛЬЦА



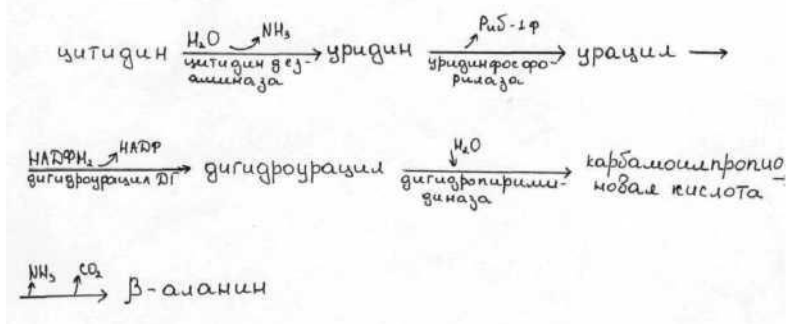
Очень важен синтез ТМФ, поскольку он является мономером ДНК. Синтез ТМФ начинается с восстановления рибонуклеотида (УМФ) в дезоксирибонуклеотид. Процесс восстановления рибозы в d-рибозу требует восстановительных потенциалов. Непосредственным источником последних является восстановленный белок-тиоредоксин, 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 тимидилатсинтаза, 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: пиримидинфосфорибозилтрансфераза и уридин-цитозинкиназа. Процессы синтеза пиримидиновых нуклеотидов регулируются через изменение активности аллостерических ферментов: карбамоилфосфатсинтетаза II, аспартаттранскарбамоиллаза. Первый ингибируется ЦТФ, активируется ФРПФ, второй ингибируется ЦТФ, но активируется АТФ. Ферментные системы организма способны разрушать пиримидиновые нуклеотиды до простых соединений: мочевины, углекислый газ, В-аланин или, В-аминоизобутират. Схема:



При разрушении ТМФ конечные продукты представлены мочевиной, CO_2 , В-аминоизобутиратом. (р-аланин может превращаться в а-аланин в реакции трансаминирования с ПВК. а-аланин включается в синтез белка. Кроме того, может включаться в состав мышечных пептидов карнозина и ансерина. Бактериальные клетки используют р-аланин на синтез пантотеновой кислоты, входящей в состав ЖКоА. Р-аминоизобутират превращается в метилмалонил КоА, а затем в сукцинил КоА и сгорает в ЦТК.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся 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.

Обучающийся 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 наглядных пособий и средств ТСО

V. 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 оротатацидурия?
16. Написать пути катаболизма пиримидиновых нуклеотидов.
17. Конечные продукты катаболизма пиримидиновых нуклеопротеидов, их судьба.

VI. 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.

VII. Самостоятельная работа обучающихся

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

VIII. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986

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

Тема: Биосинтез гема. Порфирии. Распад гемоглобина в тканях. Обмен железа. Анемии.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Хромопротеиды — класс белков, протетическая 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+} от органических веществ, затем в присутствии аскорбиновой кислоты (оксидазы) превращается в 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 (Рj-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.

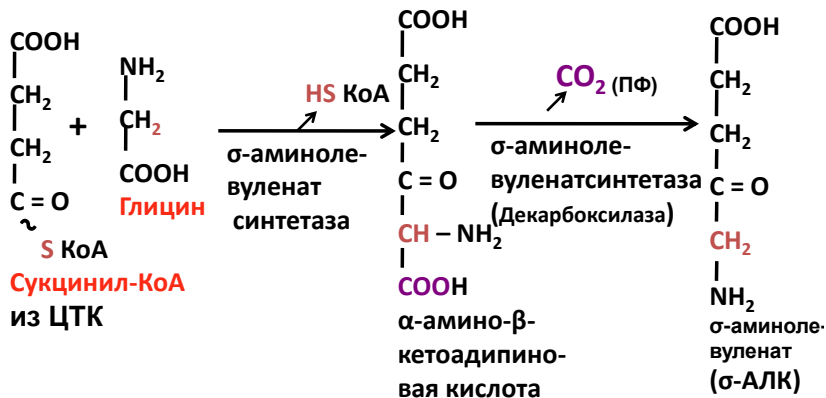
Источниками эндогенного железа являются эритроциты, подвергающиеся постоянному разрушению (25 мг в сутки). Освобождающееся железо включается в процессы реутилизации.

Синтез гема начинается в аэробных условиях (в митохондриях). Происходит конденсация сукцинил-КоА и глицина с образованием 5-аминолевулиновой кислоты. Катализирует фермент синтетаза 5-аминолевулиновой кислоты, коферментом является витамин B_6 , активная форма — фосфопиридоксаль. Фермент имеет аллостерическую регуляцию: ингибирует гем, активируют стероиды и препараты барбитуровой кислоты.

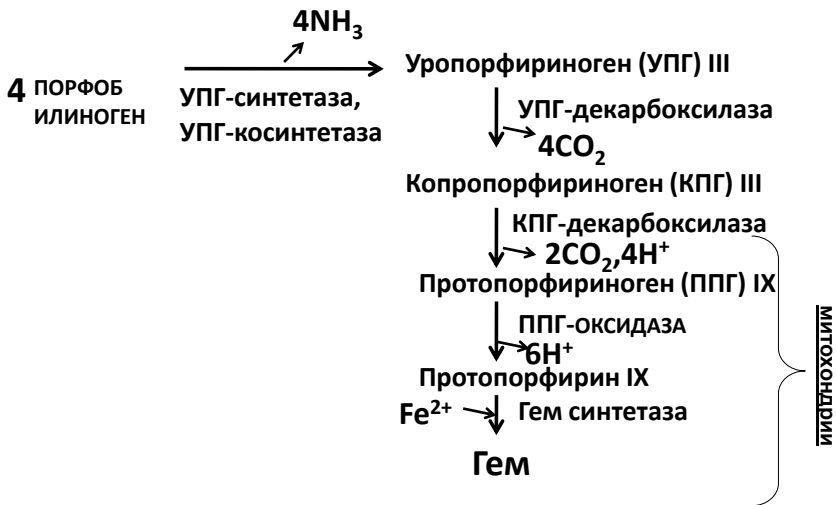
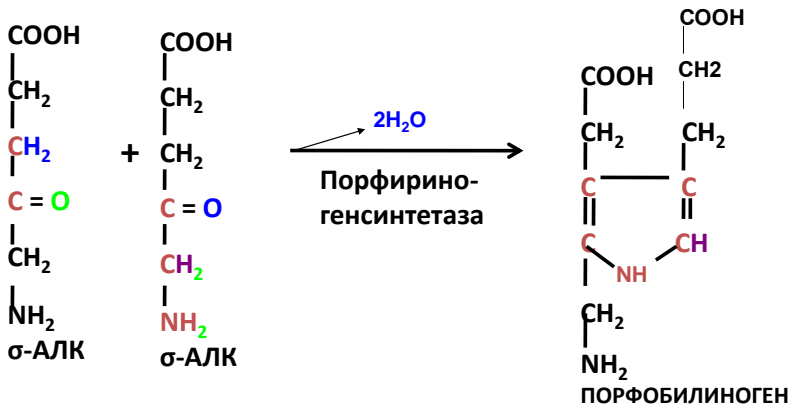
5-аминолевулиновая кислота поступает в цитоплазму, где происходит конденсация 2-х молекул с образованием порфибилиногена. Катализирует фермент — порфибилиноген-синтетаза.

Синтез гема

Матрикс митохондрий



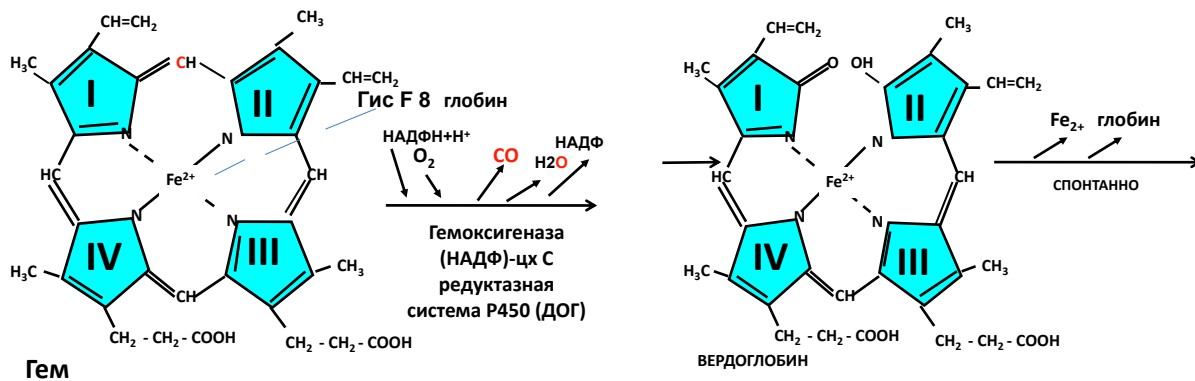
Цитоплазма



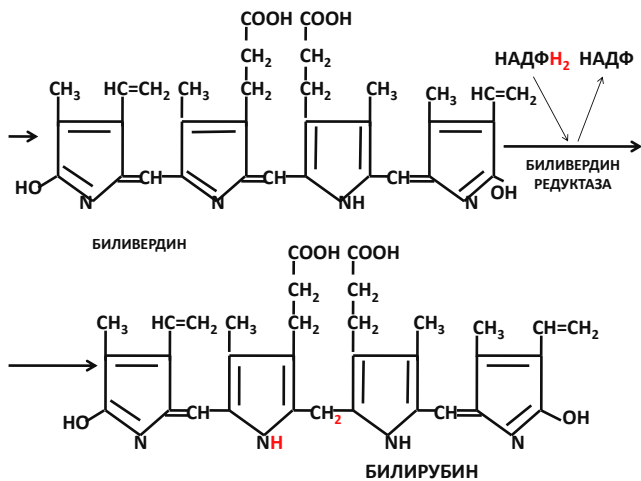
В процессе жизнедеятельности гемоглобин подвергается многократным обратимым конформационным изменениям, которые позволяют выполнять основную функцию клетки (эритроцита). Однако могут наступить необратимые структурные изменения гемоглобина (80 дней), клетка теряет свои функции и подвергается фагоцитозу.

Эритрофагами являются клетки РЭС, где гемоглобин подвергается катаболизму. В присутствии фермента гемоксигеназы гемоглобин в микросомах, с участием цитохрома P₄₅₀ окисляется. В результате реакции происходит разрыв метинового мостика между I и II пиррольными кольцами выделяется CO₂ и образуется вердоглобин- пигмент сине- красного цвета. Вердоглобин спонтанно распадается на белок — глобин, железо и биливердин. Биливердин восстанавливается в присутствии НАДФН₂.

Распад гемоглобина с образованием непрямого билирубина



1.



2.

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 диглукуронидов.
4. Экскреция в желчные капилляры, используя энергию АТФ.

Конъюгированный билирубин — диглукуронид — 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 глюкурони- дазой 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 геморроидальных 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.

В условиях патологии (заболевания печени, селезенки, костного мозга, заболевания крови, усиленный гемолиз) количество и соотношение между «прямым» и «непрямым» билирубином резко меняется, поэтому определение обеих форм билирубина в крови имеет огромное значение в клинике при дифференциальной диагностике различных форм желтух.

Желтуха — это синдром, характеризующийся высоким содержанием в крови общего билирубина (гипербилирубинемия), желтой окраской кожных покровов и слизистых. По этиопатогенезу различают:

- Надпеченочную желтуху (гемолитическую);
- Печеночную (паренхиматозную);
- Подпеченочную (обтурационную) желтуху.

1) Надпеченочная желтуха:

Причиной этого вида желтух является усиленный гемолиз эритроцитов, который приводит к интенсивному образованию в клетках РЭС (ретикуло-эндотелиальной системы) непрямого билирубина. Печень не в состоянии связать весь этот билирубин с глюкуроновой кислотой. В результате в крови и тканях накапливается непрямой билирубин. Так как через печень идет повышенный поток непрямого билирубина, то прямого билирубина образуется значительно больше.

Формируется так называемая «плекрохромная» желчь (насыщенная пигментами). Такая желчь поступает в тонкий и толстый кишечник, где продуктов деградации билирубина (уробилиногена, стеркобилиногена) образуется значительно больше. Кал приобретает более интенсивное окрашивание. В крови повышается концентрация общего билирубина за счет повышения непрямого билирубина (гипербилирубине-мия). Кал: повышение стеркобилиногена (темная окраска). В моче повышается содержание стеркобилиногена (стерко-билинурия!), уробилиногена.

2) Печеночная (паренхиматозная) желтуха.

Этот вид желтухи связан с повреждением печеночной клетки, ведущей к нарушению функции ее. Прежде всего нарушается экскреция прямого билирубина в желчные капилляры. Частично последний поступает в кровь, повышая концентрацию общего билирубина. Прямой билирубин способен проходить через почечный фильтр, поэтому в моче определяется билирубин. Снижение содержания прямого билирубина в желчи приводит к уменьшению образования стеркобилиногена. Поскольку в больной клетке нарушается процесс конъюгации свободного билирубина, увеличивается содержание и непрямого билирубина в крови.

Повреждение гепатоцитов ведет к печеночной недостаточности, что проявляется нарушением процессов деградации уробилиногена и он поступает в большой круг кровообращения и через почки выводится с мочой. В моче содержится два патологических компонента — прямой билирубин и уробилиноген.

Биохимические показатели:

Кровь: повышается содержание общего билирубина за счет повышения концентрации прямого билирубина и относительного повышения непрямого билирубина.

В моче появляются желчные пигменты — билирубин и уробилиноген. В кале содержание стеркобилиногена понижается (ахоличный).

3) Подпеченочная (обтурационная) желтуха.

При частичной или полной обтурации желчных протоков нарушается желчевыделение и компоненты желчи попадают в кровь, то есть увеличивается в крови содержание прямого билирубина, а значит, он появляется в моче. Так как желчь в меньшем количестве поступает в кишечник или совсем не поступает, резко уменьшается количество стеркобилиногена. При полной обтурации кал обесцвечивается.

В крови: медленно повышается концентрация общего билирубина за счет прямого билирубина (холестаз). Повышается концентрация желчных кислот.

Кал: резкое снижение уровня стеркобилиногена вплоть до полного отсутствия (ахоличный стул).

В моче определяются желчные пигменты, желчные кислоты.

Проявления обтурационной и паренхиматозной желтухи очень сходны. Критерием для дифференциального диагноза является наличие уробилиногена в моче при печеночной желтухе и отсутствие при обтурационной.

I. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Структурную организацию гемопротееидов (гемоглобина).
2. Функции гемопротееидов.
3. Где синтезируется гемоглобин.
4. Процесс усвоения экзогенного железа.
5. Источники эндогенного железа
6. Схему синтеза гема. Нарушения синтеза.
7. Роль макрофагов в процессах катаболизма гемоглобина.
8. Условия и ферменты окисления гема.
9. Промежуточные соединения катаболизма гема, их судьба.
10. Понятие «прямого» и «непрямого» билирубина.
11. Процессы обезвреживания непрямого билирубина.
12. Нормы концентрации билирубина прямого и непрямого в крови.
13. Как и из чего образуется билирубин?
14. Как и где обезвреживается билирубин?
15. Что такое желчные пигменты?
16. Что означает «прямая» реакция на билирубин и от чего она зависит?

Метаболиты, образующиеся из билирубина в тонком и толстом кишечнике

Этиопатогенезжелтух, классификация их.

1. Изменения биохимических показателей при различных видах желтух.
2. Значение определения уробилиногена в моче при диагностике печеночной желтухи.

Обучающийся 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.
11. Определить концентрацию «прямого» билирубина в исследуемой крови и интерпретировать полученные результаты.
12. Определить концентрацию «непрямого» билирубина.
13. Определить типы желтух в предложенных вариантах задач.
14. Дать схему классификации желтух, написать изменения биохимических показателей при различных типах желтух.

II. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Распад гемоглобина в тканях.
2. Образование прегепатического и гепатического билирубина.
3. Обезвреживание билирубина в тканях печени и роль глюкуро- ронилтрансферазы в этом процессе.
4. Судьба железа, образовавшегося в процессе деградации гемоглобина.
5. Дальнейшая судьба гепатического билирубина.
6. Желтухи, классификация.
7. Биохимические изменения при желтухах различной этиологии.
8. Врожденные формы желтухи, биохимические нарушения в обмене желчных пигментов

III. 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?
13. Нарушение обмена желчных пигментов при гепатитах. Пояснить синдром желтухи при этой патологии.
14. Как изменяются биохимические показатели при обтурации желчных протоков?
15. Что такое желтуха новорожденных?
16. Каковы причины надпеченочных желтух? Основные биохимические нарушения.
17. Назовите основные изменения в обмене желчных пигментов при постмикросомальной печеночной желтухе.

IV. 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 непрямо́й 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?
11. Каковы причины гипербилирубинемии?
12. Желтухи, их классификация.
13. Биохимические нарушения при надпеченочной желтухе.
14. Как изменяются биохимические показатели при печеночной желтухе?
15. Указать основные причины развития подпеченочной желтухи.
16. Назвать основные биохимические нарушения при обтурационной желтухе.

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.

Особенности синтеза и распада гемоглобина в детском возрасте.

Гемолитические желтухи новорожденных.

V. Самостоятельная работа обучающихся:

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

VI. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007

5. Ф.С. Дзугоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можаява, С.Г. Дзугоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Биохимия крови: органический и неорганический состав. Белки «острой фазы», их диагностическое значение.

Научно-методическое обоснование темы.

Кровь — жидкая ткань, осуществляющая в организме интеграцию биохимических процессов, протекающих в различных клетках, в единую систему. Интегративная функция крови реализуется благодаря транспорту химических веществ между различными органами и тканями. Кроме интегративной — кровь выполняет защитную, питательную, регуляторную, терморегуляторную, резервную и другие функции. Кровь является отражением функционального состояния органов и тканей. Химический состав крови отражает состояние обмена веществ в организме.

Кровь состоит из плазмы и взвешенных в ней форменных элементов — эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Объем крови у здоровых людей составляет в среднем у мужчин — 5200 мл и у женщин — 3900 мл. На долю плазмы приходится около 55-60% объема крови, эритроциты составляют 40-45%, лейкоциты и тромбоциты — 1% от общего объема. Плазма крови лишенная фибриногена — сыворотка крови.

Относительная плотность цельной крови составляет 1,050-1,064, плазмы крови — 1,024-1,03, клеток — 1,080-1,097.

Плазма крови состоит на 90-91% из воды и 9-10% сухого вещества, около 1% составляют минеральные вещества, остальное количество приходится на белки крови. В плазме крови содержится около 100 белков. Они выполняют множество разнообразных функций:

- придают крови вязкость;
- поддерживают онкотическое (коллоидно-осмотическое) давление и тем самым постоянный объем крови;
- принимают участие в свертывании крови,
- в поддержании постоянного рН крови, в регуляции кислотно-щелочного равновесия, составляют одну из важнейших буферных систем;
- выполняют транспортную функцию;
- играют роль в обеспечении иммунитета (в иммунной защите);
- служат резервом аминокислот

Содержание общего белка в плазме крови составляет 65-85 г/л. Он представлен альбуминами — 45-55 г/л, глобулинами — 20-30 г/л, фибриноген — 2-4 г/л. Альбумино/глобулиновый коэффициент составляет 1,7-2,3. Синтез белков плазмы крови осуществляется в клетках печени, в клетках РЭС. Белки различаются по молекулярному весу, заряду, изоэлектрической точке. По электрофоретической подвижности белки делятся на альбумины, α_2 , β и γ -глобулины.

Изменение концентрации белков приводит к:

Гиперпротеинемия — повышение количества белка (потеря организмом больших количеств воды при диарее, неукротимой рвоте, тяжелых травмах, обширных ожогах, холерном алгиде — это относительная гиперпротеинемия:

Абсолютная — обусловлена резким нарастанием иммуноглобулинов при острых инфекционных заболеваниях и увеличением концентрации БОФ.

Гипопротеинемия:

1. Задержка воды в организме (при сердечной декомпенсации, отеках на почве цирроза печени с асцитом); при ожоговой болезни, при кровопотере.
2. Потеря больших количеств белка может быть при нефритах или через ж.к.т.
3. Угнетение синтеза белков плазмы при поражениях печени, голодании, длительно текущих инфекционных заболеваниях.

Диспротеинемия — изменение соотношения между фракциями альбуминов и глобулинов.

Парапротеинемия — появление в сыворотке патологических (острофазных) белков.

Важнейшими белковыми компонентами плазмы крови являются:

Альбумины — обладают наибольшей электрофоретической подвижностью. Содержание в крови составляет 45-55 г/л. и составляет приблизительно половину всех циркулирующих белков.

Альбумины — низкомолекулярные белки, мол.масса их 6770 тыс. Да. Они гидрофильны. Это единственные белки не имеющие углеводного компонента, они гетерогенны в отношении содержания сульфгидрильных групп. По этому признаку делятся на меркаптоальбумины — фракция альбуминов, содержащая атом серы в своей структуре, и немаркаптоальбумины — фракция, не содержит атом серы. Выполняет основные функции: поддерживает онкотическое давление; служит богатым и быстро реализуемым резервом белка; выполняет транспортную функцию (транспортирует метаболиты: длинноцепочечные жирные кислоты, билирубин, различные гормоны, кальций, хлор-ионы, лекарственные вещества, в частности антибиотики, сульфаниламиды, рентгеноконтрастные вещества.

Наиболее ярким представителем α_1 -глобулинов является α_1 -антипротеазный ингибитор — в норме содержится 2,5-4,0 г/л. Ингибирует протеиназы — трипсин, химотрипсин, эластазу, коллагеназу, тромбин, плазмин, ренин и др. На долю его активности приходится 90-95% всей протеолитической активности. Концентрация этих белков увеличивается при воспалительных процессах, у беременных женщин и при ряде др. патологических состояниях.

К α_1 глобулиновой фракции относится также: α^1 фетопротеин — эмбриональный белок, синтезируется у плода в гепатоцитах, после рождения может быть обнаружен у ребенка в первые дни до года. В норме он отсутствует. Выявляется при затянувшейся желтухе новорожденных, у взрослых — при патологии печени, ее раке

α_1 -кислый гликопротеид — орозомукоид — кислый белок, содержит до 40% углеводного компонента. В крови его содержится 0,6-0,9 г/л. В норме ингибирует катепсин С, увеличивается его концентрация при острых воспалительных процессах и травмах.

α_2 -глобулиновая фракция включает:

Гаптоглобин — он связывает гемоглобин плазмы и предохраняет организм от потери железа, сохраняя его для синтеза гема, связывает железо с гемоглобином с образованием гемоглобин- гаптоглобинового комплекса, выполняет неспецифическую защитную функцию, является естественным ингибитором катепсина В, принимает участие в транспорте витамина B_{12} . Обладает пероксидазной активностью, благодаря чему оказывает бактерицидное действие. Гетерогенен по строению: существует 3 типа гаптоглобина Нр — 1-1, Нр — 2-1, Нр — 2-2. В норме его содержится 0,6-1,8 г/л.

Церулоплазмин относится к α_2 -глобулиновой фракции. В норме содержится 0,3-0,6 г/л. Это гликопротеид, медь оксидаза, один из основных регуляторов обмена меди в организме. 1 молекула церулоплазмينا содержит 6-8 атомов меди. Выполняет транспортную функцию: транспортирует медь, доставляет ее в печень. Обладает оксидазной активностью. Выполняет роль фермента. Принимает участие в окислении и обмене железа, биогенных аминов (адреналина, норадреналина, серотонина), аскорбиновой кислоты и др. веществ. Уменьшение содержания церулоплазмينا в крови отмечается у больных гепатолентикулярной дегенерацией (болезни Вильсона — Коновалова) отмечается накопление меди в нервной системе и печени.

α_2 - макроглобулин — регулирует активность тромбина и кининогена. Образуется в печени.

В плазме крови есть белок, способный связывать железо гема

— гемопексин и транспортировать вещества, содержащие геминую группу.

Трансферрин — его содержание в плазме составляет 2,0-3,2 г/л. β -глобулин. Легко образует с железом комплексное соединение, которое легко распадается. Он переводит железо плазмы в деионизованную форму и доставляет его в костный мозг, где железо используется для процесса кроветворения.

Основная часть β -глобулинов представлена в-липопротеидами. Содержание последних варьирует в пределах 2,5-8 г/л.

К α и β -глобулинам относятся белки свертывающей системы: протромбин — предшественник тромбина, проконвертин, антигемофильный глобулин — синтезируются в печени. Их синтез зависит от наличия витамина К.

γ - глобулиновая фракция представлена иммуноглобулинами

Все они обладают активностью антител, образующихся при контакте с антигенами вирусной, бактериальной и другой этиологии.

Различают 5 классов иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD.

Основу молекулярной структуры составляют 4 полипептидные цепи — 2 тяжелые (H-цепи) и 2 легкие (L-цепи) соединенные между собой тремя дисульфидными мостиками. Легкие цепи у всех классов Ig схожи и могут быть представлены 2 подклассами

— каппа и лямбда. Тяжелые цепи определяют специфичность Ig и различаются по аминокислотному составу и антигенной специфичности. Разделение Ig на классы осуществляется на основе различий их тяжелых цепей. Различают γ , α , μ , ϵ , δ (Строение).

IgG- составляют 70-75% общего количества Ig. Они несут антитела против большинства антигенов. IgG- иммуноглобулины вторичного ответа. Они активно транспортируются через плаценту, играют важную роль в защите новорожденного от инфекций. Молекулярная масса 160 000 да, содержание в крови 8-18 г/л.

IgM — иммуноглобулины первичного ответа — мощный активатор системы комплемента. К антителам этого класса относятся антитела Вассермана, ревматоидный фактор, холодовые агглютинины. Молекулярные массы — 960000, содержание в плазме 0, 6-2,8 г/л.

IgA — составляет 20% общей массы иммуноглобулинов плазмы и играет важную роль в формировании местного иммунитета и слизистых оболочек. Синтезируется в плазматических клетках, находится преимущественно в подслизистых тканях, на слизистой поверхности дыхательных путей и кишечного тракта, почти во всех экскреторных железах. Часть IgA попадает в кровоток, но большая часть остается на слизистых и служат защитным иммунным барьером. Молекулярная масса — 160000, концентрация — 0,9-4,5 г/л.

IgAs — обеспечивает иммунную защиту слизистых оболочек полости рта.

IgE — содержится в крови в очень низких количествах — 0, 0001- 0,0005 г/л. Однако значение для организма велико, с ним связана аллергическая реактивность, играет роль пускового механизма аллергических реакций немедленного типа.

Существует и такая группа белков, которые получили название «*белков острой фазы*». Белки этой группы в норме содержатся в крови в очень маленьких количествах или вообще отсутствуют (не определяются), а при остром воспалительном процессе или обострении хронического появляются в плазме в виде вновь синтезированных белков (это С-реактивный белок, криоглобулин, α_1 гликопротеид (орозомукоид), α_1 -антипротеазный ингибитор, гаптоглобин, гемопексин, церулоплазмин и др.).

Белки этой группы в норме содержатся в крови в очень маленьких количествах или вообще отсутствуют (не определяются), а при остром воспалительном процессе или обострении хронического появляются в плазме в виде вновь синтезированных белков.

Воспалительный процесс в организме человека состоит из двух слагаемых, связанных друг с другом, и определяющих его течение:

Это локальная реакция тканей, обусловленная высвобождением медиаторов воспаления, лизосомальных ферментов и простагландина, что ведет к микроциркуляторным нарушениям, экссудации, инфильтрации лейкоцитами, иммунной реакцией и репаративным процессам. И общая реакция организма, выражающаяся в появлении боли, лихорадки, лейкоцитоза и увеличении концентрации гликопротеидов в плазме крови (БОФ).

Ранний воспалительный ответ на повреждение ткани включает образование медиаторов воспаления (биогенных аминов — гистамина, серотонина, кининов). Это вызывает вазодилатацию, повышается проницаемость стенки сосудов, отмечается гиперемия и отек, наблюдается экссудация лейкоцитов, освобождение ферментов из лизосом лейкоцитов: эластазы и коллагеназы, что обеспечивает повреждение ткани. Повреждение лизосом клеток или выход их содержимого из лейкоцитов при фагоцитозе является пусковым звеном для синтеза БОФ. Они начинают синтезироваться к концу 3-го часа после повреждения. Появление первых порций БОФ в плазме может быть отмечено в конце пятого, начале шестого часа после повреждения. Максимум синтеза лежит в промежутке между 12 и 48 часами. Нарботка больших количеств матриц для синтеза белков острой фазы в гепатоцитах ведет к дефициту факторов биосинтеза белка и белкосинтетических структур клетки. Клетки печени уменьшают синтез обычных для них белков, в результате уровень альбумина и других белков плазмы крови, не относящихся к БОФ, снижается.

С-реактивный белок—0,1 г/л. В норме его нет. С-реактивный белок — это интегральный тест биологической функции воспаления. Название связано со свойством вступать в реакцию преципитации с С-полисахаридом пневмококка. Участвует в активировании комплемента и вместе с его компонентами ответственен за образование амилоидного белка и его отложение в сосудистой мембране. Концентрация С-реактивного белка увеличивается при бактериальных инфекциях, при диффузных заболеваниях соединительной ткани (ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилоартрит, системная красная волчанка, ревматическом полиартрите; при деструкции ткани — перитоните, травмах, хирургических вмешательствах).

Криоглобулин — в норме его нет. появляется при патологии, он способен выпадать в осадок или желатинизироваться при температуре ниже 37 °С. Может быть обнаружен в сыворотке при миеломе, нефрозе, циррозе печени, ревматизме, лимфосаркоме, лейкозах и др. заболевания.

Фибриноген — белок плазмы, способный под действием тромбина превращаться в нерастворимый фибрин. Концентрация его повышается свыше 4 г/л при инфекционных процессах (СОЭ повышено), при неоплазиях, послеоперационном периоде, после травм, участвует в образовании тромба и остановке кровотечения.

К белковым веществам, содержащимся в плазме крови, которые имеют большое диагностическое значение, относятся ферменты плазмы крови.

Они делятся на три большие группы:

- секреторные,
- экскреторные
- индикаторные

Секреторные — синтезируются в печени, в норме выделяются в плазму крови (сывороточная холинэстераза, ферменты, участвующие в процессе свертывания крови)

Экскреторные — синтезируются главным образом в печени (щелочная фосфатаза, лейцинаминопептидаза и др) и выделяются с желчью в кишечник

Наибольший интерес в диагностике заболеваний представляют *индикаторные (органоспецифичные)* ферменты. В норме их концентрация в крови невелика, а повышается при заболеваниях того или иного органа. Причиной повышения может быть: увеличенная проницаемость мембраны клеток; вирусные или бактериальные начала (путем цитолиза повреждается клеточная мембрана); токсические начала; действие лекарственных веществ. К ним относятся: аминотрансферазы (АлАТ, АсАТ), ЛДГ, креатин- фосфокиназа, щелочная фосфатаза и другие.

Так, при рахите в сыворотке крови увеличивается активность фермента щелочной фосфатазы, при поражении поджелудочной железы — амилазы, при инфаркте миокарда — креатинкиназы (изофермент МВ), АсАТ, ЛДГ, при заболеваниях скелетных мышц

— креатинкиназы (изофермент ММ). При раке предстательной железы увеличивается в сыворотке крови активность кислой фос- фатазы, при поражении слюнных желез — амилазы, при заболеваниях печени — АлАТ, ЛДГ₅, орнитинкарбоамилтрансферазы и др., при патологии почек — глицинамидиотрансферазы.

Большую группу в крови составляют небелковые азотсодержащие вещества. Содержание небелкового азота в цельной крови и плазме почти одинаково и составляет в крови 15-25 ммоль/л. Небелковый азот крови включает азот мочевины (50% от общего количества небелкового азота), аминокислот (25%), эрготионина (8%), мочевой кислоты (4%), креатина (5%), креатинина (2,5%), аммиака и индикана (0,5%) и других небелковых веществ, содержащих азот (полипептиды, нуклеотиды, нуклеозиды, глутатион, билирубин, холин, гистамин и др.). Таким образом, в состав небелкового азота крови входит главным образом азот конечных продуктов обмена простых и сложных белков.

Небелковый азот крови называют также *остаточным азотом*. У здорового человека колебания в содержании небелкового, или остаточного азота крови незначительны и в основном зависят от количества поступающих с пищей белков. При ряде патологических состояний уровень небелкового азота в крови повышается. Это состояние носит название *азотемии*. Азотемия в зависимости от причин, вызвавших ее, подразделяется на *ретенционную и продукционную*.

Ретенционная азотемия наступает в результате недостаточного выделения с мочой азотсодержащих продуктов при нормальном поступлении их в кровяное русло. Она в свою очередь может быть почечной и внепочечной. При почечной ретенционной азотемии концентрация остаточного азота в крови увеличивается вследствие ослабления очистительной (экскреторной) функции почек. Резкое повышение содержания остаточного азота при ретенционной почечной азотемии происходит в основном за счет мочевины. В этих случаях на азот мочевины приходится 90% небелкового азота крови, вместо 50% в норме. Внепочечная ретенционная азотемия может возникнуть в результате тяжелой недостаточности кровообращения, снижения артериального давления и уменьшения почечного кровотока. Нередко внепочечная ретенционная азотемия является результатом наличия препятствия оттоку мочи после ее образования в почке.

Продукционная азотемия наблюдается при избыточном поступлении азотсодержащих продуктов в кровь, как следствие усиленного распада тканевых белков. Нередко наблюдаются азотемии смешанного типа.

Значительное количество в плазме крови содержится мочевины, мочевина в 18 раз менее токсична, чем остальные азотистые вещества. При острой почечной недостаточности концентрация мочевины в крови достигает 50-83 ммоль/л (норма 3,3-6,6 ммоль/л). Нарастание содержания мочевины в крови до 16,6-20,0 ммоль/л (в расчете на азот мочевины) является признаком нарушения функции почек средней тяжести, до 33,3 ммоль/л — тяжелым и свыше 50 ммоль/л — очень тяжелым нарушением с неблагоприятным прогнозом.

К важным безбелковым азотистым веществам крови относится также мочевая кислота. В норме концентрация мочевой кислоты в цельной крови составляет 0,18-0,24 ммоль/л (в сыворотке крови — около 0,29 ммоль/л). Повышение содержания мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) — главный симптом подагры. При подагре уровень мочевой кислоты в сыворотке крови возрастает до 0,47-0,89 ммоль/л и даже до 1,1 ммоль/л.

В состав остаточного азота входит также азот аминокислот и полипептидов.

Различные заболевания сопровождаются изменением содержания в крови тех или иных веществ. Изучение нормальных показателей крови является основой для правильной постановки диагноза при различных патологических состояниях, установления прогноза болезни и оценки эффективности проводимого лечения.

Среди макроэлементов особого внимания заслуживает исследование содержания натрия и калия в плазме крови.

натрий — основной внеклеточный катион, это основной осмотически активный ион. В плазме крови его концентрация колеблется от 132 до 150 ммоль/л.

Гипонатриемия — уменьшение концентрации натрия ниже 134 ммоль/л — обуславливает симптомокомплекс, характеризующийся появлением апатии, потерей аппетита, тошнотой, рвотой, нарушением рефлексов, тахикардией, анурией, гипотензией, психозами.

Различают абсолютную и относительную гипонатриемию:

Абсолютная, или синдром солевой недостаточности, возникает при уменьшении поступления натрия в организм и потере натрия через желудочно-кишечный тракт, с мочой, кровью, большим количеством удаляемой асцитической или отечной жидкости; гипернатриурия наблюдается у больных, страдающих первичным и вторичным гипокортицизмом, гипоальдостеронизмом, нефропатиями с потерей солей. Она может быть результатом депонирования натрия в так называемом «третьем пространстве» (при массивном выпоте в плевру, быстром развитии асцита, отеков). К снижению содержания натрия приводят и связанные с глубокими метаболическими нарушениями синдром «усталости клеток» при котором истощается мембранный натриевый насос и ионы натрия по градиенту концентрации направляются внутрь клетки.

Относительная гипонатриемия формируется при введении в организм жидкостей, не содержащих электролиты, что способствует разведению. К относительной гипонатриемии приводит и синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона.

Гипернатриемия — увеличение концентрации ионов натрия выше 169 ммоль/л — сопровождается тяжелым общим состоянием больных, повышением температуры тела, тахикардией.

Абсолютная гипернатриемия может быть обусловлена задержкой ионов электролита в плазме крови у больных с повышенной функцией коры надпочечников (при гиперальдостеронизме, синдроме и болезни Иценко-Кушинга), усилением выделения натрия из тканей в плазму в процессе активации метаболизма у лиц, страдающих гнойно-септическими заболеваниями, судорогами, лихорадкой; при избыточной терапии солевыми растворами.

Относительная гипернатриемия вызывается повышенной потерей воды через кожу (профузный пот), легкие (длительная гипервентиляция), желудочно-кишечный тракт (тяжелая рвота), почки (полиурические состояния)

калий — основной внутриклеточный катион, концентрация его в плазме крови колеблется от 3,8 до 5,4 ммоль/л

Гипокалиемия — уменьшение концентрации калия в плазме крови ниже 3,5 ммоль/л — приводит к тяжелым нарушениям в организме человека. Основные клинические симптомы гипокалиемии: общая мышечная слабость, легкое утомление, тахикардия, экстрасистолия. Гипокалиемия отмечается при недостаточном приеме калия с пищей, хроническом голодании, длительном, в больших количествах введении растворов с недостаточным содержанием этого иона; усиленном выделении калия с мочой — под влиянием диуретиков, при канальцевом ацидозе, недостаточности функции почечных канальцев и т.д.

Гиперкалиемия — увеличение концентрации калия в плазме крови выше 5,6 ммоль/л. Сопровождается ощущением «ползания мурашек», исчезновением сухожильных рефлексов, «одревенением» конечностей, параличом дыхательных мышц, сердечными симптомами: тахи- и брадикардией, часто аритмиями.

кальцию принадлежит весьма важная роль в осуществлении процессов жизнедеятельности. Он влияет на проницаемость биологических мембран, возбудимость нервов и мышц, участвует в нервно-мышечной передаче, сокращении и расслаблении мускулатуры, формировании кости и хряща, воздействует на обмен веществ в клетках, секрецию гормонов, секреторную деятельность желудка, является важным фактором свертывания крови. Уровень кальция в плазме крови зависит от:

количества кальция поступающего в организм;

величины экскреции;

состояния процессов обмена кальция между кровью и костной тканью.

В норме концентрация общего кальция в плазме колеблется в пределах: 2,25-2,75 ммоль/л (эритроциты содержат — около 0,5 ммоль/л Ca^{2+} , лейкоциты — около 2,5 ммоль/л). Большая часть кальция (44-46%) связана с белками плазмы, преимущественно с альбумином.

Содержащийся в сыворотке крови кальций по своему составу неоднороден:

связанный с белками (преимущественно альбумином): коллоидальный, недиффундирующий, составляющий около 0,9 ммоль/л;

диализирующийся кальций — 1,6 ммоль/л. В его состав входит ионизированный и связанный с гидрокарбонатом, цитратом и другими анионами;

Наибольшее физиологическое значение имеет ионизированный кальций, составляющий 50% всего количества кальция крови.

Гиперкальциемия бывает физиологической и патологической.

Физиологическая гиперкальциемия имеет место у новорожденных (после 4-го дня жизни), у недоношенных, а также у некоторых лиц после принятия пищи.

В патологических условиях гиперкальциемия наблюдается при гиперпаратиреозе (до 7,25 ммоль/л) вследствие мобилизации ионов кальция и фосфата из костей; стимулировании реабсорбции кальция и торможении обратного всасывания фосфат-ионов клетками канальцевого эпителия почек.

Гипокальциемия отмечается гораздо чаще, чем гиперкальциемия. Особенно большое значение имеет в детском возрасте гипокальциемия при спазмофилии (тетании). При явной спазмофилии уровень кальция в крови падает до 1,5 ммоль/л и ниже. При скрытой форме заболевания он варьирует в пределах 1,5-2,0 ммоль/л. Гипокальциемией сопровождаются и некоторые заболевания почек, особенно хронические. Она возникает при хронической почечной недостаточности, поражении проксимальных и дистальных канальцев почек, циррозе печени, цистинозе, лепре, остеомаляции.

магний — электролит, метаболизм которого тесно связан с обменом кальция. Общее содержание магния в организме взрослого человека 20-30 г, 1/3 из которого сосредоточена в костях, зубах, 1/5 — в мышцах. Магний поступает в организм человека с растительной пищей, мясными продуктами. Много его в бананах, апельсинах, шоколаде, миндале. Подобно калию магний является внутриклеточным катионом.

Среди заболеваний, сопровождающихся снижением уровня магния в крови различают:

желудочно-кишечные (потребление пищи с низким уровнем белка, длительная диарея, синдром нарушенного всасывания магния в кишечнике, опухоли кишечника); сердечно-сосудистые; почечные;

эндокринные расстройства.

Клиническая симптоматика *гипомагниемии* (проявляется при концентрации магния 0,5 ммоль/л и менее) — мышечные подергивания, судороги, конвульсии и психические расстройства

Гипермагниемия обуславливает сонливость, которая снимается введением ионов кальция. При повышенном (более 1,2 ммоль/л) содержании ионов магния в крови могут наступить угнетение дыхательного центра, кома, нарушение проводимости миокарда, блокада и остановка сердца. Гипермагниемия наблюдается при острой и хронической почечной недостаточности, анурии, уремии, гипотиреозе.

Хлорид-ион — главный внеклеточный анион. Хлор находится в организме в ионизированной форме: в виде анионов солей натрия, калия, кальция, магния. Хлориды выводятся из организма в основном (почти на 90%) с мочой, а также с

потом и калом. *Гипохлоремия* развивается при уменьшении концентрации ионов хлора в плазме ниже 95 ммоль/л. Она встречается при формах обезвоживания, связанных с избыточным потоотделением, часто повторяющимися поносами, длительной рвотой.

Гиперхлоремия (относительная и абсолютная) возникает при концентрации хлорид-ионов в плазме свыше 105 ммоль/л и тесно связана с гипернатриемией. Она возникает при обезвоживании, вызванном недостаточным поступлением жидкости, нарушением депурационной способности почек.

Неорганический фосфор плазмы (сыворотки) крови представляет собой из компонентов кислоторастворимой фракции фосфора, включающей в себя также пирофосфаты (АТФ, АДФ и др.), гексозо-, глицерофосфаты и т.д. Кислоторастворимый фосфор вместе с кислотонерастворимым (фосфор нуклеопротеинов и липидов) образует так называемый общий фосфор плазмы крови. Концентрация неорганического фосфора в сыворотке крови во многом зависит от функции парашитовидных, щитовидных желез, влияние на его обмен витамина D, функции почек.

Гиперфосфатемия встречается при почечной недостаточности, гипопаратиреозе, акромегалии, сахарном диабете, кетозе, приеме больших доз витамина D, УФ-облучении, спазмофилии. Гиперфосфатемия свойственна периоду заживления костных переломов (благоприятный признак). Мышечная работа сопровождается повышением содержания неорганического фосфора в результате расщепления органических фосфорных соединений (АТФ, креатинфосфат).

Гипофосфатемия в детском возрасте наблюдается при рахите. Важно отметить, что снижение уровня неорганического фосфора в сыворотке крови отмечается в ранней стадии рахита (0,19-0,97 ммоль/л), когда клинические симптомы ещё недостаточно выражены.

Запасы железа в организме сосредоточены в депонирующих органах, где оно накапливается в виде железосодержащего белка ферритина, а также в виде гемосидерина. Ферритин представляет собой универсальный депонирующий железо белок, присутствующий во всех клетках и тканях организма. Концентрация ферритина 1 мкг/л соответствует содержанию 8 мг резервного (запасного) железа в организме.

Снижение содержания ферритина сыворотки отмечается при:

железодефицитных состояниях и заболеваниях, связанных с нарушением метаболизма железа, анемиях, сопровождающих беременность.

Повышение содержания ферритина сыворотки наблюдается: 1) вследствие перераспределения фондов железа при: заболеваниях, связанных с нарушением кровообращения: инсультах, инфаркте миокарда;

острых и хронических заболеваниях, связанных с поражением печеночных клеток: гепатитах, циррозах различной этиологии, алкогольных поражениях печени;

системной красной волчанке, ревматоидном полиартрите; онкологических заболеваниях: раке молочной железы, лимфогранулематозе и др.

вследствие некротических и некробиотических процессов; железо — один из важнейших олигоэлементов, в плазме крови его концентрация составляет в среднем 0,02 ммоль/л.

Снижение количества железа в организме и плазме крови может быть вызвано:

недостаточным поступлением с пищей, например при длительном молочно-растительном питании;

плохим усвоением в желудочно-кишечном тракте: при анацидных и гипоацидных гастритах, резекции желудка и кишечника, при глистных инвазиях;

усиленной утилизацией органами и тканями: при беременности, быстром росте организма, повышенной физической активности;

потерей железа: при кровотечениях, дисфункциональных маточных кровотечениях, фибромиомах, вследствие активации клеточных элементов системы фагоцитирующих мононуклеаров;

временным перераспределением железа в организме: при системных заболеваниях соединительной ткани; злокачественных новообразованиях;

Дефицит железа может быть:

скрытым — характеризуется уменьшением содержания или отсутствием резервного железа, нормальным уровнем гемоглобина и железа в какой-то промежуток времени;

относительным, обусловленным перераспределением железа при воспалительных процессах, инфекционных заболеваниях, некрозах и опухолях;

абсолютным, характеризующимся отсутствием резервного железа, снижением уровня сывороточного железа, гипогемоглобинемией;

Содержание сывороточного железа крови значительно уменьшено при железодефицитной анемии.

Медь содержится как в эритроцитах, так и в плазме крови. Около 90% меди плазмы входит в состав церулоплазмينا (Cu- альфа-2-глобулинового комплекса), незначительная часть ионов меди находится в свободном состоянии. Медь играет важную биологическую роль, так как является составной частью ряда ферментов, участвуя в обмене витаминов, гормонов, белков, углеводов, а также в некоторых иммунных процессах.

Возрастание концентрации меди (а также церулоплазмينا) отмечается при состояниях, связанных с распадом клеточных элементов: пернициозной, мегалобластической и апластической анемии, осложнениях гемодиализа, большой

и малой талассемии, лейкозах, лимфогранулематозе, злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта.

Снижение содержания меди и активности церулоплазмينا в плазме (сыворотке) крови отмечается при болезни Вильсона- Коновалова (гепатолентикулярной дегенерации), нефротическом синдроме, ожогах, хронической ишемической болезни сердца и некоторых железодефицитных анемиях.

II. Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Кровь, ее функции. Белковый спектр плазмы крови. Белки «острой фазы» и их клиническое значение.
2. Ферменты крови и их клиническое значение для диагностики заболеваний.
3. Важнейшие азотсодержащие соединения. Остаточный азот: азотемия.
4. Электролитный состав плазмы крови.
5. Понятие о «макро» и «микроэлементах»

Обучающийся должен уметь:

1. Провести пробу Вельтмана на коллоидоустойчивость.
2. Определить содержание кальция в крови

III. Содержание обучения

Основные вопросы:

1. Характеристика основных белковых фракций плазмы крови: альбуминов, глобулинов, фибриногена.
2. Гиперпротеинемия и гипопропротеинемия.
3. Плазменные липопротеиды и гликопротеиды
4. Иммуноглобулины, их классы, структура, синтез и роль в иммунитете.
5. Небелковые азотистые компоненты крови. Остаточный азот крови. Азотемия ретенционная и продукционная.
6. Безазотистые органические компоненты крови.
7. Минеральный состав плазмы крови — электролиты.
8. Макроэлементы — представители, концентрация в плазме крови, биологическая роль, нарушения концентрации
9. Микроэлементы — представители, концентрация в плазме крови, биологическая роль, нарушения концентрации

Наглядные пособия:

Таблицы

1. Важнейшие органические части крови, плазмы и эритроцитов человека
2. Важнейшие биохимические показатели крови и сыворотки.
3. Белки плазмы. Диспротеинемия
4. Механизм внутрисосудистого свертывания
5. Схема фибринолиза
6. Схема свертывания крови
7. Структура Ig G
8. Показатели нарушения кислотно-основного баланса
9. Лабораторные показатели гипо-и гиперкоагуляции
10. Гемолитическая болезнь
11. Важнейшие биохимические показатели крови и сыворотки

IV. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Кровь как основная соединительная ткань организма человека, функции, состав.
2. Основные белковые фракции крови: альбумины, глобулины, фибриноген, характеристика.
3. Альбумины, строение, концентрация в плазме крови, биологическая роль
4. Глобулины плазмы крови, представители, характеристика, биологическая роль.
5. Иммуноглобулины, синтез, строение, классы, биологическая роль.
6. Белки «острой фазы», представители, синтез, биологическая роль.
7. Гиперпротеинемия, виды, причины развития.
8. Гипопропротеинемия, виды, причины развития.
9. Диспротеинемия, причины развития.
10. Парапротеинемия, причины развития.
11. Небелковые азотсодержащие компоненты крови.
12. Понятие об «остаточном азоте» крови.
13. Что такое «азотемия», виды, причины развития.
14. Понятие о ретенционной и продукционной азотемии.
15. Безазотистые органические компоненты крови.
16. Минеральный состав плазмы крови — электролиты.
17. Понятие о макроэлементах плазмы крови.

18. Кальций, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гиперкальциемия, причины развития.
19. Натрий — как основной внеклеточный элемент плазмы крови, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гипернатриемия, причины развития.
20. Калий — как основной внутриклеточный ион, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гиперкалиемия, причины развития.
21. Магний, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гипермагниемия, причины развития.
22. Железо, его содержание в плазме крови, биологическая роль.
23. Важнейшие микроэлементы плазмы крови. Их биологическое значение.

V. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Назовите концентрацию основных электролитов в плазме крови.
2. Перечислите основные макроэлементы, содержащиеся в плазме крови и их концентрацию.
3. Перечислите микроэлементы, содержащиеся в плазме крови и их концентрацию.
4. Охарактеризуйте биологическую роль кальция, его концентрацию в плазме крови.
5. Какова роль калия в организме человека, его концентрация в плазме крови.
6. Охарактеризуйте биологическую роль натрия, как основного внеклеточного иона, его концентрацию в плазме крови.
7. В чем заключается биологическая роль магния, его концентрация в плазме крови.
8. Перечислите основные микроэлементы плазмы крови, их концентрация, охарактеризуйте их биологическую роль.

ТЕСТОВЫЙ КОНТРОЛЬ:

Вопрос 1. Соотнесите реакции и процессы, протекающие в крови с ее функциями.

1. Доставка пищевых веществ из кишечника в печень	А. Дыхательная
2. Доставка лактата из мышц в печень	Б. Буферная (кислотно-щелочной баланс)
3. Доставка глюкозы и кетоновых тел в мышцы	В. Трофическая
4. Перенос O ₂ из легких в ткани, а CO ₂ из тканей в легкие.	Г. Детоксицирующая.
5. Обратимое связывание H ⁺ гидрокарбонатами: H ₂ CO ₃ + H ⁺ HCO ₃ ⁻ + H ⁺ фосфатами: H ₂ PO ₄ ⁻ + H ⁺ HPO ₄ ²⁻ + H ⁺ Hb: HНв ~ Нв- + H ⁺ ННЬО ₂ ~ НЬО ₂ и другими белками.	Д. Обеспечение коллоидно-осмотического давления.
6. Связывание H ₂ O в сосудистом русле альбуминами и № ⁺ , в эритроцитах — Нв и К ⁺ .	Е. Выделительная
7. Доставка мочевины из печени в почки.	Ж. Защитная, иммунная
8. Выделение билирубина с желчью в кишечник.	З. Гемостатическая.
9. Связывание эндогенных и экзогенных токсичных соединений с альбуминами	И. Терморегуляционная
10. Осуществление фагоцитоза, действие Ig и лизоцима	К. Регуляторная (гормоноидная) коммуникативная
11. Свертывание крови, образование фибрина — основы тромба	
12. Доставка тепла от внутренних органов к легким и коже.	

13. Доставка гормонов, тканевых гормонов, биологически активных веществ (гепарин, кинины) к органам-мишеням.	
14. Связывание — инактивация гормонов, тканевых гормонов, биологически активных веществ белками плазмы.	

Ответ: 1-В, 2-В, 3-В, 4-А, 5-Б, 6-Д, 7-Е, 8-Е, 9-Г, 10-Ж, 11-З, 12-И, 13-К, 14-К.

Вопрос 2. Содержание общего белка в плазме составляет (г/л):

1. 30-40. 2. 40-60. 3. 65-85. 4. 80-120.

Ответ: 3.

Вопрос 3. Указать соотношение между альбуминами и глобулинами.

1. А/Г = 1,0. 4. А/Г = 1,2 — 2,0.
2. А/Г = 0,5 — 0,8. 5. А/Г = 1,7 — 2,3
3. А/Г = 0,8 — 1,2.

Ответ: 5.

Вопрос 4. Укажите места синтеза белковых фракций плазмы.

1. Альбумины. А. Печень.
2. Альфа-1-глобулины. Б. Кишечник.
3. Альфа-2-глобулины. В. Легкие.
4. Бета-глобулины. Г. Клетки лимфоидной ткани.
5. Гамма-глобулины.
6. Фибриноген.

Ответ: 1-А, 2-А, 3-А, 4-А, 4-Г, 5-Г, 6-А.

Вопрос 5. Гипоальбуминемия возникает при:

1. Голодании.
2. Поражении печени.
3. Поражении почек.
4. Неполюценном белковом питании.
5. Нарушении усвояемости белка.
6. Верно 2,3.
7. Все верно.

Ответ: 7.

Вопрос 6. при поражении печени в крови выявляется: (указать неверное положение).

1. Гипоальбуминемия.
2. Снижение содержания мочевины.
3. Гипераммониемия.
4. Увеличение концентрации непрямого билирубина.
5. Увеличение концентрации прямого билирубина.
6. Гипоглюкоземия.
7. Повышение содержания общего белка.

Ответ: 7.

Вопрос 7. микроэлементам подобрать транспортные белки и указать их место во фракции белков плазмы.

- | | | |
|------------|-------------------------------|------------------|
| 1. Железо. | А. Тироксин-перносящий белок. | И. Альбумины |
| 2. Медь. | Б. Транскортин. | II. а глобулины |
| | В. Альбумин. | III. а глобулины |
| | Г. Церулоплазмин. | IV. b глобулины |
| | Д. Липопротеин. | V. g глобулины |
| | Е. Гаптоглобин. | |

Ж. Трансферрин.

3. Макроглобулин. *Ответ:* 1-Ж-IV, 2-В-1, 2-Г-Ш.

Вопрос 8. 50% остаточного азота крови составляет азот:

1. Аминокислот
2. Креатина.
3. Мочевины.
4. Мочевой кислоты.
5. Билирубина.
6. Белка. *Ответ:* 3.

Вопрос 9. Содержание мочевины в крови здоровых людей составляет (ммоль/л):

- 1) 3,0-8,3. 2) 7,0-14,0. 3) 2,0-6,5. 4) 5,0-10,0.

Ответ: 1.

Вопрос 10. Содержание мочевины в крови снижается при:

1. Поражении почек.
2. Поражении легких.
3. Поражении печени.
4. Верно 1,3,5.
5. Все верно.

Ответ: 3.

Вопрос 11. Содержание мочевины в крови повышается при:

1. Поражении печени.
2. Поражении почек.
3. Усиленном распаде белка.
4. Сахарном диабете.
5. Тиреотоксикозе.
6. Верно 1,2,3.
7. Верно 2,3,4,5.

Ответ: 7.

Вопрос 12. Соотнести транспортные формы липопротеинов, содержащих наибольшее количество холестерина, с фракциями белка плазмы, с которыми они совпадают при электрофорезе.

1. ХМ А. Альбумины.
2. ЛОНП Б. α-глобулины.
3. ЛНП В. Р-глобулины.
4. ЛВП Г. γ-глобулины.

Д. Фибриноген.

Ответ: 3-В, 4-Б.

Вопрос 13. Соотнести величины содержания глюкозы в крови с соответствующими состояниями (ммоль/л).

1. Сахарный диабет (явные проявления). А. < 3,0.
2. Сахарный диабет (скрытая форма). Б. 3,0 — 6,0.
3. Несахарный диабет. В. > 7,0.
4. Опухоль мозгового вещества надпочечников
5. (феохромоцитома).
6. Гиперфункция коры надпочечников (болезнь Иценко — Кушинга).
7. Гипофункция «коры» надпочечников (Аддисонова Болезнь, бронзовая болезнь).
8. Гипофункция щитовидной железы.
9. Гипертиреоз.
10. Сильное нервное возбуждение.
11. Опухоль бета — клеток островков Лангерганса (Инсулинома).
12. Поражение паренхимы печени.

Ответ: 1-В, 2-Б, 3-Б, 4 -В, 5-В, 6-А, 7-А, 8-Б, 9-В, 10-А, 11-А.

Вопрос 14. Содержание креатинина в крови повышается при:

1. Голодании.
2. Усиленной мышечной работе.
3. Недостаточности функции почек.

4. Все верно.

Ответ: 4.

Вопрос 15. при поражении почек:

1. Содержание мочевины и креатина в крови. А. Повышается.
2. Выделение мочевины и креатина с мочой. Б. Не изменяется.
В. Снижается.

Ответ: 1-А, 2-В.

Вопрос 16 к белковым ингибиторам протеиназ, содержащимся в сыворотке (сывороточные белковые ингибиторы) относятся:

1. Трансферрин.
2. Церулоплазмин.
3. Альфа — 1 — антитрипсин.
4. Альфа — 1 — антихимотрипсин.
5. Альфа — 2 — макроглобулин.
6. Верно 3, 4, 5.
7. Все верно

Ответ: 6.

Вопрос 17. Сывороточные белковые ингибиторы протеиназ выполняют функции:

1. Связывают протеиназы и защищают белки плазмы от гидролиза.
2. Регулируют свертывание крови.
3. Регулирует фибринолиз.
4. Верно 2,3.
5. Все верно.

Ответ: 5.

Вопрос 18. Содержание сывороточных белковых ингибиторов протеиназ при воспалительных заболеваниях:

1. Повышается.
2. Не изменяется.
3. Снижается.

Ответ: 1.

Вопрос 19. Коэффициент Де Ритиса — это:

1. АсАТ+АлАТ.
2. АсАТ / АлАТ
3. АлАТ / АсАТ
4. ЛДГ_{1,2}/ЛДГ_{4,5}

Ответ: 2

вопрос 20. Соотнести повышение в крови активности ферментов и изменение величины коэффициента Де ритиса с соответствующими патологическими состояниями:

- | | | | |
|-----|------------------------------|-----|--|
| 1. | Альфа-амилаза | 13. | Щелочная фосфатаза. |
| 2. | АлАТ. | А. | Поражение сердца (инфаркт миокарда). |
| 3. | АсАТ. | Б. | Поражение печени (гепатит). |
| 4. | Гистадаза. | В. | Поражение поджелудочной железы (панкреатит). |
| 5. | К Де Ритиса > 1,5 | Г. | Поражение костной ткани (остеопрроз, рахит). |
| 6. | К Де Ритиса < 0,7 | Д. | Поражение нервной системы. |
| 7. | Креатинфосфокиназа (КФК) МВ. | | |
| 8. | КФК ВВ. | | |
| 9. | ЛДГ _Г | | |
| 10. | ЛДГ ₅ | | |
| 11. | Липаза. | | |
| 12. | Трипсин. | | |

1-В, 2-Б, 3-А, 3-Б, 4-Б, 5-А, 6-Б, 7-А, 8-Д, 9-А, 10-Б, 11-В, 12-В, 13-Г.

Вопрос 21. указать закономерность изменения в крови следующих биохимических показателей при поражении костной ткани:

1. Содержание кальция. А.Повышается.
2. Содержание фосфатов. Б. Не изменяется.
3. Активность щелочной фосфатазы. В. Снижается
4. Содержание о — про.
5. Содержание глу.
6. Содержание о — Лиз.

Ответ: 1-В, 2 -В, 3-А, 4-А, 5-Б, 6-А.

вопрос 22. указать белок плазмы, отсутствующий у здоровых обследуемых.

1. Трансферрин.
2. Церулоплазмин.
3. Фибриноген.
4. Альфа-1-антитрипсин.
5. Альфа-2-макроглобулин.
6. С – реактивный белок (СРБ)

Ответ: 6.

Вопрос 24. Указать следующие патологических со-

закономерность изменения С-реактивного белка при стояниях:

- | | |
|----------------------------|----------------|
| 1. Инфаркт миокарда | А. Повышается. |
| 2. Стенокардия. | Б. Отсутствует |
| 3. Острые инфекции. | В. Снижается. |
| 4. Острая фаза ревматизма. | |
| 5. Крупозная пневмония. | |

Ответ: 1-А, 2- Б, 3-А, 4- А, 5-А.

VIII. Вопросы для самостоятельного изучения

1. Белки «острой фазы» (С-реактивный белок, интерферон), их характеристика, определение с целью диагностики
2. Отдельные белки плазмы крови (гаптоглобин, ингибиторы трипсина, трансферрин, церулоплазмин, криоглобулин), их характеристика и биологическая роль.
3. Йод, его биологическая роль. Роль снижения концентрации йода в развитии гормональных нарушений.

IX. Список используемой литературы:

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Биохимия иммунитета.

Иммунитет, способность организма человека и животных специфически реагировать на присутствие в нем какого-то вещества, обычно чужеродного. Эта реакция на чужеродные вещества обеспечивает сопротивляемость организма, а потому чрезвычайно важна для его выживания. В основе реакции лежит синтез специальных белков, т.н. антител, способных вступать в соединения с чужеродными веществами – антигенами. Наука, изучающая механизмы иммунитета, называется иммунологией.

В прошлом термин «иммунитет» относился лишь к реакциям, направленным против микроорганизмов. В настоящее время он применяется для обозначения реакций организма на любые антигены. Антиген – это обычно крупная молекула или комбинация молекул, индуцирующая образование антител. Антигенными свойствами обладают белки (особенно, если они содержат определенные аминокислоты типа тирозина) и полисахариды (большой молекулярной массы) всех живых организмов. Молекулы, которые не вызывают образования антител, но тем не менее способны связываться с ними, называют гаптенами или неполными антигенами.

Не все животные, даже одного вида, вырабатывают антитела в ответ на введение определенных антигенов: некоторые антигены вызывают такой ответ лишь у группы особей. Только теплокровные позвоночные, включая человека, способны образовывать преципитирующие (т.е. осаждающие антиген) антитела; однако ряд холоднокровных позвоночных вырабатывают в чем-то схожие вещества, называемые агглютинами. Образование антител у беспозвоночных окончательно не установлено.

Антитела реагируют только с теми антигенами, которые индуцировали их синтез. Изменения химической или физической структуры антигенов приводят к образованию иных, видоизмененных антител. Такое прямое соответствие между антигенами и антителами известно под названием специфичности.

Пауль Эрлих (1854–1915) одним из первых указал на значение специфичности. Он предположил, что боковые цепи молекулы антигена подходят к рецепторным участкам в молекуле антитела, как ключ к замку. Позже К.Ландштейнеру (1868–1943) удалось показать, что в антисыворотке иммунного животного (т.е. в сыворотке крови, содержащей антитела) обнаруживаются антитела, способные различать молекулы антигенов с одинаковой молекулярной массой и одинаковым набором атомов, но отличающиеся друг от друга пространственной структурой. В настоящее время представление о том, что комплементарность структуры определенного участка антигена и активного центра антитела определяет специфичность их взаимодействия, является общепризнанным.

Иммунная реакция

Основными элементами иммунной системы организма являются белые клетки крови – лимфоциты, существующие в двух формах. Обе формы происходят из клеток-предшественников в костном мозге, т.н. стволовых клеток. Незрелые лимфоциты покидают костный мозг и попадают в кровяное русло. Некоторые из них направляются к тимусу (вилочковой железе), расположенному у основания шеи, где происходит их созревание. Прошедшие через тимус лимфоциты известны как Т-лимфоциты, или Т-клетки (Т от «тимус»). В экспериментах на цыплятах было показано, что другая часть незрелых лимфоцитов закрепляется и созревает в сумке Фабрициуса – лимфоидном органе около клоаки. Такие лимфоциты известны как В-лимфоциты, или В-клетки (В от bursa – сумка). У человека и других млекопитающих В-клетки созревают в лимфатических узлах и лимфоидной ткани всего организма, эквивалентных сумке Фабрициуса у птиц.

Оба типа зрелых лимфоцитов имеют на своей поверхности рецепторы, которые могут «узнавать» специфический антиген и связываться с ним. Контакт В-клеточных рецепторов со специфическим антигеном и связывание определенного его количества стимулируют рост этих клеток и последующее многократное деление; в результате образуются многочисленные клетки двух разновидностей: плазматические и «клетки памяти». Плазматические клетки синтезируют антитела, выделяющиеся в кровоток. Клетки памяти являются копиями исходных В-клеток; они отличаются большой продолжительностью жизни, и их накопление обеспечивает возможность быстрого иммунного ответа в случае повторного попадания в организм данного антигена.

Что касается Т-клеток, то при связывании их рецепторами значительного количества определенного антигена они начинают секретировать группу веществ, называемых лимфокинами. Некоторые лимфокины вызывают обычные признаки воспаления: покраснение участков кожи, местное повышение температуры и отек за счет увеличения кровотока и просачивания плазмы крови в ткани. Другие лимфокины привлекают фагоцитирующие макрофаги – клетки, которые могут захватывать и поглощать антиген (вместе со структурой, например бактериальной клеткой, на поверхности которой он находится). В отличие от Т- и В-клеток эти макрофаги не обладают специфичностью и атакуют широкий спектр разных антигенов. Еще одна группа лимфокинов способствует разрушению инфицированных клеток. Наконец, ряд лимфокинов стимулирует добавочное количество Т-клеток к делению, что обеспечивает быстрое возрастание числа клеток, которые отвечают на тот же антиген и выделяют еще больше лимфокинов.

Антитела, вырабатываемые В-клетками и поступающие в кровь и другие жидкости организма, относят к факторам гуморального иммунитета (от лат. humor – жидкость). Защита организма, осуществляемая с помощью Т-клеток, называется клеточным иммунитетом, так как в ее основе лежит взаимодействие отдельных клеток с антигенами. Т-клетки не только активируют другие клетки путем выделения лимфокинов, но и атакуют антигены с помощью содержащих антитела структур на поверхности клетки.

Антиген может индуцировать оба типа иммунного ответа. Более того, в организме происходит определенное взаимодействие между Т- и В-клетками, причем Т-клетки осуществляют контроль над В-клетками. Т-клетки могут подавлять В-клеточный ответ на безвредные для организма чужеродные вещества или, наоборот, побуждать В-клетки вырабатывать антитела в ответ на вредные вещества с антигенными свойствами. Повреждение или недостаточность данной контролирующей системы может проявляться в виде аллергических реакций на вещества, обычно безопасные для организма.

Селекция антител

Процесс селекции антител определяет, какие именно антитела должны образоваться, чтобы бороться со специфическим антигеном, выделяя его из миллиардов других антигенов, потенциально угрожающих организму. Механизм такой селекции остается еще не до конца ясным. Рассуждая логически, трудно предположить, что в каждом лимфоците содержится информация для синтеза миллиардов разных антител, большинство из которых никогда не пригодится. Одна из ранних теорий, получившая название «инструктивной», постулировала, что антитела синтезируются в незавершенном виде. Когда же антиген попадает в организм, он действует как матрица, на которой происходит окончательное формирование узнающего участка антител; иными словами, сам антиген служит «инструкцией» для создания специфичных именно к нему антител.

В настоящее время известно, что структура белковой молекулы антитела зависит от последовательности и взаимного расположения составляющих ее «кирпичиков» – аминокислот и что внешние причины, в том числе антигены, не могут вызвать существенных структурных перестроек. Поэтому была выдвинута новая теория – «клональной селекции». Согласно этой теории, в организме человека содержится около 10 млрд. слегка отличающихся друг от друга разновидностей лимфоцитов, причем каждая из них весьма немногочисленна. Когда антиген попадает в организм, он связывается только теми лимфоцитами, которые способны узнавать его. Связывание с антигеном создает стимул для их деления; в результате образуется большое число одинаковых клеток – клон, и численность отобранного варианта клеток быстро достигает необходимого уровня.

Теория клональной селекции не давала объяснения, каким образом исходно возникает колоссальное разнообразие лимфоцитов или их предшественников. Однако недавно механизм такой диверсификации как будто прояснился. Показано, что гены клеток, участвующих в иммунной реакции и продукции специфических антител, претерпевают частые случайные изменения за счет перегруппировок их отдельных участков; соответственно меняется закодированная в них информация, т.е. появляются новые, разнообразно измененные по этому признаку клетки, а в целом вся популяция лимфоцитов приобретает способность реагировать с разными антигенами. Кроме того, на протяжении многих клеточных поколений, требующихся для превращения стволовых клеток в зрелые лимфоциты, происходят случайные мутации в генах, кодирующих антитела. Эти мутации дополнительно увеличивают разнообразие лимфоцитов. Примечательно, что те молекулы на поверхности Т-лимфоцитов, которым они обязаны своей специфичностью, имеют во многом ту же структуру, что и циркулирующие в крови антитела, вырабатываемые В-лимфоцитами.

Пассивный иммунитет - иммунитет, возникающий в результате инъекции готовых антител, а не работы клеток самого организма, называют пассивным. Такой иммунитет, однако, сохраняется недолго – пока в организме циркулируют введенные антитела (гамма-глобулины). У человека это составляет несколько недель. Наоборот, активный иммунитет, когда в организме продуцируются собственные антитела, часто бывает пожизненным.

Антитела в крови выявляются не только после активной или пассивной иммунизации. У многих биологических видов, включая человека, постоянно идет (у всех представителей вида) синтез антител определенной специфичности, который не связан с иммунизацией. Такие антитела – их называют изоантителами – специфически направлены против антигенов других особей того же вида, т.е. против изоантигенов. Синтез изоантител обеспечивает естественный (врожденный) иммунитет (в отличие от приобретенного иммунитета, возникающего в результате иммунизации).

Группы крови

Лучшим примером изоантигенов служит система антигенов, обозначаемая АВ0. Антигены А и В обнаруживаются на поверхности эритроцитов и во многих тканях. Они были выделены в очищенном виде, и анализ показал, что это сложные по структуре молекулы, состоящие из цепочек аминокислот и углеводов. У каждого человека, эритроциты которого несут антиген А или В (но не оба антигена вместе) или же не содержат их вовсе (группа крови 0), в кровяном русле циркулируют изоантитела, агглютинирующие (склеивающие) эритроциты других групп крови, кроме группы 0.

После открытия Ландштейнером системы АВ0-антигенов были обнаружены и другие антигены эритроцитов. Таковы, например, различающиеся между собой подгруппы А-антигена и MN-антигены; несоответствие по каждому из них у донора и реципиента может привести к реакциям несовместимости при переливании крови. С открытием новых, редких типов несовместимости обнаруживают и новые антигены групп крови, число которых постоянно увеличивается. Однако в отличие от ситуации с АВ0-антигенами антитела к этим дополнительным антигенам в обычных условиях не вырабатываются, а появляются только после предварительного контакта, например, предшествующего переливания крови.

Еще один важный иммунологический феномен, связанный с изоантителами, наблюдается при трансплантации тканей. Гомотрансплантаты, т.е. ткани одного и того же организма или однояйцовых близнецов (например, при пересадке кожи или пластических операциях), обычно хорошо приживляются на новом месте. Иммунологическая реакция не развивается, так как гены и кодируемые ими белки в пересаженной ткани и клетках реципиента абсолютно одинаковы. Если же ткань взята от донора, не связанного с реципиентом близким родством, она может сохраняться на месте пересадки некоторое время, но затем отторгается. Следующий трансплантат от нового донора отторгается еще быстрее. Такое отторжение имеет иммунологическую природу – об этом свидетельствует успех трансплантации в случае сходной антигенной специфичности тканей донора и реципиента. Подбор донора по тканевой совместимости с реципиентом имеет жизненно важное значение при пересадках сердца, почек и других органов.

Гены, ответственные за приживляемость или отторжение пересаженной ткани, образуют т.н. «главный комплекс гистосовместимости». Они кодируют синтез не только тканевых антигенов, определяющих успех или неуспех трансплантации, но и некоторых рецепторов на поверхности Т-клеток. Определение продуктов этих генов помогает заранее определить, будет ли организм реагировать на специфические антигены пересаженной ткани.

В некоторых условиях, в частности после контакта с каким-либо антигеном в период внутриутробного развития, развивается толерантность, т.е. неспособность реагировать на этот антиген в течение последующей жизни.

I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Иммунитет, виды.
2. Иммунная реакция.
3. Реакция антиген-антитело.
4. Селекция антител
5. Группы крови, их характеристика.

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Биохимия иммунитета».

III Список используемой литературы:

Основная:

6. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
7. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
8. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
9. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
10. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

12. Е.А. Строев. Биологическая химия, Москва 1986
13. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
14. Ленинджер Л. «Биохимия». 1986
15. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
16. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
17. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
18. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медиа», 2008
19. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
20. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
21. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
22. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год.

41. Биохимия и патобиохимия печени. Желтухи. Гепатиты.

Анатомо-биохимические особенности печени.

Строение печени.

Печень - один из наиболее крупных и уникальных органов человеческого организма, выполняющий разнообразные функции, играющий важную роль в процессах пищеварения, обмена веществ, детоксикации. Масса печени взрослого человека составляет 1300-1800 г. Расположена печень в правом верхнем квадранте живота и прикрыта рёбрами. Анатомически в печени выделяют две доли - правую и левую. Правая доля почти в 6 раз крупнее левой; в ней выделяют два небольших сегмента: *хвостатую долю* на задней поверхности и *квадратную долю* на нижней поверхности. Правая и левая доли разделяются: спереди - складкой брюшины, так называемой серповидной связкой; сзади - бороздой, в которой проходит венозная связка, и снизу - бороздой, в которой находится круглая связка.

Кровоснабжение печени осуществляется из двух источников: *воротная вена* несёт венозную кровь из кишечника и селезёнки, а *печёночная артерия*, отходящая от чревного ствола, обеспечивает поступление артериальной крови. Сосуды входят в печень через углубление, называемое *воротами печени*, которое располагается на нижней поверхности правой доли ближе к её заднему краю. Воротная вена и печёночная артерия в воротах печени дают ветви к правой и левой долям, а правый и левый желчные протоки соединяются и образуют общий желчный проток. Иннервация печени осуществляется волокнами седьмого - десятого грудных симпатических ганглиев, которые прерываются в синапсах чревного сплетения, а также волокнами правого и левого блуждающих и правого диафрагмального нервов.

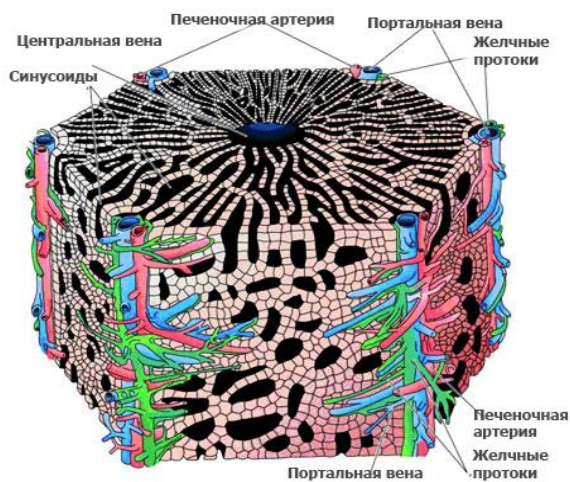
Структура печени.

Структурной единицей печени является ацинус или *печеночная долька*. Она имеет пирамидальную форму, состоящую из центрально расположенной печёночной вены и периферически расположенных портальных трактов, содержащих жёлчный проток, ветви воротной вены и печёночной артерии. Между этими двумя системами располагаются балки гепатоцитов и содержащие кровь синусоиды.

Ткань печени представлена двумя системами каналов - портальными трактами и печёночными центральными каналами, которые расположены таким образом, что не касаются друг друга; расстояние между ними составляет 0,5 мм. Эти системы каналов расположены перпендикулярно друг другу. Кровь из терминальных ветвей воротной вены попадает в синусоиды; при этом направление кровотока определяется более высоким давлением в воротной вене по сравнению с центральной.

Рис.1 Строение печеночной дольки (источник

Центральные печёночные каналы окружены пограничной пластинкой печёночных клеток.



Портальные тракты содержат терминальные ветви воротной вены, печёночную артериолу и жёлчный проток с небольшим количеством круглых клеток и соединительной ткани. Они окружены пограничной пластинкой печёночных клеток.

Различают ряд функциональных зон ацинусов, в центре каждого из которых лежит портальная триада с терминальными ветвями портальной вены, печёночной артерии и жёлчного протока - зона 1. Ацинусы расположены в основном перпендикулярно по отношению к терминальным печёночным венам соседних ацинусов. Периферические, хуже кровоснабжаемые отделы ацинусов, прилежащие к терминальным печёночным венам (зона 3), наиболее страдают от повреждения (вирусного, токсического или аноксического). Зоны, расположенные ближе к оси, образованные приносящими сосудами и жёлчными протоками более жизнеспособны, и позднее в них может начаться регенерация печёночных клеток

Гепатоциты - клетки печени, составляют около 60% массы печени. Они имеют полигональную форму и

диаметр, равный приблизительно 30 мкм. Гепатоцит граничит с синусоидом и пространством Диссе, с жёлчным канальцем и соседними гепатоцитами. Базальной мембраны у гепатоцитов нет.

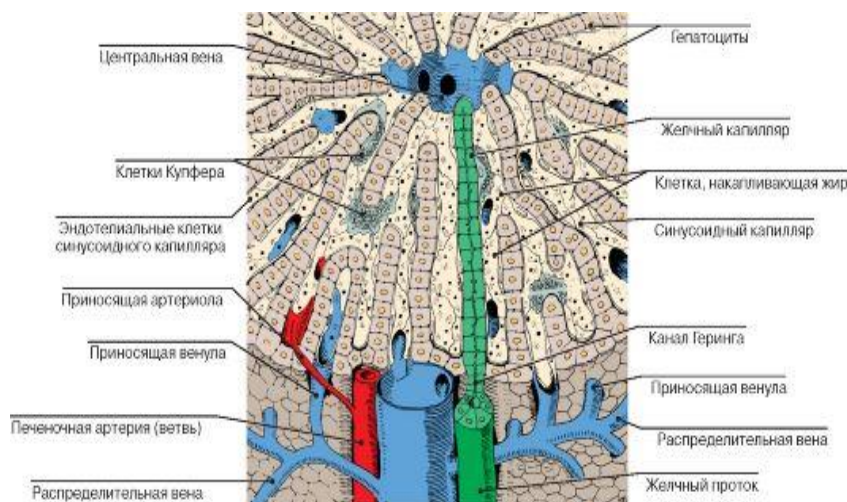
Синусоиды выстланы эндотелиальными клетками. К синусоидам относятся фагоцитирующие клетки ретикулоэндотелиальной системы (клетки Купфера), звёздчатые клетки, также называемые жирозапасающими, клетками Ито или липоцитами.

Тканевое пространство между гепатоцитами и синусоидальными эндотелиальными клетками называется пространством Диссе. В перисинусоидальной соединительной ткани проходят лимфатические сосуды, которые на всём протяжении выстланы эндотелием. Тканевая жидкость просачивается через эндотелий в лимфатические сосуды.

Ветви *печёночной артериолы* образуют сплетение вокруг жёлчных протоков и впадают в синусоидальную сеть на различных её уровнях. Они снабжают кровью структуры, расположенные в портальных трактах. Прямых анастомозов между печёночной артерией и воротной веной нет.

С жёлчных канальцев начинается экскреторная система печени. Плазматическая мембрана пронизана микрофиламентами, образующими поддерживающий цитоскелет. Поверхность канальцев отделена от остальной межклеточной поверхности соединительными комплексами, состоящими из плотных контактов, щелевых контактов и десмосом. Внутривольковая сеть канальцев дренируется в тонкостенные терминальные жёлчные протоки или дуктулы (холангиолы, канальцы Геринга), они заканчиваются в более крупных (междольковых) жёлчных протоках, расположенных в портальных трактах. Последние разделяются на мелкие (диаметром менее 100 мкм), средние (± 100 мкм) и крупные (более 100 мкм).

Рис. 2 Строение желчных протоков



Компартментализация метаболических путей и некоторых важных энзимов в гепатоците.

Поверхность гепатоцитов ровная, за исключением нескольких участков прикрепления (десмосом). Из них в просвет жёлчных канальцев выдаются равномерно расположенные микроворсинки одинаковых размеров. На поверхности, обращённой к синусоиду, располагаются микроворсинки разной длины и диаметра, проникающие в перисинусоидальное тканевое пространство. Наличие микроворсинок свидетельствует об активной секреции или абсорбции (в основном жидкости).

Ядерный аппарат клетки содержит дезоксирибонуклеопротеин. В хроматиновой сети обнаруживаются одно или два ядрышка. Ядро имеет двойной контур и содержит поры, обеспечивающие обмен с окружающей цитоплазмой. Считается, что повышенная полиплоидность, свидетельствует о предраковом состоянии..

Митохондрии - клеточные органеллы, окруженные двойной мембраной внутренний слой которой образует складки, или кристы, содержащие собственную ДНК. У митохондрий большое число разнообразных функций, из которых основная - синтез АТФ путем окислительного фосфорилирования.

В митохондриях содержится много ферментов, в том числе участвующих в цикле лимонной кислоты и бета-окислении жирных кислот. Энергия, высвобождающаяся в этих циклах, затем запасается в виде АТФ. Здесь протекает также синтез гема.

Шероховатый эндоплазматический ретикулум в нем синтезируются специфические белки, особенно альбумин, белки свёртывающей системы крови и ферменты, глюкозо-6-фосфатаза. Из свободных жирных кислот синтезируются триглицериды, которые в виде липопротеидных комплексов секретируются путём экзоцитоза. ШЭР может участвовать в глюконеогенезе.

Гладкий эндоплазматический ретикулум (ГЭР) содержит микросомы и является местом конъюгации билирубина, детоксикации многих лекарств и других токсичных веществ (система Р450). Здесь синтезируются стероиды, в том числе холестерин и первичные жёлчные кислоты, которые конъюгируют с аминокислотами глицином и таурином.

Пероксисомы располагаются поблизости от гладкого ЭПС и гранул гликогена. В них проявляют активность - оксидаза уратов, оксидаза Д-аминокислот, каталаза, лактатоксидаза.

Лизосомы - плотные тельца, примыкающие к жёлчным канальцам. Они содержат гидролитические ферменты, при выделении которых клетка разрушается. В них откладываются ферритин, липофусцин, жёлчный пигмент и медь.

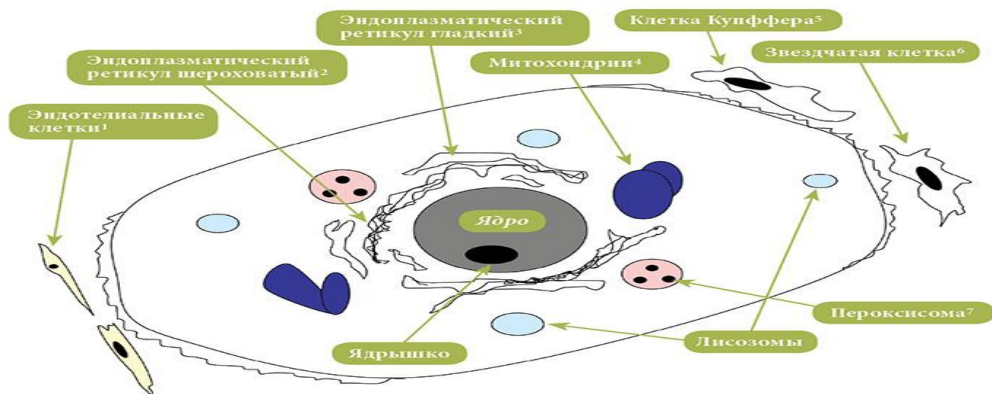
Аппарат Гольджи состоит из системы цистерн и пузырьков, которые также лежат около канальцев. Его можно назвать «складом веществ», предназначенных для экскреции в жёлчь. Аппарат Гольджи, лизосомы и канальцы подвергаются особенно выраженным изменениям при холестазах.

Цитоплазма содержит гранулы гликогена, липиды и тонкие волокна. Здесь протекают реакции гликолиза, многие реакции глюконеогенеза, пентозо-фосфатного цикла, синтез высших жирных кислот, активация аминокислот, синтез гликогена, гликогенолиз и большинство реакций синтеза мочевины.

Синусоидальные клетки (эндотелиальные клетки, клетки Купфера, звёздчатые и ямочные клетки) вместе с обращённым в просвет синусоида участком гепатоцитов образуют функциональную и гистологическую единицу. Они выстилают синусоиды и содержат фенестры, образующие ступенчатый барьер между синусоидом и пространством Диссе. Клетки Купфера прикреплены к эндотелию.

Звёздчатые клетки печени располагаются в пространстве Диссе между гепатоцитами и эндотелиальными клетками. Пространство Диссе содержит тканевую жидкость, оттекающую далее в лимфатические сосуды портальных зон. При нарастании синусоидального давления выработка лимфы в пространстве Диссе увеличивается, что играет роль в образовании асцита при нарушении венозного оттока из печени.

Рис.3 Структура гепатоцита



- 1 Осуществляют рецепторно-опосредованный апоптоз, транспорт в пространство Диссе макромолекул, насыщенных ретинолом и ХС, связывают и поглощают ЛП.
- 2 Синтез специфических белков в белки свертывающей системы крови, синтез триглицеридов из СЖК, липопротеидных комплексов, глюконеогенез.
- 3 Активация системы цитохрома Р 450, синтез стероидов: холестерина, первичных ЖК.
- 4 β-окисление жирных кислот.
- 5 Захват и метаболизм ЛПНП, эндотоксин-опосредованная функция ФНО-α цитокинов, имеет специфические рецепторы к инсулину, ЛП.
- 6 Хранят ретиноиды, вырабатывают коллаген.
- 7 Стимуляция ядерных рецепторов.

Купферовские клетки печени - это очень подвижные макрофаги, связанные с эндотелием, которые окрашиваются пероксидазой и имеют ядерную оболочку. Они фагоцитируют крупные частицы и содержат вакуоли и

лизосомы. Эти клетки образуются из моноцитов крови и имеют лишь ограниченную способность к делению.

Они фагоцитируют по механизму эндоцитоза (пиноцитоза или фагоцитоза), который может опосредоваться рецепторами (абсорбционный) или происходить без участия рецепторов (жидкофазный).

Функциональные особенности клеток Купфера:

1. поглощают состарившиеся клетки, инородные частицы, опухолевые клетки, бактерии, дрожжи, вирусы и паразитов;
2. захватывают и перерабатывают окисленные липопротеины низкой плотности (которые считаются атерогенными) и удаляют денатурированные белки и фибрин при диссеминированном внутрисосудистом свёртывании крови;
3. содержат специфические мембранные рецепторы для лигандов, включая фрагмент Fc иммуноглобулина и компонент C3 комплемента, которые играют важную роль в представлении антигена;
4. активируются при генерализованных инфекциях или травмах. Они специфически поглощают эндотоксин и в ответ вырабатывают ряд факторов, например фактор некроза опухоли, интерлейкины, коллагеназу и лизосомальные гидролазы. Токсическое действие эндотоксина, таким образом, обусловлено продуктами секреции клеток Купфера, поскольку сам по себе он нетоксичен;
5. секретируют также метаболиты арахидоновой кислоты, в том числе простагландины;
6. имеют специфические мембранные рецепторы к инсулину, глюкагону и липопротеинам. Углеводный рецептор N-ацетилгликозамина, маннозы и галактозы может служить посредником в пиноцитозе некоторых гликопротеинов, особенно лизосомальных гидролаз. Кроме того, он опосредует поглощение иммунных комплексов, содержащих IgM;
7. выполняют эритробластоидную функцию в печени плода. Распознавание и скорость эндоцитоза клетками Купфера зависят от опсонинов, фибронектина плазмы, иммуноглобулинов.

Эндотелиальные клетки - клетки образуют стенку синусоидов. Фенестрированные участки эндотелиальных клеток (фенестры) имеют диаметр 0,1 мкм и образуют ситовидные пластинки, которые служат биологическим фильтром между синусоидальной кровью и плазмой, заполняющей пространство Диссе. Эндотелиальные клетки имеют подвижный цитоскелет, который поддерживает и регулирует их размеры. Эти «печёночные сита» фильтруют макромолекулы различного размера. Через них не проходят крупные, насыщенные триглицеридами хиломикроны, а более мелкие, бедные триглицеридами, но насыщенные холестерином и ретинолом остатки могут проникать в пространство Диссе. Синусоидальные эндотелиальные клетки активно удаляют из кровообращения макромолекулы и мелкие частицы с помощью рецепторно-опосредованного эндоцитоза. Они несут поверхностные рецепторы к гиалуроновой кислоте (главный полисахаридный компонент соединительной ткани), хондроитинсульфату и гликопротеину, содержащему на конце маннозу, а также рецепторы типа II и III к фрагментам Fc IgG и рецептор к белку, связывающему липополисахариды. Эндотелиальные клетки выполняют очистительную функцию, удаляя ферменты, повреждающие ткани, и патогенные факторы (в том числе микроорганизмы). Кроме того, они очищают кровь от разрушенного коллагена и связывают и поглощают липопротеины.

Клетки Ито расположены в субэндотелиальном пространстве Диссе. Они содержат длинные выросты цитоплазмы, некоторые из которых тесно контактируют с паренхиматозными клетками, а другие достигают нескольких синусоидов, где могут участвовать в регуляции кровотока и влияющие на портальную гипертензию. В нормальной печени эти клетки являются местом хранения ретиноидов. Они содержат актин и миозин и сокращаются при воздействии эндотелина-1. При повреждении гепатоцитов звёздчатые клетки утрачивают жировые капли, пролиферируют, мигрируют в зону 3, приобретают фенотип, напоминающий фенотип миофибробластов, и вырабатывают коллаген типа I, III и IV, а также ламинин. Кроме того, они выделяют протеиназы клеточного матрикса и их ингибиторы, например тканевый ингибитор металлопротеина. Коллагенизация пространства Диссе приводит к снижению поступления в гепатоцит субстратов, связанных с белком.

Естественные киллеры или ямочные клетки - это лимфоциты, прикрепленные к обращенной в просвет синусоида

поверхности эндотелия. Их псевдоподии проникают сквозь эндотелиальную выстилку, соединяясь с микроворсинками паренхиматозных клеток в пространстве Диссе. Эти клетки живут недолго и обновляются за счёт лимфоцитов циркулирующей крови, дифференцирующихся в синусоидах. Ямочные клетки обладают спонтанной цитотоксичностью по отношению к опухолевым и инфицированным вирусом гепатоцитам.

Ферменты печени

Наиболее часто в качестве объекта для исследования используют сыворотку крови, ферментный состав которой относительно постоянен. Нормальная активность ферментов в сыворотке крови отражает соотношение между биосинтезом и высвобождением ферментов (при обычном обновлении клеток), а также их клиренсом из кровотока. Повышение скорости обновления ферментов, повреждения клеток обычно приводят к повышению активности ферментов в сыворотке крови.

По активности сывороточных ферментов печени можно установить вариант поражения печени (паренхиматозный или холестатический).

Локализация ферментных систем в печени следующее:

Цитоплазма клетки содержит следующий ряд ферментов:

1. аланинаминотрансферазу (АлАТ),
2. часть аспаратаминотрансферазы (АсАТ),
3. лактатдегидрогеназу (ЛДГ),
4. часть гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП)
5. другие ферменты.

Митохондриальная фракция, в ней сосредоточены:

1. большая часть АсАТ (около 70%),
2. глутаматдегидрогеназа (ГлДГ),
3. алкогольдегидрогеназа и много других.

Шероховатый эндоплазматическая ретикулум содержит холинэстеразу (ХЭ) и др.

В гладком эндоплазматическом ретикулуме находятся:

1. глюкозо-6-фосфатаза,
2. УДФ-глюкуронилтрансфераза,
3. гемсодержащий мембраносвязанный цитохром Р-450 и др.

Лизосомы содержат кислые гидролазы (кислая фосфатаза, рибонуклеаза и др.), которые активируются при снижении рН клетки.

Билиарный полюс содержит мембранозависимые ферменты, такие как щелочная фосфатаза (ЩФ), 5-нуклеотидаза, часть ГГТП, лейцинаминопептидаза (ЛАП). Распределение ферментов внутри клетки объясняет неодинаковое повышение активности ферментов при различных патологических процессах. Например, при поражении центральных отделов долек (острый алкогольный гепатит, острый венозный застой и др.), повышается активность митохондриальной глутаматдегидрогеназы, как следствие недостатка кислорода и повреждение митохондрий, а при поражении портальных трактов (острый вирусный гепатит, хронический активный гепатит - ХАГ), повышается активность цитоплазматических трансаминаз.

Функции клеток, расположенных в периферической зоне кровообращения ацинуса, примыкающей к терминальным печёночным венам (зона 3), отличаются от функции клеток, примыкающих к терминальным печёночным артериям и портальным венам (зона 1).

Очевидно, что эти зоны различаются по снабжению кислородом: клетки зоны 3 получают кислород в последнюю очередь и особенно склонны к аноксическому повреждению.

Ферменты цитохрома Р₄₅₀, участвующие в метаболизме лекарств, в основном сосредоточены в зоне 3. Наиболее высокие концентрации токсичных продуктов метаболизма лекарств обнаруживаются в гепатоцитах зоны 3. Кроме того, в них снижена концентрация глутатиона, поэтому гепатоциты зоны 3 оказываются особенно восприимчивыми к

лекарственным повреждениям печени.

Таблица 1.

Метаболизм гепатоцитов в зависимости от их расположения в зоне 3 (центральной) или в зоне 1 (перипортальной)(по Шерлок Ш., Дули Дж).

	Зона 1	Зона 3
Углеводы	Глюконеогенез	Гликолиз
Белки	Синтез альбумина и фибриногена	Синтез альбумина и фибриногена
Цитохром P450	+	++
Глутатион	++	-
Снабжение кислородом	+++	+
Образование жёлчи, зависящее от желчных кислот	++	-
Образование желчи, не зависящее от жёлчных кислот	-	++
Синусоиды	Мелкие Много анастомозов	Прямые Радиальные

Гепатоциты зоны 1 получают кровь с более высокой концентрацией желчных кислот и поэтому играют особенно важную роль в образовании желчи, зависящем от желчных кислот. Гепатоциты зоны 3 участвуют в образовании желчи, не зависящем от желчных кислот.

Причины метаболических различий между зонами различны. Одни функции (глюконеогенез, гликолиз, кетогенез) зависят от направления движения крови по синусоидам, другие (осуществляемые цитохромом P₄₅₀) - от скорости транскрипции генов, которая неодинакова в перивенулярных и перипортальных гепатоцитах. Например, при алкогольном поражении, может нарушаться микроциркуляция печени из-за коллагенизации пространства Диссе, образования базальной мембраны под эндотелием и изменения его фенестрированности. Все эти процессы наиболее выражены в зоне 3. Они приводят к потере питательных веществ, предназначенных для гепатоцитов, и к развитию портальной гипертензии.

При патологических процессах в печени обнаруживается лимфоцитарная инфильтрация. Рецепторы на поверхности лимфоцитов, антиген, ассоциированный с функцией лейкоцитов (LFA-1), и молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1 и ICAM-2) взаимодействуют между собой. В норме ICAM-1 экспрессируется в основном на клетках, выстилающих синусоиды, и в незначительной степени на портальном и печёночном эндотелии.

Синусоидальная мембрана гепатоцита представляет собой домен, который содержит большое количество рецепторов и обладает высокой метаболической активностью. Он отделён от жёлчного канальца латеральным доменом, который участвует в межклеточном взаимодействии. Рецепторно-опосредованный эндоцитоз обеспечивает перенос крупных молекул, таких, как гликопротеины, факторы роста и белки-переносчики (трансферрин). Эти лиганды связываются с рецепторами синусоидальной мембраны, которые образуют окаймлённые клатрином ямки, обеспечивающие начало эндоцитоза. Судьба лиганда внутри клетки различна. Многие лиганды переносятся в лизосомы, где разрушаются, а рецепторы возвращаются на синусоидальную мембрану для повторного использования. Некоторые лиганды переносятся в составе пузырьков через клетку и выделяются в просвет жёлчных канальцев.

Основные функции печени

Печень является важнейшим органом, принимающим участие в обмене веществ, как образующихся в организме, так и поступающих в него. По многообразию метаболических реакций она превосходит все другие органы. Некоторые обменные процессы (например, синтез мочевины) протекают только в печени, поскольку лишь печень располагает для них необходимыми ферментными системами. Обмен веществ в печени необходим не только для поддержания структуры и функции данного органа, но и для выработки определенных субстанций, поступающих затем в кровь и участвующих в

осуществлении важных функций других органов. Гомеостаз ряда веществ, являющихся субстратами метаболизма (например, глюкозы), обеспечивается также печенью.

1. Синтетическая. Печень осуществляет синтез белков, ферментов, факторов свертывания крови, холестерина, фосфолипидов и др. В печени происходит основное образование кетоновых тел.

2. Детоксицирующая для эндогенных и экзогенных веществ. Детоксикация лекарственных препаратов включает 2 фазы: 1 - модификация лекарств в окислительно-восстановительных реакциях с помощью цитохрома P450, 2 фаза - конъюгация лекарств водорастворимыми веществами путем присоединения глюкуроновой, серной кислот, глутатиона и др. При заболеваниях печени реакции первой фазы снижены или отсутствуют.

3. Секреторная. Желчсекретирующий аппарат включает желчные каналы, микроворсинки, прилегающие к ним лизосомы и комплекс Гольджи. Механизм секреции желчи включает выделение холестерина, желчных кислот, пигментов, фосфолипидов в виде специфического макромолекулярного комплекса - желчной мицеллы. Образовавшиеся в печени первичные желчные кислоты поступают в кишечник, где под действием кишечной флоры превращаются во вторичные желчные кислоты. Последние всасываются в кишечнике и вновь поступают в печень (кишечно-печеночная циркуляция). Печень их конъюгирует с глицином и таурином, превращая в амфифильные соединения, обладающие высокой способностью к эмульгированию гидрофобных веществ. Любые процессы, вызывающие нарушение соотношения компонентов в желчи (гормональные, воспалительные и др.), приводят к нарушению желчеотделения - холестазу.

4. Эскреторная - выделение с желчью различных, в том числе твердых, веществ.

Участие печени в различных видах обмена.

1. Белоксинтетическая функция.

1. альбумины 100%,
2. α_1 -глобулины 90%,
3. α_2 -глобулины 75%,
4. β -глобулины 50%,
5. γ -глобулины - небольшое количество,
6. фибриноген,
7. факторы свертывания крови (в т.ч. витамин К-зависимые)
8. псевдохолинэстераза (ХЭ)

Альбумин относится к самым легким белкам крови, ОММ 65-70 кДа, и синтезируется исключительно печенью. Альбумины поддерживают онкотическое давление, снижение содержания приводит к отекам. Если снижение концентрации альбумина не связано с неполноценным питанием, нарушением всасывания в кишечнике или большой потерей белка, оно обусловлено выраженным снижением функции печени. Альбумины играют важную роль в транспортировке веществ, плохо растворимых в воде (гидрофобных). К таким веществам относятся билирубин, холестерин, жирные кислоты, ряд гормонов и лекарств. Нарушение транспортной функции альбумина приводит ко многим патологическим изменениям.

Печень поддерживает уровень аминокислот, в т.ч. циклических (тирозин, триптофан, фенилаланин), нейтрализует аммиак, превращая его в мочевины. Синтез мочевины - одна из самых стабильных функций печени.

2. Обмен липидов. Синтез холестерина на 90% осуществляется печенью и кишечником. Значительная часть холестерина в печени превращается в желчные кислоты, стероидные гормоны, витамин D. Печень преобразует токсичные для мозга жирные кислоты с короткой цепью (4-8 атомов углерода - капроновая, изовалериановая и др.) в жирные кислоты с длинной цепью (16-18 атомов углерода).

3. Углеводный обмен. Печень является центральным органом гомеостаза глюкозы, путем гликогенолиза, гликогенолиза, глюконеогенеза. Печень вырабатывает инсулиназы - ферменты, расщепляющие инсулин, поддерживает уровень молочной и пировиноградной кислот.

4. Пигментный обмен включает превращение в гепатоците путем конъюгации с глюкуроновой кислотой токсичного жирорастворимого непрямого билирубина, в нетоксичный водорастворимый прямой. Выделение билирубинглюкуронида может происходить либо путем прямой секреции в желчный капилляр, либо включением в желчную мицеллу.

5. Обмен порфиринов включает синтез гема, состоящего из комплекса протопорфирина с железом. Гем необходим для синтеза гемсодержащих ферментов печени (цитохромы и др.). Врожденное нарушение синтеза гема в печени приводит к заболеваниям - печеночным порфириям.

6. Обмен гормонов. При заболеваниях печени наблюдается повышение уровня гормонов, связанное с нарушением их секреции с желчью или искажением нормального обмена гормона (недостаточного разрушения). Повышается уровень адреналина и норадреналина (медиаторов симпатической нервной системы), минералокортикоида альдостерона, половых гормонов, особенно эстрогенов, тканевых гормонов серотонина и гистамина.

7. Обмен микроэлементов. Печень синтезирует белки для транспорта и депонирования железа, она также является основным депо железа. Печень играет важную роль в обмене меди: она синтезирует церулоплазмин - гликопротеид, связывающий до 90% меди крови, а также поглощает из плазмы крови медь, прочно связанную с альбумином, и экскретирует избыток меди при помощи лизосом с желчью в кишечник.

Биохимические исследования.

Биохимические исследования играют важную роль в диагностике и определении тяжести, прогноза и течения заболеваний печени. В большинстве случаев эта оценка становится возможной не по результатам отдельного теста, а на основании интерпретации данных, полученных при применении нескольких тестов. Для более удобной оценки целесообразно сгруппировать применяемые тесты в зависимости от исследуемой функции печени. С помощью биохимических тестов можно охарактеризовать:

- целостность гепатоцитов;
- экскрецию желчи;
- синтетическую функцию печени;
- другие специальные функции.

Оценка целостности гепатоцитов, нарушения которой в легких случаях проявляются повышенной проницаемостью клеточной мембраны, а в тяжелых случаях - некрозом клеток, проводится на основании обнаружения ферментов печеночных клеток в плазме крови. Чаще всего с этой целью используют определение активности трансаминаз - аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ). Чувствительность трансаминаз является высокой. Глутаматдегидрогеназа (ГЛДГ) содержится исключительно в митохондриях и характеризуется наибольшей активностью в перивенозных гепатоцитах ациноса. Это объясняет, почему наибольший подъем активности данного фермента отмечается при венозном застое в печени и при шоке. Для оценки экскреции желчи применяется прежде всего определение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТП). Увеличение активности этих ферментов в плазме крови при холестазах объясняется их усиленным освобождением из каналикулярных мембран гепатоцитов и их повышенным синтезом. Повышение активности ГГТП не считается специфичным для холестаза, поскольку может встречаться также при нарушении целостности гепатоцитов. Этот фермент является в настоящее время наиболее чувствительным клинико-биохимическим маркером заболеваний гепатобилиарной системы; его повышение наступает сравнительно рано и бывает очень выраженным при алкогольном поражении печени.

Гипербилирубинемии как симптом холестаза характеризуются достаточно низкой чувствительностью и специфичностью. Однако определение фракций билирубина имеет важное дифференциально - диагностическое значение, поскольку позволяет разграничить конъюгированную и неконъюгированную гипербилирубинемии. Исследование уровня билирубина помогает также в оценке прогноза при некоторых хронических заболеваниях печени.

Для оценки синтетической функции печени применяется в первую очередь исследование уровня факторов свертывания крови, которые вырабатываются только в печени и имеют короткий период полураспада в плазме (например, фактор VII). Чаще всего определяется протромбиновое время по Квику, которое зависит от факторов

свертывания I, II, V, VII и X, синтезируемых в печени. Поскольку для некоторых из этих факторов (II, VII и X) необходимо еще и присутствие витамина K, увеличение протромбинового времени может обуславливаться не только снижением синтетической функции печени, но и уменьшением всасывания витамина K вследствие холестаза. Активность холинэстеразы в сыворотке также отражает состояние синтетической функции печени. Этот фермент вырабатывается в печени, время его полураспада в крови составляет около 10 дней. Напротив, определение уровня альбумина в плазме как показателя, отражающего сниженную синтетическую функцию печени, характеризуется достаточно низкими чувствительностью и специфичностью. Хотя альбумин вырабатывается исключительно в печени, ее резервные способности в этом плане настолько высоки, что уровень альбумина в плазме начинает снижаться только при выраженном поражении паренхимы печени. Кроме того, снижение синтеза альбумина может компенсироваться уменьшением его распада. Другими причинами, приводящими к гипоальбуминемии, могут служить заболевания, сопровождающиеся синдромом мальабсорбции.

Клинико-биохимические методы оценки специальных функций печени применяются с целью диагностики определенных заболеваний. Так, поликлональная гипергаммаглобулинемия индуцируется при хронических заболеваниях печени антигенами желудочно-кишечного тракта, которые в результате сниженной функции печени или вследствие формирования portoкавальных анастомозов недостаточно удаляются из крови. Эти антигены стимулируют образование антител плазматическими клетками, происходящими из В-лимфоцитов.

Наличие фиброза можно установить, определив уровень в сыворотке пептида проколлагена типа III.

Таблица 2.

Биохимические показатели при заболеваниях печени

Показатель	Референсные значения	Диагностическая ценность
Общий билирубин	5-21 мкмоль/л*	Выявление желтухи, оценка тяжести
Связанный билирубин	0,0-5,1 мкмоль/л	Болезнь Жильбера, гемолиз
Щелочная фосфатаза	98-280 МЕ/л	Диагностика холестаза, инфильтрации печени
АсАТ	0-37 МЕ/л	Ранняя диагностика печёночно-клеточного поражения, контроль за динамикой заболевания
АлАТ	0-40 МЕ/л	При алкоголизме активность АлАТ ниже, чем активность АсАТ
ГГТП	10-61 МЕ/л	Диагностика алкогольного поражения и билиарного холестаза
Альбумин	35-50 г/л	Оценка тяжести поражения печени
γ-Глобулин	5-15 г/л	Диагностика хронического гепатита и цирроза, контроль за динамикой заболевания
Протромбиновое время	12-16 с	Оценка тяжести поражения печени

Показатели пигментного обмена.

Общий билирубин в сыворотке.

Содержание общего билирубина в сыворотке в норме составляет 3,4 - 20,5 мкмоль/л.

Уровень билирубина в сыворотке повышается как при холестатических, так и при печёночно-клеточных поражениях и сопровождается повышением активности печёночных ферментов. При этом билирубин находится преимущественно в связанном состоянии. Изолированное повышение уровня билирубина в сыворотке (без повышения активности ферментов) может носить семейный характер или быть следствием гемолиза.

Важно исследовать больных с желтухой. Обесцвеченный кал свидетельствует о холестатическом варианте желтухи, но может также встречаться при паренхиматозных поражениях. При гемолитической желтухе окраска кала нормальная. Изредка обесцвеченный кал наблюдается при тяжёлом дефиците УДФ-глюкуронилтрансферазы.

У больных с холестатическим поражением печени небольшое количество связанного билирубина плазмы фильтруется почечными клубочками. В почечных канальцах часть его реабсорбируется, а оставшаяся часть выводится с мочой, придавая ей тёмный цвет.

Клинико-диагностическое значение билирубинурии. При остром вирусном гепатите билирубин обнаруживается в

моче до появления уробилиногена или развития желтухи. При лихорадке неясной этиологии наличие билирубинурии свидетельствует в пользу гепатита.

Уробилиноген

Под влиянием бактерий билирубин в кишечнике превращается в бесцветные тетрапиррольные соединения, которые называют общим термином «уробилиноген». Приблизительно 20% от его общего количества абсорбируется в кишечнике и затем вновь экскретируется печенью с жёлчью. Небольшая часть уробилиногена выделяется с мочой. Содержание уробилиногена в моче используют в дифференциальном диагнозе заболеваний печени и жёлчных путей. При полной обструкции жёлчного протока, когда билирубин не поступает в кишечник, уробилиноген в моче может отсутствовать.

Прямой билирубин в сыворотке

Содержание прямого билирубина в сыворотке в норме составляет 0,00- 5,1 мкмоль/л. Исследование обычно проводят в целях дифференциальной диагностики желтух.

При паренхиматозной желтухе наступает деструкция печеночных клеток, нарушается экскреция прямого билирубина в желчные капилляры, и он попадает непосредственно в кровь, где содержание его значительно увеличивается. Кроме того, снижается способность печеночных клеток синтезировать билирубин-глюкуроны; вследствие этого количество непрямого билирубина в крови также увеличивается.

При механической желтухе нарушено желчевыделение, что приводит к резкому увеличению содержания прямого билирубина в крови. Несколько повышается в крови и концентрация непрямого билирубина. При гемолитической желтухе содержание прямого билирубина в крови не изменяется.

Непрямой билирубин в сыворотке

Содержание непрямого билирубина в сыворотке в норме составляет 3,4-13,7 мкмоль/л. Исследование непрямого билирубина играет важнейшую роль в диагностике гемолитических анемий. В норме в крови 75 % общего билирубина приходится на долю непрямого (свободного) билирубина к 25 % на долю прямого (связанного) билирубина.

Непрямой билирубин повышается при гемолитических анемиях, пернициозной анемии, при желтухе новорожденных, синдроме Жильбера, синдроме Криглера-Найяра. Повышение непрямого билирубина при гемолитической анемии обусловлено интенсивным образованием его вследствие гемолиза эритроцитов, и печень оказывается неспособной к образованию столь большого количества билирубин-глюкуроноидов. При перечисленных синдромах нарушена конъюгация непрямого билирубина с глюкуроновой кислотой.

Определение активности сывороточных ферментов.

Щелочная фосфатаза

Активность ЩФ повышается при холестазах и в меньшей степени при поражении гепатоцитов. Увеличение синтеза ЩФ гепатоцитами связано с повышенным образованием белка и РНК. Выделение фермента в сыворотку может быть обусловлено его проникновением из канальцев в синусоиды через разрыхлённые плотные контакты. Повышение активности ЩФ связано также с повышенным выделением ЩФ в синусоиды из плазматических мембран гепатоцитов.

Изолированное повышение активности ЩФ может быть обусловлено кишечной фракцией фермента. В пользу гепатобилиарного происхождения ЩФ свидетельствует одновременное повышение активности ГГТП. Повышение активности ЩФ наблюдается иногда при первичных или метастатических опухолях печени, даже при отсутствии желтухи или поражения костей. Повышение активности ЩФ при нормальном уровне билирубина в сыворотке отмечается и при других очаговых и инфильтративных поражениях печени, например при амилоидозе, абсцессах, лейкозах или гранулёмах.

Гамма-глутамилтранспептидаза

Уровень активности гамма-глутамилтранспептидазы в норме составляет у мужчин 8-61 МЕ/л; у женщин – 5-36 МЕ/л.

Активность ГГТП повышается при холестатических и паренхиматозных поражениях. При холестазах это

повышение происходит параллельно с повышением активности ЩФ и служит подтверждением гепатобилиарного происхождения ЩФ. Концентрация ГГТП повышается при метастатических опухолях печени. Это повышение хотя и непостоянно, но наблюдается чаще, чем повышение активности ЩФ.

Изолированное повышение активности ГГТП в сыворотке отмечается у людей, злоупотребляющих алкоголем, даже при отсутствии грубых изменений печени. Это, возможно, является следствием индукции активности микросомальных ферментов.

Трансаминазы

Аспаратаминотрансфераза (АсАТ) - митохондриальный фермент, присутствующий в больших количествах в сердце, печени, скелетной мускулатуре и почках. Уровень активности АсАТ в норме 10-38 МЕ/л. Активность этого фермента в сыворотке повышается при любом остром повреждении тканей, по-видимому, вследствие его выхода из повреждённых клеток.

Аланинаминотрансфераза (АлАТ) - цитоплазматический фермент, также присутствующий в печени. Уровень активности АлАТ в норме 7 - 41 МЕ/л. Абсолютное количество этого фермента меньше, чем АсАТ; при этом в печени его содержится больше, чем в миокарде и скелетных мышцах. Таким образом, по сравнению с АсАТ повышение активности сывороточной АлАТ более специфично для поражения печени.

Определение активности трансаминаз играет роль в ранней диагностике вирусного гепатита. Её следует определять как можно раньше, так как уже через неделю после начала заболевания она снижается до нормы. Важно определение активности трансаминаз в динамике.

Особенно высокая активность ферментов этой группы может отмечаться на ранних стадиях острого холестаза, в частности при холедохолитиазе и недостаточности кровообращения.

Более редкая причина повышения активности трансаминаз - дефицит α 1-антитрипсина.

При циррозе активность трансаминаз может быть различной. Особенно высокая активность ферментов выявляется при хроническом гепатите с активным воспалительным процессом. Для алкогольного поражения печени значительное повышение активности трансаминаз нехарактерно. Коэффициент де Ритиса - отношение АсАТ/АлАТ, в норме 1,33, при заболеваниях печени ниже этой величины, а при заболеваниях сердца - выше.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) - относительно нечувствительный показатель паренхиматозного поражения. Уровень активности ЛДГ в норме 240-480 МЕ/л. При остром вирусном гепатите активность ЛДГ повышена в первые дни желтушного периода и при легкой и среднетяжелой формах заболевания быстро возвращается к норме. При механической желтухе на первых стадиях закупорки желчных протоков активность ЛДГ в норме, на более поздних стадиях наблюдается подъем активности вследствие вторичных повреждений печени. Значительное повышение активности ЛДГ отмечается у больных с различными опухолями, особенно при вовлечении печени.

Липидный обмен

Печень - орган, в котором активно протекают процессы метаболизма липидов (холестерин, фосфолипиды, триглицериды) и липопротеинов (ЛП).

Холестерин (ХС) компонент клеточных мембран и является предшественником жёлчных кислот и стероидных гормонов. Он синтезируется в печени, тонкой кишке и других органах. Часть холестерина абсорбируется в кишечнике и достигает печени в связанном состоянии с хиломикронами. Он образуется в основном из ацетил-КоА в микросомальной фракции и в цитозоле. В биосинтезе холестерина ключевой реакцией является превращение 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) в мевалонат с участием фермента ГМГ-КоА-редуктазы. ХС, содержащийся в мембранах и в жёлчи, представлен преимущественно свободной фракцией. Основной путь выведения холестерина - его экскреция с жёлчью. В плазме и некоторых органах, например в печени, надпочечниках и коже, также обнаруживают эфиры холестерина (холестерин, этерифицированный жирными кислотами с длинной цепью). Эфиры ХС являются менее полярными, чем свободный холестерин, и поэтому ещё менее растворимыми в воде. Этерификация происходит в плазме под действием синтезируемого в печени фермента лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ).

Фосфолипиды - гетерогенная группа веществ. Они состоят из одного или более остатков фосфорной кислоты и другой полярной группы. Полярная группа представлена разными основаниями, например холином или этаноламином. Кроме того, в состав фосфолипидов входят остатки жирных кислот с длинной цепью.

Фосфолипиды химически более активны, чем холестерин и его эфиры и являются важной составной частью клеточных мембран, участвующих во многих химических реакциях. Из фосфолипидов плазмы и клеточных мембран наибольшая часть приходится на фосфатидилхолин.

Нейтральные жиры (ТАГ) - основной составной частью молекулы ТАГ является глицерин, гидроксильные группы которого этерифицированы жирными кислотами. ТАГ служат энергетическим депо и средством переноса энергии от кишечника и печени к тканям.

Липопротеины

Липопротеины - транспортная форма липидов. Они различны по плотности частицы, разделяющиеся при ультрацентрифугировании на отдельные фракции. Поверхностные слои состоят из нескольких типов аполипопротеинов, свободного ХС и фосфолипидов. Внутренняя часть представлена эфирами ХС, ТАГ и жирорастворимыми витаминами.

Таблица.3

Свойства липопротеинов (Шевченко О.П., Долгов В.В., 2006 г.)

Липопротеины	Аполипопротеины	Место образования	Функции
ХМ	В-48, А-I, С-II, Е	Кишечник	Экзогенные ТАГ
ЛПОНП	В-100, С-II, Е	Печень	Эндогенных ТАГ и ХС
ЛПНП	В-100	Образуются из ЛПОНП	ХС
ЛПВП	А-I, А-II	Ткани	Эфиров ХС

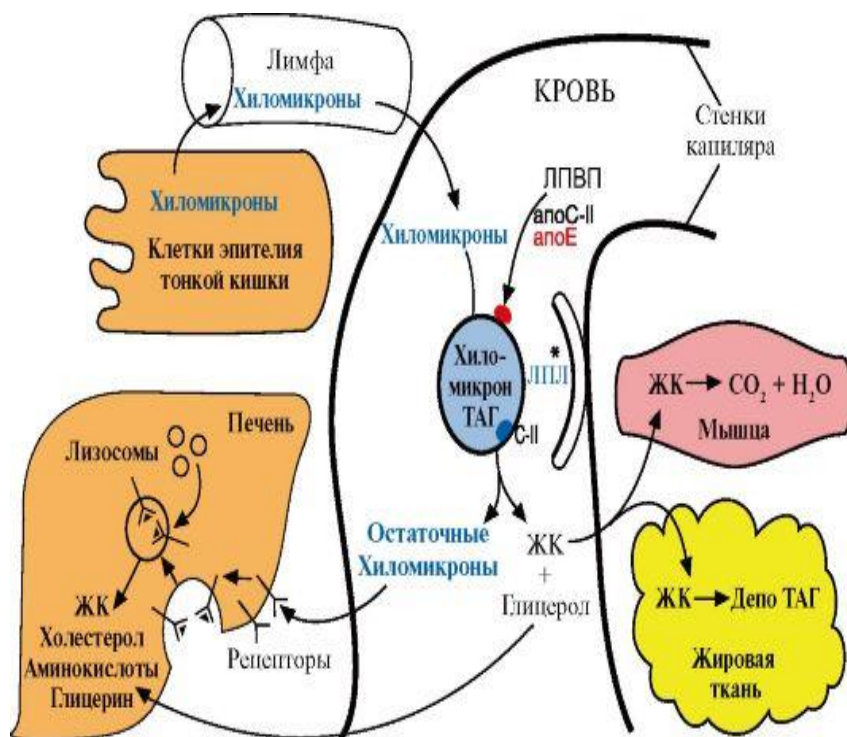
Экзогенные жиры всасываются в тонком кишечнике и включаются в состав хиломикронов. Последние проникают в кровоток (через грудной лимфатический проток), где ТАГ удаляются при участии фермента липопротеинлипазы. ТАГ утилизируются или накапливаются в тканях. Остатки хиломикронов захватываются печенью, а ХС метаболизируется, включается в состав плазматических мембран либо выводится с жёлчью.

Триглицериды включаются в синтезируемые в печени липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), в крови под действием липопротеинлипазы триглицериды отщепляются от ЛПОНП. При этом частицы ЛПОНП уменьшаются в размерах и образуют ЛП промежуточной плотности (ЛППП), а затем - ЛП низкой плотности (ЛПНП), являющиеся основными переносчиками эндогенного ХС. ЛПНП преимущественно удаляются посредством специфических рецепторов на поверхности гепатоцитов.

ЛП высокой плотности (ЛПВП) «счищают» ХС из тканей, при этом ХС содержащийся в ЛПВП, захватывается печенью либо включается в состав ЛППП, приводя к образованию зрелых ЛПНП. Высокий уровень ХС ЛПВП в крови предотвращает развитие ишемической болезни сердца.

Аполипопротеины в большинстве случаев образуются в печени, а часть из них синтезируются в кишечнике. Некоторые аполипопротеины, будучи структурным компонентом ЛП, выполняют также и другие функции: апо А-I активирует ЛХАТ в плазме, С-II активирует липопротеинлипазу.

Рис.4 Метаболизм липидов и ЛП



Изменения показателей липидов при патологических процессах в печени

При холестазах повышается уровень общего и свободного ХС в сыворотке. Механизм этого повышения неизвестен. По-видимому, в повышении уровня холестерина в сыворотке участвуют 4 фактора: заброс ХС из жёлчи в кровотоки, повышение образования ХС в печени, снижение активности ЛХАТ, регургитация содержащегося в жёлчи лецитина, что способствует переходу в плазму тканевого холестерина. В то время как при остром холестазах иногда отмечается незначительное (в 1,5-2 раза) повышение уровня ХС, при хронических заболеваниях, особенно при послеоперационных стриктурах и первичном билиарном циррозе, этот показатель достигает очень больших значений. Недостаточное питание приводит к снижению уровня ХС в сыворотке, что объясняет нормальное содержание ХС у части больных с механической обструкцией жёлчных путей злокачественной опухолью.

Содержание эфиров ХС при холестазах снижается вследствие дефицита ЛХАТ. Уровень ТАГ повышается. В сыворотке выявляется аномальный липопротеин, который содержит большое количество свободного ХС и лецитина. Изменения эритроцитов при холестазах связаны с нарушением содержания ХС и ЛП.

Гепато-целлюлярное поражение. При повреждении гепатоцитов уровень ТАГ в сыворотке повышается в связи с накоплением ЛПНП, которые богаты ТАГ. Концентрация эфиров ХС снижена вследствие низкой активности фермента ЛХАТ. При циррозе печени уровень общего ХС в сыворотке обычно нормальный. Его снижение свидетельствует о нарушении питания или декомпенсации цирроза. При жировой печени алкогольной этиологии наряду с увеличением содержания ТАГ повышается уровень ЛПОНП. При поражении печени гепатотоксичными препаратами нарушение синтеза апопротеинов приводит к нарушению выведения ТАГ с ЛПОНП и развитию в последующем жирового перерождения.

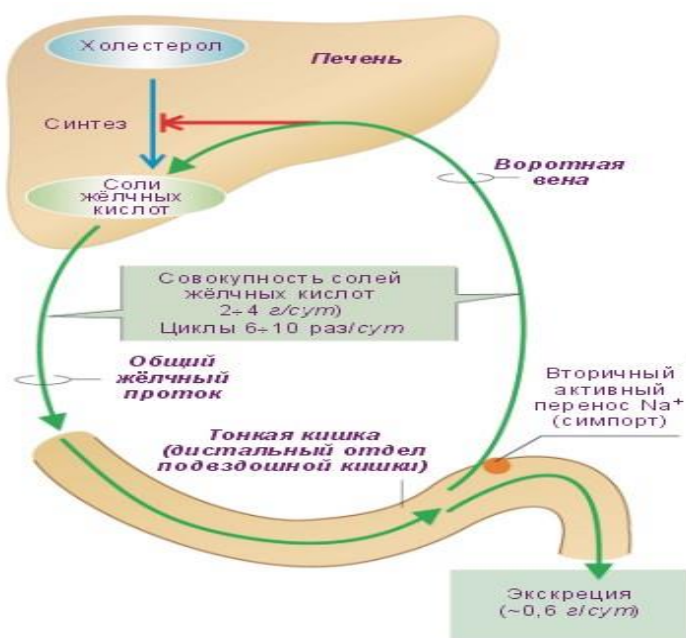
Жёлчные кислоты

Жёлчные кислоты (ЖК) образуются в печени. Ежедневно 250 - 500 мг ЖК синтезируется и теряется с калом. Из ХС синтезируются первичные ЖК: холевая и хенодезоксихолевая. Синтез регулируется количеством ЖК, которые возвращаются в печень в процессе энтерогепатической циркуляции. Под действием бактерий кишечника первичные ЖК подвергаются дегидроксилированию с образованием вторичных ЖК: дезоксихолевой и очень незначительного количества литохолевой. Третичные ЖК, в основном урсодезоксихолевая, образуются в печени путём изомеризации вторичных ЖК. В жёлчи человека количество тригидроксикислоты (холевой кислоты) приблизительно равно сумме концентраций двухдигидроксикислот - хенодезоксихолевой и дезоксихолевой.

ЖК соединяются в печени с аминокислотами глицином или таурином. Это предотвращает их всасывание в жёлчных путях и тонкой кишке, однако не предотвращает всасывания в терминальном отделе подвздошной кишки. Соли ЖК экскретируются в жёлчные каналы против большого градиента концентрации между гепатоцитами и жёлчью. Экскреция частично зависит от величины внутриклеточного отрицательного потенциала, который приблизительно равен 35 мВ и обеспечивает потенциалзависимую ускоренную диффузию, а также от опосредованного переносчиком (гликопротеином с молекулярной массой 100 кДа) процесса диффузии. Соли ЖК проникают в мицеллы и пузырьки, соединяясь с ХС и фосфолипидами. В верхних отделах тонкой кишки мицеллы солей ЖК, довольно крупные по размеру, обладают гидрофильными свойствами, что препятствует их абсорбции. Они участвуют в переваривании и всасывании липидов. В терминальном отделе подвздошной кишки и проксимальной части толстой кишки происходит всасывание ЖК, причём в подвздошной кишке всасывание происходит путём активного транспорта. Пассивная диффузия неионизированных ЖК происходит на всём протяжении кишечника и является наиболее эффективной в отношении неконъюгированных дигидрокси-ЖК. Пероральный приём урсодезоксихолевой кислоты нарушает всасывание хенодесоксихолевой и холевой кислот в тонкой кишке.

Абсорбированные соли ЖК попадают в систему воротной вены и в печень, где интенсивно захватываются гепатоцитами. Процесс происходит функционированию системы транспорта молекул через синусоидальную мембрану, основанной на градиенте натрия. В этом процессе участвуют также ионы хлора. Наиболее гидрофобные ЖК (несвязанные моно- и дигидрокси жёлчные кислоты), проникают в гепатоцит путём простой диффузии (по механизму «флип-флоп») через липидную мембрану. Остаётся неясным механизм транспорта ЖК через гепатоцит от синусоидов к жёлчным каналам. В этом процессе участвуют связывающие ЖК цитоплазматические белки. ЖК повторно конъюгируются и вновь выделяются в жёлчь.

Рис.5. Схема энтерогепатической циркуляции желчных кислот



При холестазах ЖК экскретируются с мочой путём активного транспорта и пассивной диффузии. ЖК сульфатируются, образующиеся конъюгаты активно секретируются почечными канальцами.

При патологических процессах в печени ЖК усиливают экскрецию с жёлчью воды, лецитина, ХС и связанной фракции билирубина.

Важную роль в образовании камней жёлчного пузыря играют нарушение экскреции жёлчи и дефект образования жёлчных мицелл. Это также приводит к стеаторее при холестазах.

ЖК, соединяясь с ХС и фосфолипидами, образуют взвесь мицелл, способствуют эмульгированию пищевых жиров, участвуя параллельно в процессе всасывания через слизистые оболочки. Снижение секреции ЖК вызывает

стеаторею. ЖК способствуют липолизу ферментами поджелудочной железы и стимулируют образование гормонов желудочно-кишечного тракта.

Нарушение внутрипеченочного метаболизма ЖК может играть важную роль в патогенезе холестаза.

Попадание ЖК в кровь у больных с желтухой приводит к образованию мишеневидных клеток в периферической крови и выведению конъюгированного билирубина с мочой. Если ЖК деконъюгируются бактериями тонкой кишки, образующиеся при этом свободные ЖК всасываются. Нарушается образование мицелл и всасывание жиров. Этим частично объясняется синдром мальабсорбции, осложняющий течение заболеваний, которые сопровождаются стазом кишечного содержимого и усиленным ростом бактерий в тонком кишечнике.

Удаление терминального отдела подвздошной кишки прерывает энтерогепатическую печёночную циркуляцию и способствует тому, что большое количество первичных ЖК достигает толстой кишки и дегидроксируется бактериями, тем самым снижая пул ЖК в организме. Увеличение количества ЖК в толстой кишке вызывает диарею со значительной потерей воды и электролитов.

Обмен аминокислот

Аминокислоты, поступающие в организм с пищей, метаболизируются в печени. Часть из них подвергается трансаминированию или дезаминированию. Другая часть аминокислот превращается в аммиак и мочевины (орнитиновый цикл). При хронических заболеваниях печени максимальная скорость образования мочевины существенно снижается. Повышение концентрации аммиака в крови также свидетельствует о нарушении синтеза мочевины и сопровождается развитием печёночной энцефалопатии.

Диагностическое значение изменения уровня аминокислот

Аминоацидурия - поражения паренхимы печени. У больных с тяжёлым заболеванием печени характерным признаком является повышение уровня метионина и ароматических аминокислот тирозина и фенилаланина в плазме и снижение уровня аминокислот с разветвлённой цепью валина, лейцина и изолейцина. Эти изменения можно объяснить нарушением функции печени, портосистемным шунтированием крови и повышением концентрации в крови инсулина и глюкогона. У больных с минимальным поражением печени также отмечаются изменения уровня аминокислот, в частности снижение уровня пролина в плазме, что, возможно, свидетельствует о повышении синтеза коллагена. Наличие или отсутствие печёночной энцефалопатии не влияет на соотношение аминокислот с разветвлённой цепью и ароматических аминокислот.

Определение уровня белков в плазме

На полирибосомах шероховатой эндоплазматической сети гепатоцитов, синтезируются белки плазмы откуда они затем попадают в плазму. Снижение их уровня обычно отражает нарушение синтеза белков в печени, хотя может быть вызвано уменьшением объёма циркулирующей плазмы и потерей белка через кишечник или с мочой.

Гепатоциты синтезируют альбумин, фибриноген, α 1-антитрипсин, гаптоглобин, церулоплазмин, трансферрин и протромбин и др. Некоторые образующиеся в печени белки относят к белкам острой фазы. Их уровень в плазме повышается в ответ на повреждение ткани, например при воспалительных процессах. К этим белкам относят фибриноген, гаптоглобин, α 1-антитрипсин, компонент С3 комплемента и церулоплазмин. Ответ острой фазы может обусловить повышение уровня этих белков в сыворотке даже при сопутствующем поражении ткани печени.

Механизм ответа острой фазы сложный; показана роль в его реализации цитокинов (интерлейкина-1, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли). Интерлейкин-6 связывается с рецептором на поверхности гепатоцита, что стимулирует передачу сигнала от мембраны гепатоцита к ядру. В ядре происходит индукция синтеза специфических ядерных факторов с промоторными локусами на 5'-конце генов некоторых белков острой фазы. Существуют также посттранскрипционные и транскрипционные механизмы регуляции. Цитокины не только стимулируют синтез белков острой фазы, но также подавляют образование альбумина, трансферрина и ряда других белков

Таблица 4 .

Белки, синтезирующиеся в печени

Белок	Референсные значения
Альбумин	40-50 г/л
α 1-антитрипсин	2-4 г/л
α -фетопротеин	менее 10 мкг/л
α ₂ -макроглобулин	2,2-3,8 г/л
Церулоплазмин	0,2-0,4 г/л
Трансферрин	2-3 г/л
Фибриноген	2-4 г/л
Гемопексин	0,8-1,0 г/л

Дефицит *α 1-антитрипсина* относится к генетическим наследственным заболеваниям.

Гаптоглобин представляет собой гликопротеин, состоящий из полипептидных цепей α и β , которые ковалентно соединены между собой дисульфидными связями. Гаптоглобин образуется преимущественно в гепатоцитах. Низкий уровень гаптоглобина наблюдается при тяжёлом хроническом заболевании печени и гемолитическом кризе.

Церулоплазмин (ферро-О₂-оксидоредуктаза) представляет собой мультифункциональный медьсодержащий белок, осуществляющий неспецифическую антиоксидантную защиту организма. При болезни Вильсона уровень церулоплазмينا снижен. Низкая концентрация церулоплазмينا наблюдается при тяжёлом декомпенсированном циррозе печени другой этиологии (не связанной с болезнью Вильсона). Высокий уровень церулоплазмينا можно выявить у беременных, при лечении эстрогенами и при обструкции крупных жёлчных протоков.

Уровень *компонента С3 комплемента* при циррозе печени снижен, при хроническом гепатите в пределах нормы, а при компенсированном билиарном циррозе повышен. Снижение содержания компонента С3 комплемента объясняется также повышенным потреблением белков системы комплемента вследствие её активации. Преходящее снижение уровня компонента С3 комплемента обнаруживают на ранней иммунокомплексной стадии острого гепатита В.

Альфа-фетопротеин (АФП) – белок сыворотки крови развивающегося эмбриона человека. У взрослых он почти полностью исчезает из крови вскоре после рождения, но появляется при развитии гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), а также раке яичка и яичников. Экспрессия гена АФП в печени происходит при процессах некроза и воспаления в печени, сопровождающихся нарушением межклеточного взаимодействия гепатоцитов.

В наибольшей степени клеточно-матричные взаимодействия в печени нарушаются при ГЦК, что подтверждается тем, что самые высокие сывороточные уровни АФП регистрируются именно при этой патологии, а его концентрация зависит от объема и темпов роста опухоли. Кроме этого, повышенные уровни АФП являются фактором риска развития ГЦК у больных циррозом печени. Повышение уровня АФП характерно и для ЦП, поскольку при этом заболевании также нарушаются клеточно-матричные взаимодействия гепатоцитов вследствие усиления фиброобразования в печени.

Углеводный обмен.

Печень играет основную роль в обмене углеводов. Механизмы его нарушения при циррозе сложны и раскрыты не полностью.

У больных циррозом печени при исследовании натошак уменьшается роль углеводов как источника энергии и увеличивается доля жиров. Это может быть обусловлено уменьшением образования глюкозы печенью или снижением запаса гликогена в печёночной ткани. После приёма пищи у больных циррозом печени, как и у здоровых людей, отмечается быстрая утилизация пищевых углеводов, которая выражена даже в большей степени из-за нарушения способности печени к их депонированию. Это сопровождается мобилизацией триглицеридов в качестве источника энергии

Пигментный обмен.

Обмен билирубина

Билирубин - тетрапиррольный пигмент с молекулярной формулой C₃₃H₅₆N₄O₆ и молекулярной массой 584,65 Д. Он образуется в процессе катаболизма геминовой части гемоглобина (протопорфирина IX) эритроцитов, закончивших свой жизненный цикл. Кроме того, билирубин может образоваться при катаболизме других гемсодержащих белков

(миоглобин, каталаза, пероксидаза), правда, в значительно меньших количествах. При средней продолжительности жизни эритроцитов 120 дней в сутки в организме формируется билирубин в количестве $3,8 \pm 0,6$ мг/кг массы тела.

Эритроцит подвергается разрушению главным образом в клетках РЭС печени и селезенки, лимфатических узлов и костного мозга. При старении эритроцитов снижается содержание сиаловых кислот в составе гликопротеинов цитоплазматической мембраны. Измененные углеводные компоненты гликопротеинов мембран эритроцитов связываются с рецепторами клеток РЭС, и эритроциты поглощаются клетками путем эндоцитоза. Процессу распада подвергается содержащийся в эритроцитах гемоглобин. Вначале происходит разрыв метанового мостика между I и II пиррольными ядрами порфиринового кольца с одновременным окислением Fe^{2+} в Fe^{3+} при участии ферментативного комплекса *гемоксигеназы*. Образовавшийся таким образом пигмент получил название *вердоглобин*. Дальнейшие превращения приводят к потере вердоглобином железа и глобина. Железо при этом пополняет запасы депо, глобин гидролизуется ферментами лизосом с образованием свободных аминокислот, используемых организмом для синтеза белка. Порфириновое же кольцо гема разворачивается в цепь с формированием желчного пигмента зеленого цвета - биливердина. Биливердин восстанавливается при участии фермента *биливердинредуктазы* в основной и важнейший красно-желтый пигмент желчи - *билирубин*. При распаде 1 г гемоглобина образуется 35 мг билирубина.

Этот образовавшийся в клетках РЭС билирубин:

Нерастворим в воде, поэтому не проходит через почечный фильтр;

1. Хорошо растворим в липидах, поэтому:

- легко проникает через липидный слой мембран клеток;
- способен накапливаться в тканях, богатых липидами (особенно в нервной ткани);

2. Обладает выраженной токсичностью, так как нарушает процессы окислительного фосфорилирования в клетках, нарушает синтез белка, поток ионов калия через мембраны клеток.

3. Непрямой, так как дает реакцию с диазореактивом только после перехода в растворимое соединение при добавлении акселератора (кофеина).

Билирубин, образовавшийся вне печени, циркулирует в крови в нековалентной связи с альбумином. Это препятствует обратной диффузии билирубина в ткани и, возможно, способствует его целенаправленному поступлению в печень. Некоторые эндогенные и экзогенные вещества способны вытеснять билирубин из его связи с альбумином.

Билирубин, связанный с альбумином, попадает в печени через поры эндотелиальных клеток в пространство Диссе и непосредственно контактирует с синусоидальной мембраной гепатоцитов. В мембрану встроены транспортные белки для билирубина, которые облегчают его поступление в клетку путем диффузии. Транспортная функция самого важного в количественном отношении транспортного белка зависит как от ионов натрия, так и от ионов хлора. Для данного белка характерна кинетика насыщения, и он обеспечивает транспорт как непрямого, так и прямого билирубина. За этот транспортный белок конкурируют лекарственные препараты и другие экзогенные вещества.

Билирубин, поступивший внутрь клетки, связывается с белками. Таким образом может обеспечиваться его накопление в нетоксичной форме и предотвращаться его обратная диффузия в кровь. Самым важным внутриклеточным белком связывания является лигандин - изофермент или субъединица глутатиона-S-трансферазы. Конъюгация билирубина в печеночных клетках представляет собой главный этап в обмене билирубина и служит предпосылкой его последующей экскреции с желчью. При конъюгации оба остатка пропионовой кислоты билирубина подвергаются этерификации с глюкуроновой кислотой. При этом вначале возникает моноглюкуронид, а затем - билирубин-диглюкуронид.

Неконъюгированный билирубин представляет собой неполярное (жирорастворимое) вещество. В реакции конъюгации он превращается в полярное (водорастворимое вещество) и может благодаря этому выделяться в желчь. Эта реакция протекает с помощью микросомального фермента уридиндифосфатглюкуронилтрансферазы (УДФГТ), превращающего неконъюгированный билирубин в конъюгированный моно- и диглюкуронид билирубина. УДФГТ является одной из нескольких изоформ фермента, обеспечивающих конъюгацию эндогенных метаболитов, гормонов и нейротрансмиттеров.

Ген УДФГТ билирубина находится на 2-й паре хромосом. Структура гена сложная. У всех изоформ УДФГТ постоянными компонентами являются экзоны 2 - 5 на 3'-конце ДНК гена. Для экспрессии гена необходимо вовлечение одного из нескольких первых экзонов.

Детали строения гена важны для понимания патогенеза неконъюгированной гипербилирубинемии (синдромы Жильбера и Криглера-Найяра), когда в печени содержание ферментов, ответственных за конъюгацию, снижено или они отсутствуют.

Активность УДФГТ при печёночно-клеточной желтухе поддерживается на достаточном уровне, а при холестазах даже увеличивается. У новорождённых активность УДФГТ низкая.

У человека в жёлчи билирубин представлен в основном диглюкуронидом. Превращение билирубина в моноглюкуронид, а также в диглюкуронид происходит в одной и той же микросомальной системе глюкуронилтрансферазы. При перегрузке билирубином, например при гемолизе, образуется преимущественно моноглюкуронид, а при уменьшении поступления билирубина или при индукции фермента возрастает содержание диглюкуронида.

Наиболее важное значение имеет конъюгация с глюкуроновой кислотой, однако небольшое количество билирубина конъюгируется с сульфатами, ксилозой и глюкозой; при холестазах эти процессы усиливаются.

В поздних стадиях холестатической или печёночно-клеточной желтухи, несмотря на высокое содержание в плазме, билирубин в моче не выявляется. Очевидно, причиной этого является образование билирубина типа III, моноконъюгированного, который ковалентно связан с альбумином. Он не фильтруется в клубочках и, следовательно, не появляется в моче. Это снижает практическую значимость проб, применяемых для определения содержания билирубина в моче.

Экскреция билирубина в каналцы происходит с помощью семейства АТФ-зависимых мультиспецифичных транспортных белков для органических анионов. Скорость транспорта билирубина из плазмы в жёлчь определяется этапом экскреции глюкуронида билирубина.

Жёлчные кислоты переносятся в жёлчь с помощью другого транспортного белка. Наличие разных механизмов транспорта билирубина и жёлчных кислот можно проиллюстрировать на примере синдрома Дубина-Джонсона, при котором нарушается экскреция конъюгированного билирубина, но сохраняется нормальная экскреция жёлчных кислот. Большая часть конъюгированного билирубина в жёлчи находится в смешанных мицеллах, содержащих холестерин, фосфолипиды и жёлчные кислоты. Значение аппарата Гольджи и микрофиламентов цитоскелета гепатоцитов для внутриклеточного транспорта конъюгированного билирубина пока не установлено.

Далее конъюгированный билирубин вместе с другими компонентами желчи поступает в тонкий кишечник, поступившие билирубинглюкурониды гидролизуются специфическими бактериальными ферментами (β -глюкуронидазами, которые гидролизуют связь между билирубином и остатком глюкуроновой кислоты). Освободившийся в ходе этой реакции билирубин под действием кишечной микрофлоры восстанавливается с образованием бесцветных тетрапиррольных соединений - *уробилиногенов*. В тонком кишечнике часть уробилиногена (мезобилиноген -15-20%) вновь всасывается и с кровью воротной вены поступает в печень, где окисляется с образованием *пирролов*, которые выводятся далее с желчью в кишечник. Поэтому в физиологических условиях уробилиногена нет ни в общей системе кровотока, ни в моче.

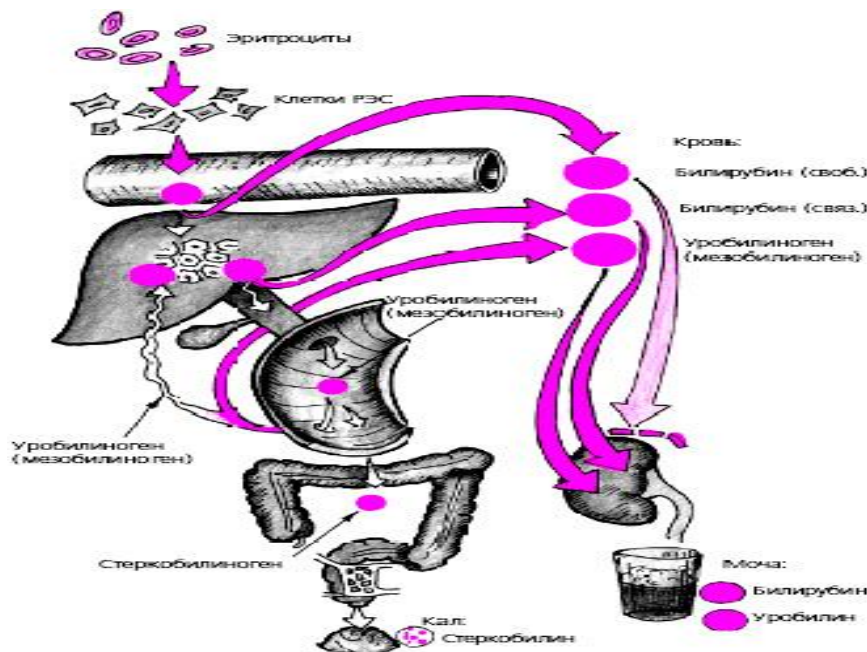
В толстом кишечнике уробилиноген под действием ферментов микрофлоры кишечника переходит в *стеркобилиноген*.

В нижних отделах толстого кишечника часть стеркобилиногена всасывается стенкой кишечника и по системе геморроидальных вен попадает в общую систему кровотока и оттуда в мочу.

Так называемый *уробилин* мочи, в сущности, представляет собой преимущественно окисленный стеркобилиноген, а при заболеваниях печени к последнему добавляется уробилиноген из-за неспособности печени к его утилизации. На воздухе оба соединения быстро окисляются, переходя в окрашенные в красно-коричневый цвет продукты, обозначаемые общим термином - уробилиновые тела (уробилиноиды).

В толстом кишечнике большая часть стеркобилиногена окисляется до стеркобилина, обуславливающего нормальную окраску кала.

Рис.6. Обмен билирубина в норме



Дифференциальная диагностика желтух.

Возрастание уровня общего билирубина в сыворотке крови до уровня выше 20,5 мкмоль/л называется *гипербилирубинемией*. Это состояние может быть следствием образования билирубина в большем количестве, чем то, которое нормальная печень может экскретировать; повреждений печени, нарушающих экскрецию билирубина в нормальных количествах, а также вследствие закупорки желчевыводящих протоков печени, что препятствует выведению билирубина. Во всех этих случаях билирубин накапливается в крови и по достижении определенных концентраций диффундирует ткани, окрашивая их в желтый цвет. Это состояние называется желтухой. В зависимости от того, какой тип билирубина присутствует в сыворотке крови ~~не~~конъюгированный (непрямой) или конъюгированный (прямой), гипербилирубинемия классифицируется как неконъюгированная I и регургитационная (конъюгированная) соответственно. В клинической практике наиболее широкое распространение получило деление желтух на гемолитические, паренхиматозные и обтурационные. Гемолитические и паренхиматозные желтухи-это неконъюгированная, а обтурационные конъюгированная гипербилирубинемия. В некоторых случаях желтуха может быть смешанной по патогенезу.

Увеличение содержания билирубина в крови может обуславливаться следующими причинами:

1. увеличение интенсивности гемолиза эритроцитов;
2. поражение паренхимы печени с нарушением ее билирубинвыделительной функции;
3. нарушение оттока желчи из желчных путей в кишечник;
4. выявление ферментного звена, обеспечивающего биосинтез глюкуроноидов билирубина.
5. нарушение печеночной секреции конъюгированного (прямого) билирубина в желчь.

Гемолитическая желтуха. Увеличение интенсивности гемолиза наблюдается при гемолитических анемиях. Гемолиз также может быть усилен при B12-дефицитных анемиях, малярии, массивных кровоизлияниях в ткани, легочных инфарктах, при синдроме размозжения (неконъюгированная гипербилирубинемия). В результате усиленного гемолиза происходит интенсивное образование в ретикулоэндотелиальных клетках свободного билирубина из гемоглобина. В то же время печень оказывается неспособной к образованию столь большого количества билирубинглюкуроноидов, что и приводит к накоплению свободного билирубина (непрямого) в крови и тканях. Однако даже при значительном гемолизе неконъюгированная гипербилирубинемия обычно незначительна (менее 68,4 мкмоль/л) вследствие большой способности

печени к конъюгированию билирубина. Помимо увеличения уровня **общего** билирубина, при гемолитической желтухе повышается выделение уробилиногена с мочой и калом, так как он образуется в кишечнике в большом количестве.

Наиболее частой формой неконъюгированной гипербилирубинемии является «физиологическая желтуха» у новорожденных. Причинами ее являются гемолиз эритроцитов и незрелое состояние печеночной системы поглощения, конъюгации (сниженная активность УДФ-глюкуронилтрансферазы) и секреции билирубина.

В связи с тем, что билирубин, накапливающийся в крови находится в неконъюгированном (свободном) состоянии, когда его концентрация в крови превышает уровень насыщения альбумина (34.2-42,75 мкмоль/л), он способен преодолевать гематоэнцефалический барьер. Это может привести к гипербилирубинемической токсической энцефалопатии.

При *гепатоцеллюлярной (паренхиматозной) желтухе*, наступает деструкция гепатоцитов, нарушается экскреция прямого (конъюгированного) билирубина в желчные капилляры, и он попадает непосредственно в кровь, где содержание его значительно увеличивается. Кроме того, снижается способность печеночных клеток синтезировать билирубин-глюкурониды, вследствие чего количество непрямого билирубина также увеличивается. Повышение концентрации в крови прямого билирубина приводит к его появлению в моче вследствие фильтрации через мембрану почечных клубочков. Непрямой билирубин, несмотря на увеличение концентрации в крови в мочу не поступает. Поражение гепатоцитов сопровождается нарушением их способности разрушать до ди- и трипирролов всосавшийся из тонкого кишечника мезобилиноген (уробилиноген). Повышение содержания уробилиногена в моче может наблюдаться еще в дожелтушный период. В разгар вирусного гепатита возможно снижение и даже исчезновение уробилиногена в моче. Это объясняется тем, что увеличивающийся застой желчи в печеночных клетках ведет к уменьшению выделения билирубина и, следовательно, к уменьшению образования уробилиногена в желчевыводящих путях. В дальнейшем, когда функция печеночных клеток начинает восстанавливаться, желчь выделяется в большом количестве, при этом снова появляется уробилиноген в больших количествах, что в данной ситуации расценивается как благоприятный прогностический признак. Стеркобилиноген попадает в большой круг кровообращения и выделяется почками с мочой в виде уробилина.

Основными причинами паренхиматозных желтух являются острые и хронические гепатиты, циррозы печени, токсичные вещества (хлороформ, четыреххлористый углерод, ацетаминофен), массивное распространение в печени раковой опухоли, альвеолярный эхинококк и множественные абсцессы печени.

При вирусных гепатитах степень билирубинемии в какой-то мере коррелирует с тяжестью заболевания. Так, при гепатите В при легкой форме течения заболевания содержание билирубина не выше 90 мкмоль/л (5 мг%), при среднетяжелой - в пределах 90-170 мкмоль/л (5-10 мг%), при тяжелой - свыше 170 мкмоль/л (выше 10 мг%). При развитии печеночной комы билирубин может повышаться до 300 мкмоль/л и более. Однако следует иметь в виду, что степень повышения билирубина в крови не всегда зависит от тяжести патологического процесса, а может быть обусловлена темпами развития вирусного гепатита и печеночной недостаточности.

Обтурационная (обструктивная, подпеченочная) желтуха обусловлена обструкцией вне- или внутривнутрипеченочных желчных путей, которая вызывает частичное или полное прекращение оттока желчи. При обтурации общего желчного протока (камень, воспаление, опухоль и т. д) из-за скопления

Таблица 5.

Основные показатели при заболеваниях, проявляющихся желтухой

	ЖКБ	Рак дуоденального сосочка	Вирусный гепатит острая фаза	Лекарственная желтуха Холестатическая
Зуд	+	+	Преходящий	+
Скорость развития желтухи	Развивается медленно	Развивается медленно	Развивается быстро	Развивается быстро
Особенности желтухи	«Флуктуирующая» или постоянная	Развивается в большинстве случаев, но не	Развивается быстро, медленно, уменьшается по	Выражена в различной степени, обычно мягкая

		всегда	мере выздоровления	
Выраженность желтухи	Умеренная	Значительная	Различная	Различная, иногда сопровождается высыпаниями
Кал (цвет)	Периодически светлый	Светлый	Различный, от белого до темного	Светлый
Скрытая кровь	-	+	-	-
Моча: уробилиноген или уробилин	+	Нет	Отсутствует в начале заболевания, появляется в дальнейшем	Отсутствует в начале заболевания
Уровень билирубина в сыворотке, мкмоль/л	Обычно 50 - 170	Неуклонное повышение до 250 - 500	Зависит от тяжести болезни	Различный
Активность ЩФ	Более чем в 3 раза выше нормы	Более чем в 3 раза выше нормы	Менее чем в 3 раза выше нормы	Более чем в 3 раза выше нормы
Активность АсАТ	Менее чем в 5 раз выше нормы	Менее чем в 5 раз выше нормы	Более чем в 10 раз выше нормы	Более чем в 5 раз выше нормы

желчи в печеночных капиллярах желчь (прямой, конъюгированный билирубин) проходит в кровеносные капилляры между оболочками печеночных клеток (гепатоцитов). Уровень конъюгированного билирубина в плазме крови нарастает, а затем превышает почечный порог. Почечный фильтр свободно пропускает прямой билирубин. Билирубинурия при обтурационных желтухах - явление постоянное. Снижение содержания билирубина в моче или его полное исчезновение указывает на частичное или полное восстановление проходимости желчных путей. Желтуха прогрессирует, в сыворотке повышаются уровень конъюгированного билирубина, активность печёночной фракции ЩФ, ГГТП, а также уровень общего холестерина и конъюгированных жёлчных кислот. Вследствие стеатореи уменьшается масса тела и нарушается всасывание витаминов А, Д, Е, К, а также кальция.

Наследственные гипербилирубинемии.

Хотя обычно за верхнюю границу нормального уровня билирубина в сыворотке принимают 20 мкмоль/л (0,8 мг%), почти у 5% здоровых доноров крови выявляются более высокие концентрации (22-50 мкмоль/л). Если исключить пациентов с гемолизом или заболеванием печени, остаются лица с наследственными нарушениями обмена билирубина. Наиболее распространенное из них синдром Жильбера. Выделяют также другие синдромы. Прогноз при этих нарушениях обмена билирубина благоприятный. Диагноз основывается на данных семейного анамнеза, продолжительности заболевания, отсутствии стигм печёночно-клеточного поражения и спленомегалии, гемолиза, нормальной активности сывороточных трансаминаз и при необходимости - на данных биопсии печени.

Синдром Жильбера

Синдром определяют как доброкачественную семейную неконъюгированную гипербилирубинемии умеренной выраженности (концентрация билирубина в сыворотке в пределах 17-85 мкмоль), не связанную с гемолизом и имеющую доброкачественное течение. Гипербилирубинемия носит семейный характер и не сопровождается нарушением биохимических показателей функции печени. Прогноз благоприятный. Желтуха выражена умеренно и имеет интермиттирующий характер.

При синдроме Жильбера снижается связывание билирубина с глюкуроновой кислотой в печени до 30% от нормального. В жёлчи увеличивается содержание преимущественно моноглюкуронида билирубина и в меньшей степени диглюкуронида.

Таблица 6.

Изолированное повышение уровня билирубина в сыворотке

Тип билирубина	Диагностические критерии
<i>Неконъюгированный</i>	

Гемолиз	Спленомегалия. Ретикулоцитоз. Проба Кумбса
Синдром Жильбера	Уровень билирубина в сыворотке повышается при голодании и снижается при приёме фенобарбитала. Активность трансаминаз нормальная
Синдром Криглера - Найяра: тип 1	Отсутствие в печени ферментов, осуществляющих конъюгацию. Смерть обычно наступает в раннем возрасте на фоне ядерной желтухи
Синдром Криглера - Найяра: тип 2	Отсутствие в печени ферментов, осуществляющих конъюгацию, или снижение их содержания.
Конъюгированный	
Синдром Дубина-Джонсона	Повышение уровня преимущественно конъюгированного билирубина активность ЩФ и уровень жёлчных кислот в сыворотке сохраняются в пределах нормальных значений.
Синдром Ротора	При биопсии печени патологические изменения не выявляются. Холецистографическая картина нормальная. При бромсульфалеиновой пробе краситель не захватывается

В основе синдрома Жильбера лежит генетический дефект наличие на промоторном участке гена, кодирующего УДФГТ 1*1, дополнительного динуклеотида. Этот дефект наследуется по аутосомно-рецессивному типу, поэтому для развития заболевания больной должен быть гомозиготным по данному аллелю. Удлинение промоторной последовательности нарушает связывание фактора транскрипции, а это приводит в свою очередь к уменьшению образования фермента УДФГТ 1, но одного только снижения синтеза ферментов недостаточно для развития синдрома Жильбера; необходимо наличие других факторов, например, скрытого гемолиза и нарушения транспорта билирубина в печени.

Синдром Жильбера может сочетаться с повышением активности ЩФ кишечного происхождения.

Если парацетамол не связывается с глюкуроновой кислотой, он катаболизируется в системе цитохрома P450 с образованием токсичного метаболита. При синдроме Жильбера наследственная недостаточность УДФГТ предрасполагает к проявлению токсического действия парацетамола, особенно при приёме его больших доз.

Синдром Криглера-Найяра

При этой форме семейной негемолитической желтухи уровень неконъюгированного билирубина в сыворотке очень высок. В печени можно выявить недостаточность конъюгирующего фермента.

Тип 1

Синдром Криглера-Найяра типа 1 наследуется по аутосомно-рецессивному типу. В печени отсутствует активность конъюгирующего фермента, в жёлчи конъюгированный билирубин. В сыворотке не обнаруживаются глюкурониды билирубина. Поскольку уровень билирубина в сыворотке со временем стабилизируется, следует предположить существование альтернативного пути метаболизма билирубина.

Обычно, хотя и не всегда, больные погибают в течение первого года жизни на фоне ядерной желтухи. Приём фенобарбитала неэффективен.

Тип 2

Синдром Криглера-Найяра типа 2 также наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Активность фермента, осуществляющего конъюгацию билирубина в печени, значительно снижается и не определяется обычными методами. Назначение фенобарбитала приводит к выраженному эффекту, и больные доживают до взрослого возраста.

У некоторых родственников больных с синдромом Криглера-Найяра выявляется повышение уровня билирубина в сыворотке, которое хотя и не столь высокое, как у больных, но превышает его уровень при синдроме Жильбера. Синдром Криглера-Найяра типа 2 не всегда протекает доброкачественно, и для обеспечения уровня билирубина ниже 450 мкмоль/л (26 мг%)

Синдром Дубина - Джонсона

Хроническое доброкачественное заболевание, проявляющееся непостоянной желтухой с повышением уровня преимущественно конъюгированного билирубина и билирибинурией. Он наследуется по аутосомно-рецессивному типу. В основе синдрома лежит ухудшение транспорта в жёлчь многих органических анионов, не относящихся к жёлчным кислотам, которое обусловлено дефектом АТФ-зависимой транспортной системы канальцев. Синдром Дубина -

Джонсона не сопровождается зудом; активность ЩФ и уровень жёлчных кислот в сыворотке сохраняются в пределах нормальных значений.

Экскреция органических анионов в жёлчь нарушается. Их поглощение печенью не страдает. Заболевание может впервые проявиться желтухой при беременности или на фоне приёма пероральных контрацептивов (оба эти состояния вызывают ухудшение экскреторной функции печени). Прогноз благоприятный.

Синдром Ротора

Синдром Ротора (хроническая семейная негемолитическая желтуха с конъюгированной гипербилирубинемией и нормальной гистологией печени без неидентифицированного пигмента в гепатоцитах) имеет наследственную природу, передается аутосомно-рецессивным путем. Патогенез синдрома Ротора аналогичен патогенезу синдрома Дубина - Джонсона, но дефект экскреции билирубина выражен меньше.

Основные синдромы при заболеваниях печени.

Различают следующие основные синдромы:

1. Цитолитический синдром (цитоллиз) возникает вследствие нарушения структуры клеток печени, увеличения проницаемости мембран, как правило, за счет усиления процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и выхода ферментов в кровь. При цитолитическом синдроме в кровь попадают как цитоплазматические, так и митохондриальные компоненты ферментов, однако основной уровень активности определяют цитоплазматические изоферменты. Цитоллиз сопровождается, в основном, острыми заболеваниями печени и увеличивается при обострении хронических. Выделяют следующие основные механизмы цитолиза:

1. токсический цитоллиз (вирусный, алкогольный, лекарственный);
2. иммунный цитоллиз, в т.ч. аутоиммунный;
3. гидростатический;
4. гипоксический ("шоковая печень" и др.);
5. опухолевый цитоллиз;
6. цитоллиз, связанный с недостатком питания и неполноценностью пищи.

Основными доступными маркерами цитолиза при остром гепатите являются аланиновая (АлАТ) и аспарагиновая (АсАТ) трансаминазы, гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП), лактатдегидрогеназа (ЛДГ).

Повышение активности АлАТ и АсАТ наблюдается у 88-97% пациентов в зависимости от вида гепатита. Максимум активности характерен для 2-3-ей недели заболевания, и возвращение к норме на 5-6 неделе. Превышение сроков нормализации активности является неблагоприятным фактором. Активность АлАТ > АсАТ, что связано с распределением АсАТ между цитоплазмой и митохондриями. Преимущественное повышение АсАТ связано с повреждением митохондрий и наблюдается при более тяжелых повреждениях печени, особенно алкогольных. Активность трансаминаз повышается умеренно (в 2-5 раз) при хронических заболеваниях печени, чаще в фазе обострения, и опухолях печени. Для циррозов печени повышение активности трансаминаз, как правило, не характерно.

АсАТ повышается при остром гепатите и других тяжелых поражениях гепатоцитов. Умеренное увеличение наблюдается при механической желтухе, у больных с метастазами в печень и циррозом. *Коэффициент де Ритуса*, то есть отношение АсАТ/АлАТ (в норме равен 1,33) при заболеваниях печени ниже этой величины, а при заболеваниях сердца - выше.

Уровень активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) в норме 7-41 МЕ\л.

При заболеваниях печени в первую очередь и наиболее значительно по сравнению с АсАТ изменяется активность АлАТ. При остром гепатите, независимо от его этиологии, активность аминотрансфераз повышается у всех больных. Особенно изменяется активность АлАТ, содержащейся в цитоплазме, что способствует быстрому выходу ее из клетки и поступлению в кровяное русло, поэтому АлАТ является более чувствительным тестом ранней диагностики острого гепатита, чем АсАТ. Период полураспада около 20 часов, реагирует на более тяжелые повреждения гепатоцита. При остром вирусном гепатите АлАТ и АсАТ повышаются за 10-15 дней до появления желтухе при гепатите А, и за много недель при гепатите В, причем повышаются они одновременно, но АлАТ - значительно больше. При типичном течении

вирусного гепатита активность АлАТ достигает максимума на 2-3 неделе заболевания. При благоприятном его течении активность АлАТ нормализуется через 30-40 суток, активность АсАТ - через 25-35 суток. Повторное или прогрессирующее повышение активности аминотрансфераз свидетельствует о новом некрозе или рецидиве болезни. Удлинение периода повышенной активности аминотрансфераз часто является неблагоприятным признаком, т.к. может свидетельствовать о переходе острого процесса в хронический.

Для хронических гепатитов характерна умеренная и средняя гиперферментемия.

При латентных формах цирроза печени активность фермента, как правило, не повышена. При активных формах стойкий, хотя и незначительный, подъем активности аминотрансфераз встречается в 74-77% случаев.

Повышение активности АлАТ и АсАТ может быть выявлено и у практически здоровых носителей поверхностного антигена гепатита В, что указывает на наличие внешне бессимптомных активных процессов в печени.

Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ, ГГТП, γ -ГТ) содержится в цитоплазме (низкомолекулярная изоформа) и связана с мембранами билиарного полюса (высокомолекулярная изоформа). Повышение ее активности может быть связано с цитолизом, холестазом, интоксикацией алкоголем или лекарствами, опухолевым ростом, поэтому повышение активности ГГТП не является специфическим для того или иного заболевания, но в определенной мере универсальным или скрининговым для заболеваний печени, хотя предполагает дополнительные поиски причины заболевания. Фермент более чувствителен к нарушениям в клетках печени, АлАТ, АсАТ, щелочная фосфатаза, сукцинатдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа и т.д.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) повышается при многих заболеваниях. Диагностическое значение суммарной активности невелико и ограничивается определением для исключения опухолевого и гемолитического процессов, а также для дифференциальной диагностики синдрома Жильбера (нормальная) и хронического гемолиза (повышена). Для диагностики заболеваний печени более значима оценка печеночного изофермента ЛДГ - ЛДГ₅.

При остром вирусном гепатите активность ЛДГ в сыворотке крови увеличена в первые дни желтушного периода, и при легкой и среднетяжелой формах заболевания довольно быстро возвращается к нормальному уровню. Тяжелые формы вирусного гепатита, и особенно развитие печеночной недостаточности, сопровождаются выраженным и более длительным повышением ЛДГ.

При механической желтухе на первых стадиях закупорки желчных протоков активность ЛДГ в норме, на более поздних стадиях наблюдается подъем активности вследствие вторичных повреждений печени.

При карциномах печени или метастазах рака в печень может иметь место подъем активности ЛДГ.

2. Холестатический синдром (холестаза) характеризуется нарушением секреции желчи. Некоторые авторы выделяют редкую безжелтушную форму холестаза, связанную с изменением нормальных соотношений компонентов желчи (гормональные сдвиги, нарушения кишечно-печеночной циркуляции холестерина). Выделяют внутripеченочной холестаза, связанный с нарушением секреции желчи гепатоцитом или нарушением формирования желчи в желчных ходах, и внепеченочный холестаза, обусловленный обтурацией желчных протоков камнем, опухолью, или введением лекарств, вызывающих холестаза. При холестазе в плазму крови попадают и накапливаются вещества, которые у здоровых людей выводятся с желчью, а также повышается активность так называемых индикаторных ферментов холестаза. Типичная желтушная форма холестаза характеризуется кожным зудом и желтухой.

При холестазе повышается содержание желчных кислот; билирубина с преимущественным увеличением конъюгированного, входящего в состав желчи (холебилирубина); холестерина и β - липопротеидов; активности ферментов ЩФ, ГГТП, 5-нуклеотидазы.

Щелочная фосфатаза (ЩФ) проявляет свою активность при pH 9-10, содержится в печени, кишечнике, костной ткани, однако главным выделительным органом является печень. В гепатоците ЩФ связана с мембранами билиарного полюса и микроворсинками эпителия желчных ходов. Причинами гиперферментемии являются задержка выведения фермента в желчь и индукция синтеза фермента, зависящая от блока кишечно-печеночной циркуляции. Повышение активности при заболеваниях печени чаще всего указывает на холестаза, при котором активность фермента повышается на

4-10 день до 3-х и более раз, а также на опухоли печени. При повышении активности ЩФ следует проводить дифференциальную диагностику с заболеваниями костей.

5-нуклеотидаза относится к группе щелочных фосфатаз, изменяется параллельно с ними, но повышение ее активности связано исключительно с холестазом.

ГГТП также является мембраносвязанным ферментом и при холестазе повышается за счет активации синтеза. Исследование ГГТП при холестазе считается обязательным.

Нарушение экскреции желчи приводит к нарушению эмульгирования жиров и снижению всасывания жирорастворимых веществ в кишечнике, в том числе витамина К. Снижение содержания витамина К в организме приводит к уменьшению синтеза витамин-К-зависимых факторов свертывания крови и снижению протромбинового индекса (**ПТИ**).

3. Гепатодепрессивный синдром включает любые нарушения функции печени, не сопровождающиеся энцефалопатией. Синдром наблюдается при многих заболеваниях печени, но наиболее выражен при хронических процессах. Наименее устойчивой при заболеваниях печени является синтетическая функция, и в первую очередь снижается синтез тех веществ, которые образуются преимущественно в печени. Доступными и информативными индикаторами гепатодепрессии могут быть следующие:

1. *Альбумин* практически полностью синтезируется печенью. Снижение его концентрации наблюдается у половины больных с острыми и у 80-90% больных с ХАГ и циррозом печени. Развивается гипоальбуминемия постепенно, результатом может быть снижение онкотического давления крови и отеки, а также снижение связывания гидрофобных и амфифильных соединений эндогенной и экзогенной природы (билирубина, свободных жирных кислот, лекарств и др.), что может вызвать явления интоксикации. Информативно параллельное определение альбумина и общего белка. Снижение альбумина до 30 г/л и менее свидетельствует о хронизации процесса.

2. *α 1-Антитрипсин* - гликопротеид, составляющий 80-90% фракции α ₁-глобулинов, белок острой фазы, синтезируется в печени, является чувствительным индикатором воспаления паренхиматозных клеток. Исключительное диагностическое значение связано с врожденной недостаточностью белка, приводящей к тяжелым формам поражения печени и других органов у детей.

3. *Холинэстераза* (псевдохолинэстераза, бутирилхолинэстераза - ХЭ, БХЭ) сыворотки крови, синтезируется печенью, относится к β ₂-глобулинам. При хронических процессах, особенно циррозе печени, активность фермента снижается, причем степень снижения имеет прогностическое значение. Другая причина снижения активности - отравление фосфорорганическими соединениями.

4. *Фибриноген*, I фактор свертывания крови, белок острой фазы, относится к β ₂-глобулинам. Уровень фибриногена закономерно снижается при тяжелых хронических и острых заболеваниях печени.

5. *ПТИ* снижается в связи с нарушением синтеза витамин К-зависимых факторов свертывания крови (II, VII, IX, X). В отличие от холестаза, уровень ПТИ не нормализуется при внутримышечном введении витамина К. ПТИ является маркером тяжести острой дисфункции печени.

6. *Холестерин* в крови снижается у больных с хроническим гепатитом и циррозом печени, чаще при подостром варианте течения. При жировой дистрофии печени уровень холестерина может повышаться.

Для хронических заболеваний печени в стадии компенсации нехарактерно повышение активности ферментов. Однако умеренное повышение (в 1,5 - 3 раза) активности трансаминаз с более высоким уровнем АсАТ свидетельствует о повреждении субклеточных структур, в частности, митохондрий.

4. Мезенхимально-воспалительный синдром обусловлен повреждением мезенхимы и стромы печени, является иммунным ответом на антигенную стимуляцию кишечного происхождения. Данный синдром сопровождает как острые, так и хронические заболевания печени. Маркерами синдрома являются γ -глобулины, иммуноглобулины, тимоловая проба, антитела к клеточным элементам и др.

Определение *γ -глобулинов* относится к обязательным тестам для печени. Подъем γ -глобулинов, по сути

являющихся иммуноглобулинами, характерен для большинства заболеваний печени, но наиболее выражен при ХАГ и циррозе печени. В последнее время показано, что γ -глобулины могут вырабатываться купферовскими клетками и плазматическими клетками воспалительных инфильтратов печени. При циррозах печени на фоне низкой концентрации альбумина из-за нарушения синтетической функции печени наблюдается значительный рост γ -глобулинов, при этом концентрация общего белка может оставаться нормальной или повышенной.

Иммуноглобулины (Ig) представляют собой белки, входящие во фракцию γ -глобулинов и обладающие свойствами антител. Известно 5 основных классов Ig: IgA, IgM, IgG, IgD, IgE, однако для диагностики используются первые три. При хронических заболеваниях печени увеличивается содержание всех классов Ig, однако наиболее выражен рост IgM. При алкогольных поражениях печени наблюдается повышение IgA.

Тимоловая проба - неспецифичный, но доступный метод исследования, результат которого зависит от содержания IgM, IgG и липопротеидов в сыворотке крови. Проба бывает положительной у 70-80% больных острым вирусным гепатитом в первые 5 дней желтушного периода, у 70-80% больных с ХАГ, у 60% - с циррозом печени. Проба нормальна при механической желтухе у 95% пациентов.

Антитела к тканевым и клеточным антигенам (нуклеарные, гладкомышечные, митохондриальные) позволяют выявить аутоиммунные компоненты при заболеваниях печени.

Таблица 7.

Синдромы при заболеваниях печени

Синдром	Биохимические показатели
1. Цитолиз некроз	АлАТ↑, АсАТ↑, ЛДГ↑, ГГТП↑ АСТ↑, ГлДГ↑, ЛДГ ₅ ↑
2. Холестаз	желчные кислоты↑, ЩФ↑, ГГТП↑, билирубин ↑, холестерин ↑, ПТИ ↓
3. Гепатодепрессия	альбумин↓, холестерин↓, фибриноген ↓, ПТИ↓, ХЭ↓, (снижение синтетической функции), АсАТ>АлАТ
4. Мезенхимально-воспалительный	γ -глобулины (Ig) ↑, тимоловая проба: отрицат., - холестаз (95%) + о.гепатит (80%), ХАГ (80%), цирроз (60%)
5. Печеночная недостаточность	НН ₃ ↑, фенолы↑, циклические аминокислоты↑, жирные кислоты с короткой цепью↑(масляная, валериановая, капроновая), синтетическая функция снижена)

5. Печеночная недостаточность обусловлена нарушением основных функций печени, а также поступлением в кровяное русло, минуя печень, токсических веществ из кишечника с последующим развитием энцефалопатии. К индикаторам шунтирования печени относятся аммиак и его производные, фенолы, циклические аминокислоты, жирные кислоты с короткой цепью.

Аммиак образуется при дезаминировании аминокислот и является исключительно токсичным для мозга соединением. Нейтрализация аммиака осуществляется печенью путем его превращения в мочевины.

Фенолы, представляющие собой циклические гидрофобные соединения, токсичные для мозга, резко повышаются при печеночной коме.

Циклические аминокислоты (тирозин, фенилаланин, триптофан) повышаются при тяжелых поражениях печени. У здоровых людей общий уровень аминокислот, а также соотношение их различных видов, поддерживает печень. При отсутствии регулирующей функции печени количество аминокислот непропорционально меняется, и некоторые из них, находясь в избытке, могут оказывать токсический эффект.

К *жирным кислотам с короткой цепью (ЖККЦ)* относятся масляная (C₄), валериановая (C₅), капроновая (C₆), которые образуются в кишечнике и нейтрализуются печенью. В норме жирные кислоты, как и все токсичные и активные гидрофобные соединения, связаны с альбумином. При печеночной недостаточности содержание кислот повышается, а альбумина - закономерно снижается, поэтому ЖККЦ могут беспрепятственно оказывать токсический эффект на синапсы нервных клеток, замедляя проведение нервных импульсов.

Различают малую печеночную недостаточность и большую печеночную недостаточность, которая может быть обусловлена как поступлением токсичных веществ из кишечника (шунтирование печени), так и повреждением или разрушением печеночных клеток.

Таблица 8.

**Дифференциальная диагностика печеночной недостаточности
по признакам**

Признак	Малая	Большая
Гепатогенная энцефалопатия	Отсутствует	Имеется
Наличие гепатодепрессии	Обычно умеренное	Обычно выраженное
Повышение индикаторов шунтирования	Отсутствует или умеренное	Выраженное

Основные характеристики печеночной недостаточности.

Печеночно-клеточная недостаточность (истинная кома) связана с разрушением клеток или их замещением на другие клетки (соединительнотканнные, опухолевые и др.). Заболевание характеризуется энцефалопатией, желтухой и геморрагическим синдромом. У больных выражен гепатодепрессивный синдром (снижение факторов свертывания крови, ПТИ, холестерина, ХЭ, альбумина), повышение обеих фракций билирубина в 10-20 раз, отеки, связанные преимущественно со снижением уровня альбумина, повышен уровень индикаторов шунтирования печени - аммиака, циклических аминокислот, жирных кислот с короткой цепью, могут быть повышены ферменты цитолиза. Уменьшение содержания ферментов на фоне комы является неблагоприятным признаком, что обусловлено снижением способности печени к синтезу ферментов.

Портально-печеночная недостаточность (шунтовая кома) обусловлена, в первую очередь, попаданием в общий кровоток веществ, которые в норме обезвреживаются печенью и расцениваются как индикаторы шунтирования - аммиак, циклические аминокислоты, жирные кислоты с короткой цепью, меркаптаны. Ведущая роль в развитии комы отводится аммиаку, повышение которого нарушает энергетический метаболизм нервных клеток.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Структурно-функциональной единицей печени является:
 - 1) гепатоцит
 - 2) купферовская клетка
 - 3) печеночная долька
 - 4) эндотелий сосудов
2. В печени не образуется:
 - 1) альбумин
 - 2) факторы свертывания
 - 3) миоглобин
 - 4) желчные кислоты
3. Предшественником билирубина является
 - 1) миоглобин
 - 2) гемоглобин
 - 3) порфирин
 - 4) цитохром
 - 5) все перечисленное
4. Где в основном происходит метаболический распад гемоглобина:
 - 1) ретикулоэндотелиальная система
 - 2) эритроциты
 - 3) клетки печени

- 4) почечные канальцы
 - 5) все перечисленное
5. Какую величину не должна превышать концентрация общего билирубина сыворотки крови в норме:
- 1) 8,5 мкмоль/л
 - 2) 20,5 мкмоль/л
 - 3) 30,5 мкмоль/л
 - 4) 35,5 мкмоль/л
 - 5) 58,5 мкмоль/л
6. Конъюгированный билирубин в норме в крови составляет до:
- 1) 5%
 - 2) 25%
 - 3) 50%
 - 4) 75%
 - 5) 100%
7. Что используется для синтеза конъюгированного билирубина:
- 1) УДФ-глюкоза
 - 2) УДФ-глюкуронат
 - 3) глюкоза
 - 4) глюкуроновая кислота
 - 5) маннозамин
8. В дифференциальной диагностике паренхиматозной и гемолитической желтухи информативными являются тесты:
- 1) фракции билирубина
 - 2) ЛДГ-изоферменты
 - 3) aminотрансферазы
 - 4) ретикулоциты
 - 5) все перечисленное верно
9. В моче здорового человека содержится:
- 1) биливердин
 - 2) стеркобилиноген
 - 3) мезобилирубин
 - 4) билирубин
 - 5) все перечисленное
10. Появление уробилина в моче при обтурационной желтухе может свидетельствовать о:
- 1) восстановлении проходимости желчных путей
 - 2) закупорке желчных путей
 - 3) поражении желчного пузыря
 - 4) восстановлении функции печени
 - 5) увеличении неконъюгированного билирубина
11. Отсутствие уробилина в моче указывает на:
- 1) гемолитическую желтуху
 - 2) обтурационную желтуху
 - 3) паренхиматозную желтуху в продромальный период
 - 4) болезнь Жильбера
 - 5) все заболевания

12. Выберите характеристику, не имеющую отношения к непрямому билирубину:
- 1) образуется в печени из прямого билирубина
 - 2) в крови находится в комплексе с белком альбумином
 - 3) плохо растворим в воде и не фильтруется в мочу
 - 4) токсичен, проходя через гематоэнцефалический барьер, вызывает энцефалопатию
 - 5) медленно реагирует с диазореактивом Эрлиха
13. Отметьте характеристику, не имеющую отношения к гемолитической желтухе:
- 1) возникает вследствие массивного разрушения эритроцитов
 - 2) общий билирубин крови возрастает за счет прямого билирубина
 - 3) билирубин в моче не выявляют, содержание уробилиногена повышено
 - 4) кал окрашен нормально
 - 5) понижена активность фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы
14. Отметьте характеристику, не имеющую отношения к механической желтухе:
- 1) возникает вследствие нарушения нормального оттока желчи в кишечник
 - 2) в крови увеличено содержание как прямого, так и прямого билирубина
 - 3) содержание общего билирубина не превышает 20 мкмоль/л
 - 4) каловые массы окрашены слабо, вплоть до обесцвечивания
 - 5) в моче резко повышено содержание билирубина, уробилиногена нет
15. Назовите один из отличительных признаков гемолитической (надпеченочной) желтухи от механической (подпеченочной) и печеночно-клеточной (печеночной) желтух:
- 1) желтушное окрашивание склер и кожи
 - 2) потемнение мочи
 - 3) повышение содержания в крови и неконъюгированного (непрямого), и конъюгированного (прямого) билирубина
 - 4) повышение содержания в крови конъюгированного (прямого) билирубина
 - 5) повышение содержания в крови неконъюгированного (непрямого) билирубина
16. Печеночно-клеточная желтуха обусловлена повреждением гепатоцитов и желчных капилляров, например, при острых вирусных инфекциях, хронических и токсических гепатитах. Назовите один из основных отличительных признаков печеночно-клеточной желтухи от гемолитической и механической желтух:
- 1) желтушное окрашивание склер и кожи
 - 2) потемнение кала
 - 3) повышение содержания в крови неконъюгированного и конъюгированного билирубина
 - 4) повышение содержания в крови неконъюгированного (непрямого) билирубина
17. Признаком обтурационных желтух является наличие в моче:
- 1) конъюгированного билирубина
 - 2) индикана
 - 3) белка
 - 4) цилиндров
 - 5) лактозы
18. На окраску кала влияют:
- 1) примесь крови
 - 2) билирубин

- 3) зеленые части овощей
 - 4) стеркобилин
 - 5) все перечисленное
19. Нормальную окраску кала определяет:
- 1) углеводная пища
 - 2) жиры
 - 3) белковая пища
 - 4) стеркобилин
20. Появление билирубина в кале является признаком:
- 1) гастрита
 - 2) острого энтерита
 - 3) дуоденита
 - 4) панкреатита
 - 5) дисбактериоза

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Ситуационная задача №1

В больницу поступил пациент с заболеванием печени. Проведен биохимический анализ мочевины в крови.

1. Целесообразно ли проведение этого анализа для оценки тяжести заболевания печени?
2. Какие дополнительные исследования нужно провести, чтобы исключить изменения экскреторной функции почек?

Ситуационная задача №2

При обследовании работников объединения «Химчистка» у одной работницы было обнаружено увеличение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) в крови в 5,7 раза, а аспартатаминотрансферазы (АсАТ) – в 1,5 раза. Врач-практикант А предположил, что это - следствие увеличенного потребления мясных продуктов накануне, и причин для беспокойства нет. Врач-практикант Б предложил госпитализировать эту работницу, предполагая у нее поражение печени органическими растворителями.

1. Кто из них прав и почему?
2. Каково диагностическое значение определения активности аминотрансфераз в сыворотке крови?

Ситуационная задача №3

При тяжелых вирусных гепатитах у больных может развиваться печёночная кома, обусловленная, в частности, токсическим действием аммиака на клетки мозга. Какова причина столь значительного накопления аммиака в крови?

Ситуационная задача №4

У двух больных концентрация билирубина 100 мкмоль/л, но у первого преобладает свободный, а у второго - связанный. Состояние какого больного тяжелее и почему?

Ситуационная задача №5

У новорожденного содержание билирубина в крови повышено (за счёт свободного), кал интенсивно окрашен, в моче билирубин не найден.

1. О какой желтухе идёт речь?
2. Какой лекарственный препарат можно использовать для предотвращения этого заболевания и почему?

Ситуационная задача №6

У больного яркая желтушность кожи, склер, слизистых оболочек. Моча цвета тёмного пива, окраска кала ослаблена. В крови повышено содержание билирубина, в моче определяется билирубин. О каком типе желтухи идёт речь?

Ситуационная задача №7

Почему применение в качестве лекарственных препаратов салицилатов, сульфаниламидов, антибиотиков в

больших дозах может явиться причиной гемолитической желтухи новорожденных с возможной последующей энцефалопатией?

Ситуационная задача № 8

Больная Ф., 32 года, доставлена в инфекционную больницу без сознания, с резко выраженной желтухой. Ощущается «печеночный» запах изо рта. Регионарные лимфатические узлы не увеличены. При перкуссии грудной клетки легочный звук, при аускультации везикулярное дыхание. Тоны сердца приглушены. Пульс ритмичный, слабого наполнения, 120/мин., АД - 110/70 мм рт.ст. Печень и селезенка не пальпируются. При перкуссии нижний край печени определяется на 2,0 см выше реберной дуги по средне-ключичной линии справа. Корнеальные рефлексы сохранены.

Из анамнеза: 3 месяца назад больной произведена аппендэктомия. Желтуха появилась вчера; за неделю до поступления началось «простудное заболевание».

1. Ваш предполагаемый диагноз и его обоснование.
2. Какие биохимические исследования необходимо провести для определения этиологии заболевания?
3. Какой биохимический показатель указывает на печеночно-клеточную

недостаточность?

Ситуационная задача № 9

Мужчина 29 лет состоит активным донором, последние 6 месяцев - донором плазмы. Направлен в гепатоцентр станцией переливания крови в связи с появившимся у него повышением трансаминаз: АлАТ - 250 мкмоль/л. Ранее подобного повышения ферментных тестов не регистрировалось. Жалоб не предъявляет. При обследовании отмечено небольшое увеличение печени.

Из эпидемиологического анамнеза: повышение аминотрансфераз выявлено еще у 2х доноров этой станции. ИФА диагностика на маркеры к вирусным гепатитам В,С,Д показала отрицательный результат.

1. Ваш предполагаемый диагноз.
2. Как подтвердить диагноз?

Ситуационная задача № 10

Больная К., 47 лет, обратилась к врачу с жалобами на частые приступы острой боли в правом подреберье, иррадиирующие в правую половину шеи, плечо, длящиеся до 3-х часов, сопровождающиеся повышением температуры тела до субфебрильных цифр, тошнотой, рвотой с примесью желчи. Возникают, как правило, после приема острой и жирной пищи. Стул ежедневно, оформленный, коричневого цвета, без патологических примесей. Считает себя больной около 2 лет, когда впервые возникли боли в правом подреберье. С этого времени после погрешностей в диете подобные обострения, не обследовалась, самостоятельно принимала спазмолитики, пользовалась грелкой. Вчера после погрешностей в диете возобновились боли, присоединились тошнота и рвота с примесью желчи, сегодня повысилась температура тела до 37,7⁰С, вызвала скорую помощь, доставлена в сан. пропускник.

Профессиональный анамнез: домохозяйка, часто не регулярный прием пищи, употребление жирной и жареной пищи.

При поверхностной пальпации мягкий, болезненный в правом подреберье, перитонеальные симптомы отрицательные. Пузырные симптомы Кера, Мерфи, Ортнера - положительные.

Данные дополнительных методов исследования:

1. Общий анализ крови: эритроциты $-3,8 \cdot 10^{12}/л$,
Hb-135 г/л., ЦП -1,0, СОЭ -18 мм/ч,
тромбоциты $-320 \cdot 10^9/л$,
лейкоциты $-11,3 \cdot 10^9/л$: э-1%, п-20%, с-58%, лф-12%, м-9%.

2. Общий анализ мочи:

светло-желтая, прозрачная, рН кислая, удельный вес 1016; белок, сахар -нет, лейкоциты -1-2, эпителий -3-4 в поле зрения,

эритроциты, цилиндры –нет, оксалаты -небольшое количество.

3.Биохимическое исследование крови:

глюкоза –4,3 ммоль/л,

фибриноген –3,4 г/л, протромбиновый индекс –90%, АсАТ –0,38 ммоль/л, АлАТ –0,36 ммоль/л, холестерин –5,5 ммоль/л,

билирубин общий –59,0 мкмоль/л,

прямой - 44,0 мкмоль/л, непрямо́й –15,0 мкмоль/л,

амилаза –5,7 г/лч, креатинин - 0,07 ммоль/л,

общий белок –75 г/л,

альбумины –54%, глобулины –46%: α_1 –5%, α_2 –10%, β –15%, γ –16%.

1. Выделите синдромы, выделите ведущий синдром.
2. Обоснуйте предварительный диагноз.
3. Объясните механизм развития желтухи.
4. Оцените данные биохимического анализа крови.

Ситуационная задача № 11

Больной К., 33 лет, обратился к врачу с жалобами на выраженную слабость, утомляемость, снижение трудоспособности. Стул ежедневно, оформленный, коричневого цвета, без патологических примесей. Мочеиспускание 3-4 раза в день, безболезненное. Считает себя больным около года, когда без видимой причины появились вышеперечисленные жалобы, постепенно нарастали, что заставило обратиться к врачу. Ранее не обследовался, не лечился.

Профессиональный анамнез: стоматолог. Вредные привычки отрицает.

Туберкулез, вирусные гепатиты отрицает.

Объективно: общее состояние ближе к удовлетворительному, сознание ясное, положение активное. Кожные покровы и видимые слизистые с иктеричным оттенком, сухие, пальмарная эритема, на коже груди единичные телеангиэктазии диаметром до 5мм. Живот правильной формы, обе половины одинаково участвуют в акте дыхания. При пальпации мягкий, незначительно болезненный в правом подреберье, симптомы Кера, Мерфи, Ортнера - положительные.

Данные дополнительных методов исследования:

1.Общий анализ крови:

эритроциты – $3,8 \cdot 10^{12}$ /л, лейкоциты – $11,3 \cdot 10^9$ /л: э-1%, п-20%, с-58%, лф-12%, м-9%, тромбоциты – $320 \cdot 10^9$ /л, Нб–135 г/л., ЦП –1,0, СОЭ –18 мм/ч

2.Общий анализ мочи:

светло-желтая, прозрачная, рН кислая, удельный вес 1016; белок, сахар -нет, лейкоциты –1-2, эпителий –3-4 в поле зрения,

эритроциты, цилиндры –нет, оксалаты -небольшое количество.

3.Биохимическое исследование крови:

глюкоза –4,3 ммоль/л,

фибриноген –3,4 г/л,

протромбиновый индекс –90%,

АсАТ –0,38 ммоль/л,

АлАТ –0,36 ммоль/л,

холестерин –5,5 ммоль/л,

билирубин общий -59,0 мкмоль/л,

прямой –44,0 мкмоль/л,

непрямо́й –15,0 мкмоль/л,

амилаза –5,7 г/лч, креатинин –0,07 ммоль/л,
общий белок –75 г/л, альбумины –54%,
глобулины –46%: α_1 –5%, α_2 –10%, β –15%, γ –16%.

5. УЗИ:

Желчный пузырь нормальных размеров, стенка 4мм, уплотнена, в просвете определяются множественные конкременты.

1. Выделите синдромы, отметьте ведущий синдром.
2. Каков предварительный диагноз, его обоснование
3. Оцените данные биохимического анализа крови.

Ситуационная задача № 12

Больная З., 43лет, жалуется на интенсивный зуд кожи преимущественно в вечернее время, незначительное увеличение живота в размерах, чувство тяжести в правом подреберье, выраженную слабость, утомляемость, снижение трудоспособности. Физиологические отправления в норме. Считает себя больной около 3лет, когда впервые появились слабость и зуд кистей и стоп в ночное время, по поводу которого длительное время лечилась у дерматолога без эффекта. Постепенно присоединилась тяжесть в правом подреберье, увеличился живот, усилилась слабость, зуд стал более интенсивным и распространенным. В связи с прогрессирующим ухудшением состояния обратилась в поликлинику по месту жительства. Участковым врачом направлена на госпитализацию для обследования и подбора терапии.

Перенесенные заболевания: детские инфекции, ОРВИ. Профессиональный анамнез: бухгалтер, профессиональные вредности отрицает. Диету соблюдает. Вредные привычки отрицает. Туберкулез, вирусные гепатиты отрицает.

Объективно: общее состояние средней степени тяжести, сознание ясное, положение активное. Кожные покровы и видимые слизистые желтого цвета, сухие, на спине, животе, предплечьях и голенях следы расчесов. Живот правильной формы, равномерно увеличен, обе половины одинаково участвуют в акте дыхания. При пальпации мягкий, незначительно болезненный в правом подреберье. Печень при пальпации умеренно болезненна, плотная, край острый

Данные дополнительных методов исследования:

1.Общий анализ крови:

эритроциты –3,7-10*12/л, Нб –130 г/л., СОЭ –32 мм/ч, тромбоциты –250-10*9/л, лейкоциты –7,8-10*9/л: э-3%, п-2%, с-58%, лф-28%, м-9%.

2.Общий анализ мочи:

светло-желтая, прозрачная, рН кислая, удельный вес 1017; белок, сахар -нет, лейкоциты –1-2, эпителий –3 в поле зрения, эритроциты, цилиндры –нет, оксалаты –небольшое количество.

3. Биохимическое исследование крови:

глюкоза –4,1 ммоль/л,

фибриноген –2,0 г/л, протромбиновый индекс –75%,

АсАТ –2,48 ммоль/л, АлАТ –3,67 ммоль/л,

холестерин –8,5 ммоль/л,

билирубин общий –149,0 мкмоль/л,

прямой –112,0 мкмоль/л., непрямой –37,0 мкмоль/л,

амилаза –6,7 г/лч, креатинин –0,06 ммоль/л,

общий белок –56 г/л, альбумины –44%, глобулины –56%: α_1 –5%, α_2 –15%, β –15%, γ –21%, ГГТП –460 ЕД/л.

4.Маркеры вирусных гепатитов не обнаружены.

1. Выделите синдромы, выделите ведущий синдром.
2. Обоснуйте предварительный диагноз.
3. Оцените данные биохимического анализа крови.

Ситуационная задача № 13

Больной Г., 45 лет, жалуется на ноющие боли в правом подреберье, постоянные, уменьшаются после приема но-шпы через 30-40 минут, слабость, недомогание, снижение аппетита, сонливость днем и бессонницу ночью, снижение веса (на сколько и за какой период времени - уточнить не может), периодически кровоточивость десен и геморроидальных узлов. Считает себя больным около 5 лет, когда стали возникать боли в правом подреберье, проходили самостоятельно. За медицинской помощью не обращалась. Около года назад присоединились слабость, недомогание, ухудшился аппетит, стал замечать снижение массы тела. Месяц назад присоединилась кровоточивость десен и геморроидальных узлов.

В анамнезе :злоупотребление алкоголем.

Перенесенные заболевания: ОРВИ, хронический бронхит курильщика. *Профессиональный анамнез*: работает слесарем. Питается не регулярно, диету не соблюдает.

Вредные привычки: курит в течение 15 лет по 1 пачке сигарет в день, часто употребляет крепкие алкогольные напитки. Наследственность не отягощена.

Аллергологический анамнез не отягощен.

Объективно: состояние средней степени тяжести, сознание ясное, положение активное. Кожные покровы и видимые слизистые желтого цвета, нормальной влажности, тургор и эластичность снижены, на груди множественные телеангиэктазии до 0,5–1,0 см в диаметре, гиперемия тенора и гипотенора, обоих ладонных поверхностей. Подкожно жировая клетчатка развита слабо, распределена равномерно, гинекомастия. Живот увеличен в размерах, обе половины одинаково участвуют в акте дыхания, по боковым поверхностям живота определяется расширенный венозный рисунок. При поверхностной пальпации живот мягкий, безболезненный во всех отделах, перитонеальные симптомы отрицательные, симптом флюктуации положительный. Пальпация всех отделов толстого и тонкого кишечника затруднена, область пальпации безболезненна.

При глубокой пальпации определяется болезненность при пальпации печени + 2см из-под края реберной дуги по среднеключичной линии.

Данные дополнительных методов исследования:

1.Общий анализ крови:

эритроциты $-3,3 \cdot 10^{12}/л$, Hb -105 г/л., ЦП $-1,0$,
СОЭ -18 мм/ч,
тромбоциты $-220 \cdot 10^9/л$,
лейкоциты $-4,3 \cdot 10^9/л$: э-3%, п-4%, с-51%, лф-32%, м-10%.

2.Общий анализ мочи:

светло-желтая, прозрачная, рН кислая, удельный вес 1008; белок, сахар -нет, лейкоциты $-1-2$, эпителий $-2-4$ в поле зрения, эритроциты, цилиндры -нет, оксалаты -небольшое количество.

3.Биохимическое исследование крови:

глюкоза $-4,3$ ммоль/л,
фибриноген $-1,4$ г/л, протромбиновый индекс -60% ,
АсАТ $-1,38$ ммоль/л, АлАТ $-1,36$ ммоль/л, холестерин $-2,5$ ммоль/л,
билирубин общий $-49,0$ мкмоль/л,
прямой $-14,0$ мкмоль/л., непрямой $-35,0$ мкмоль/л,
амилаза $-5,3$ г/лч, креатинин $-0,07$ ммоль/л,
общий белок -55 г/л,
альбумины -34% , глобулины -66% : $\alpha 1-6\%$, $\alpha 2-20\%$, $\beta -16\%$, $\gamma -24\%$.

1.Выделите синдромы, отметьте ведущий синдром.

2.Обоснуйте предварительный диагноз.

3. Оцените данные биохимического анализа крови.

Ситуационная задача № 14

Больной Р., 29 лет, жалуется на слабость, недомогание, снижение аппетита, желтушность кожи и слизистых, подташнивание после еды, повышение температуры тела до 39°C, без озноба, в вечернее время, кожный зуд по всему телу, преимущественно в вечернее и ночное время. Считает себя больным около месяца, когда родственники отметили желтое окрашивание кожи и слизистых. За медицинской помощью не обращался, самостоятельно не лечился. Около недели назад присоединились слабость, недомогание, кожный зуд, ухудшился аппетит, усилилась интенсивность желтухи. Три дня назад отметил повышение температуры тела.

В анамнезе: злоупотребление алкоголем около 3 лет, в течение последнего месяца ежедневное употребление пива до 1 литра в сутки, периодически крепкие алкогольные напитки. У жены год назад стационарное лечение в инфекционной больнице по поводу вирусного гепатита С. Перенесенные заболевания: детские инфекции, ОРВИ, аппендэктомия в детстве.

Профессиональный анамнез: работает отделочником на стройке.

Питается не регулярно, диету не соблюдает.

Вредные привычки: курит в течение 9 лет по 1 пачке сигарет в день, часто употребляет крепкие алкогольные напитки.

Объективно: состояние средней степени тяжести, сознание ясное, положение активное. Кожные покровы и видимые слизистые желтого цвета, нормальной влажности, тургор и эластичность снижены, на коже лица, груди и спины телеангиэктазии 0,5–1,0 см в диаметре, на лице множественные ксантомы до 3мм в диаметре, гиперемия тенора и гипотенора. Следы расчесов по всей поверхности тела.

Живот незначительно увеличен в размерах, обе половины одинаково участвуют в акте дыхания.

При поверхностной пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах, перитонеальные симптомы отрицательные, симптом флюктуации отрицательный. При глубокой пальпации определяется болезненность при пальпации нижнего края печени + 2 из-под края реберной дуги по среднеключичной линии.

Данные дополнительных методов исследования:

1.Общий анализ крови:

эритроциты $4,3 \cdot 10^{12}/л$, Hb –135 г/л., ЦП –1,0, СОЭ –38 мм/ч,

тромбоциты $320 \cdot 10^9/л$,

лейкоциты $24,3 \cdot 10^9/л$: э-3%, п-22%, с-53%, лф-22%, м-1%.

2.Общий анализ мочи:

светло-желтая, прозрачная, рН щелочная, удельный вес 1016; белок –0,033, сахар - нет, лейкоциты –1-2, эпителий –3-4 в поле зрения, эритроциты, цилиндры – нет, оксалаты -небольшое количество.

3.Биохимическое исследование крови:

глюкоза –4,3 ммоль/л,

фибриноген –2,4 г/л, протромбиновый индекс –70%,

АсАТ –4,38 ммоль/л, АлАТ –5,36 ммоль/л, холестерин –3,5 ммоль/л,

билирубин общий –349,0 мкмоль/л,

прямой –214,0 мкмоль/л., непрямой –135,0 мкмоль/л,

ЩФ –356 мкмоль/л., ГГТП -234 мкмоль/л.,

амилаза –5,3 г/лч, креатинин –0,07 ммоль/л,

общий белок –55 г/л, альбумины –44%,

глобулины –56%: α_1 –6%, α_2 –20%, β –16%, γ –24%.

1.Выделите синдромы, отетьте ведущий синдром.

2.Обоснуйте предварительный диагноз.

3. Оцените данные биохимического анализа крови.

4.Оцените данные общего анализа крови.

Ситуационная задача № 15

Больная О., 55 лет, жалуется на ноющие боли в правом подреберье, постоянные, уменьшаются после приема но-шпы через 30-40 мин., слабость, недомогание, снижение аппетита, желтушность кожи и слизистых. Стул ежедневно, однократно, коричневого цвета, без патологических примесей. Считает себя больной около 5 месяцев, когда во время лечения в неврологическом отделении по поводу поясничного остеохондроза на фоне приема диклофенака, найза стали возникать боли в правом подреберье, проходившие самостоятельно, кратковременная желтуха кожи и слизистых. После выписки чувствовала себя удовлетворительно. Около недели назад возобновились боли в поясничной области, в связи с чем принимала темпалгин, но-шпу, индометацин до 10 таблеток в день.. Три дня назад возникли боли в правом подреберье, без иррадиации, не связанные с приемом пищи, отметила желтушность кожи и слизистых, слабость, недомогание, ухудшение аппетита.

Перенесенные заболевания: аппендэктомия в детстве, поясничный остеохондроз.

Профессиональный анамнез: работает бухгалтером.

Питается не регулярно, диету не соблюдает. Вредные привычки отрицает. *Объективно:* общее состояние ближе к удовлетворительному, сознание ясное, положение активное. Кожные покровы и видимые слизистые желтушные, нормальной влажности, тургор и эластичность в норме. При глубокой пальпации определяется болезненность при пальпации нижнего края печени + 1см. из-под края реберной дуги по среднеключичной линии.

Данные дополнительных методов исследования:

1.Общий анализ крови:

эритроциты $4,3 \cdot 10^{12}/л$, Нб -135 г/л., ЦП $-1,0$, СОЭ -10 мм/ч,

тромбоциты $-320 \cdot 10^9/л$,

лейкоциты $4,3 \cdot 10^9/л$: э-3%, п-4%, с-51%, лф-32%, м-10%.

2.Общий анализ мочи:

светло-желтая, прозрачная, рН кислая, удельный вес 1014; белок, сахар -нет, лейкоциты $-1-2$, эпителий $-2-3$ в поле зрения, эритроциты, цилиндры -нет, оксалаты -небольшое количество.

3.Биохимическое исследование крови:

глюкоза $-4,3$ ммоль/л,

фибриноген $-3,4$ г/л, протромбиновый индекс -80% ,

АсАТ $-4,48$ ммоль/л, АлАТ $-5,56$ ммоль/л, холестерин $-2,5$ ммоль/л,

билирубин общий $-29,0$ мкмоль/л,

прямой $-14,0$ мкмоль/л., непрямой $-15,0$ мкмоль/л,

ЩФ -45 мкмоль/л., ГГТП -67 мкмоль/л., амилаза $-5,3$ г/лч,

креатинин $-0,07$ ммоль/л,

общий белок -72 г/л, альбумины -44%

1.Выделите синдромы, отметьте ведущий синдром.

2.Обоснуйте предварительный диагноз.

3.Причины развития желтухи

4. Оцените данные биохимического анализа крови.

5.Оцените данные общего анализа крови.

Ситуационная задача №16

Больной - студент, 18 лет, жалуется на боли в правом подреберье, слабость, плохой аппетит, боли в суставах. 1,5 года назад перенес вирусный гепатит В. Диету не соблюдал, любитель пива.

При осмотре: на коже конечностей и туловище «синяки», которые, со слов больного, образуются при малейших ушибах.

Кожа и склеры иктеричны. Печень увеличена, уплотнена, пальпируется селезенка.

Данные дополнительных методов исследования:

Билирубин - 30 ммоль/л, непрямой - 17 ммоль/л.

АлАТ - 0.5 ммоль/л, АсАТ - 0,6 ммоль/л,

протромбиновый индекс - 50 %,

тимоловая проба - 40 ед.

Обнаружены: HBsA, HBeA, анти-HBsJgM.

1. Ваш предположительный диагноз?
2. Какие выявлены синдромы?
3. Оцените данные анализа крови

Ситуационная задача № 17

Больной, 17 лет. Со слов матери, болеет желтухой с раннего детства. В последние годы периодически беспокоит чувство тяжести в правом подреберье, сопровождающиеся усилением желтухи, после физической нагрузки, занятий спортом.

При осмотре: состояние удовлетворительное. Склеры глаз и кожные покровы умеренно желтушны. Язык чистый. Живот мягкий, при пальпации безболезненный. Печень и селезенка не пальпируются.

Анализ крови и мочи без изменений.

Билирубин - 32,1 ммоль/л, непрямой - 28,1 ммоль/л.

АсАТ - 0,3 ед., АлАТ - 0,4 ед.

1. Ваш предположительный диагноз?
2. Чем объясняется желтуха?
3. Какую желтуху необходимо исключить?

Ситуационная задача № 18

Больная Б., 28 лет, находилась под наблюдением в больнице в течение 2 месяцев. Жалобы на желтушное окрашивание кожи и слизистых, слабость, тошноту, зуд. Недомогание появилось вскоре после родов. Печень увеличена, болезненна.

Кровь – билирубин прямой 82 мкмоль/л, билирубин обнаружен в моче, уробилина нет, реакция на стеркобилин слабо положительна, эритроциты – $3,8 \cdot 10^{12}/л$, Hb – 110 г/л.

Больной произведена операция, в результате которой из общего желчного протока извлечен камень, который полностью закрывал просвет.

1. Назвать синдром, который наблюдался у больной.
2. Назвать причину его развития.
3. Объяснить его механизм.
4. Пояснить, почему в крови обнаруживается прямой билирубин.
5. Пояснить, почему в моче при этом синдроме нет уробилина?

Ситуационная задача № 19

Больная Ш. 48 лет, медицинская сестра туберкулезного стационара, в течение недели отмечала общую слабость, боли в мышцах, суставах рук и ног, зуд кожи, постоянное подташнивание (однократно была рвота), снижение аппетита. В течение 4-х дней отмечалась лихорадка до $37,5 - 37,8^{\circ}C$ По рекомендации врача принимала антигриппин.

В гепатологический центр была госпитализирована после появления желтухи в состоянии средней тяжести. К прежним жалобам добавились упорный кожный зуд, плохой сон и головные боли.

При объективном обследовании: ярко выраженная желтуха кожи, склер и слизистых оболочек. На коже видны единичные геморрагии. Язык обложен белым налетом. Печень на 3 см ниже реберной дуги, мягкая, чувствительная при пальпации и поколачивании. Селезенка не увеличена.

Данные дополнительных методов исследования:

1. Общий анализ крови:

Hb – 120 г/л, эритроциты – $4,5 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $4,7 \times 10^9$ /л,

СОЭ- 27мм/ч.

2. Биохимический анализ крови

Активность АлАТ в четыре раза превышает норму, повышена активность щелочной фосфатазы.

Общий билирубин – 156,9 мкмоль/л, билирубиновый показатель – 81%. Выявлен «австралийский» антиген и повышенное содержание IgG. Протромбиновый индекс – 73%, снижено содержание проакцелерина и проконвертина, снижен альбумино-глобулиновый коэффициент.

Содержание глюкозы в крови натощак колеблется от 2-х до 4,5 ммоль/л.

Желтуха и зуд держались около 45 дней.

Выписана через два месяца с показаниями АлАТ в два раза больше нормы.

1. Какой вид желтухи у больной?
2. Возможные причины её развития?
3. Дайте обоснование Вашего заключения.
4. Объясните механизм симптомов и изменений биохимических показателей.
5. Какие синдромы выявляются у больной?
6. Какие изменения можно обнаружить у больной в моче

Ситуационная задача № 20

Больная Р., 50 лет, обратилась к врачу с жалобами на кожный зуд, желтушность кожных покровов и склер, потемнение мочи, осветленный кал, снижение массы тела, кожный зуд и кровоточивость десен, метеоризм, запоры, «жирный кал». Перечисленные симптомы впервые появились 2 месяца назад.

При фиброгастроуденоскопии обнаружена опухоль в области большого дуоденального сосочка, при ультразвуковом исследовании органов брюшной полости - увеличение лимфатических узлов.

Объективно: больная пониженного питания, кожа и склеры желтушны, следы расчесов на коже, петехиальные высыпания, АД 110/60 мм рт. ст., ЧСС 52 мин⁻¹.

Данные дополнительных методов исследования:

1. Биохимический анализ крови:

общий белок 67 г/л, альбумин 57 %, глобулины 43 %

фибриноген 4 г/л

тимоловая проба 4 ед.

креатинин 52 мкмоль/л, мочевины 6,5 ммоль/л,

глюкоза (плазма) 5,3 ммоль/л,

общий холестерин 14,2 ммоль/л, общий билирубин 270,7 мкмоль/л

прямой билирубин 252,1 мкмоль/л, непрямой билирубин 18,6 мкмоль/л

гемоглобин 80 г/л

уробилин – нет, желчные кислоты +++

АсАТ 59 ед/л, АлАТ 47 ед/л, ЩФ 283 ед/л.

2. Общий анализ мочи:

цвет темного пива, белок – отсутствует, уробилин отсутствует,

глюкоза отсутствует, билирубин +++, желчные кислоты +++.

1. Укажите причину и вид желтухи, наблюдаемой у больного, обоснуйте свое заключение.

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ

1 - 3	6 - 5	11 - 2	16 - 3
2 - 3	7 - 2	12 - 1	17 - 1
3 - 5	8 - 5	13 - 5	18 - 5
4 - 1	9 - 2	14 - 2	19 - 4
5 - 2	10 - 1	15 - 5	20 - 5

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Ответ к задаче №1

Синтез мочевины происходит в печени. Ее содержание может служить для оценки синтезирующей способности печени, но для этого нужно исключить изменение экскреторной функции почек и определить остаточный азот, а также активность АлАТ в сыворотке крови.

Ответ к задаче №2

Прав врач – практикант Б. Фермент АлАТ имеет специфическую органную локализацию в печени и при разрушении клеток выходит в кровь, где его активность резко возрастает, что и наблюдается у больного.

Ответ к задаче №3

При вирусном гепатите нарушаются функции гепатоцитов. Синтез мочевины снижается, что приводит к накоплению аммиака.

Ответ к задаче №4

У обоих больных гипербилирубинемия, но первый больной находится в более тяжёлом состоянии (у него можно предположить гемолитическую желтуху), чем второй (у него можно предположить механическую или паренхиматозную желтуху), так как свободный билирубин более токсичен (проникает через ГЭБ в головной мозг и поражает подкорковые ядра). Для дифференциальной диагностики вида желтух надо дополнительно исследовать мочу на билирубин, экскреты на стеркобилин (его отсутствие в кале говорит о механической желтухе) и провести энзимодиагностику (повышение активности ЛДГ₅, АлАТ > АсАТ - характерно для паренхиматозной желтухи, а ЩФ и ГГТП - для механической желтухи).

Ответ к задаче №5

- а) Гемолитическая желтуха новорожденных.
- б) Фенобарбитал, индуктор транскрипции гена УДФ-глюкуронилтранс-феразы.

Ответ к задаче №6

У больного вероятно механическая желтуха. Для уточнения диагноза необходимо провести энзимодиагностику; определить активность ЛДГ₅, АлАТ, ЩФ, ГГТП. При механической желтухе повышена активность ЩФ и ГГТ.

Ответ к задаче №7

1. Указанные лекарственные препараты могут конкурировать с БР за центры связывания на альбумине, в результате повышается токсическое действие свободного БР, главным образом на головной мозг.

2. Биохимический анализ крови в динамике, белок и его фракции, ПТИ, маркеры ВГВ (ИФА) - IgM к HBsAg, HBsAg, HBeAg; ПЦР - ДНК HBV.

Ответ к задаче № 8

1. Острый вирусный гепатит В, фульминантная форма, осложненная ОПЭ, кома I ст.

Диагноз выставлен на основании острого начала, короткого продромального периода по гриппоподобному варианту, выраженной желтухи, резкого сокращения размеров печени, «печеночного» запаха изо рта, тахикардии, отсутствия сознания, сохранении корнеальных рефлексов, сведений эпиданамнеза (хирургическое вмешательство 3 месяца назад).

2. Маркеры на вирусный гепатит В, D (ИФА), ПЦР диагностика - ПЦР - ДНК HBV, ПЦР - РНК HD V.

3. Протромбиновый индекс (ПТИ), альбумины сыворотки крови.

Ответ к задаче № 9

1. Острый вирусный гепатит С, безжелтушная форма, легкая степень тяжести. Диагноз выставлен на основании сведений эпидемиологического анамнеза (активный донор плазмы), субклинического течения заболевания, высокой активности АЛАТ

2. ПЦР - диагностика с целью обнаружения РНК HCV, определение генотипа вируса.

Ответ к задаче №10

1. Холестатический синдром

2. Желчно-каменная болезнь. Хронический калькулезный холецистит, в стадии обострения. С учетом характерного болевого абдоминального синдрома (боли в правом подреберье с иррадиацией вправо и вверх, возникают после погрешностей в диете, положительные пузырные симптомы), наличия факторов риска (женский пол, возраст), признаков желтухи и повышения температуры тела.

3. Синдром желтухи развивается вследствие закупорки протоков конкрементом, что приводит к нарушению оттока желчи.

4. В биохимическом анализе крови признаки механической желтухи.

Ответ к задаче №11

1. Синдром цитолиза (астенический синдром, печеночно-клеточной недостаточности, синдром желтухи).

2. Хронический вирусный гепатит С? На основании клинической картины (ведущий синдром цитолиза), профессионального анамнеза.

3. В биохимическом анализе крови признаки паренхиматозной желтухи (гипербилирубинемия за счет обеих фракций) и синдрома цитолиза (повышение трансаминаз).

Ответ к задаче №12

1. Синдром холестаза, синдром цитолиза (астенический синдром, печеночно-клеточной недостаточности, гепатомегалии), синдром желтухи, синдром портальной гипертензии.

2. Первичный билиарный цирроз печени. Портальная гипертензия. Асцит. Холестаз.

3. В биохимическом анализе крови признаки подпеченочной желтухи (гипербилирубинемия за счет прямой фракции билирубина), синдрома цитолиза (повышение трансаминаз), печеночно-клеточной (снижение белка, альбуминов, фибриногена, протромбинового индекса), синдрома холестаза (увеличение холестерина и ГГТП).

Ответ к задаче №13

1. Синдром цитолиза (печеночно-клеточной недостаточности), синдром паренхиматозной желтухи, печеночная недостаточность.

2. На основании вышеперечисленных синдромов, анамнеза – злоупотребление алкоголем, больше данных за поражение печени – хронический гепатит, цирроз печени.

3. В биохимическом анализе крови признаки синдрома цитолиза, печеночно-клеточной недостаточности, паренхиматозной желтухи.

Ответ к задаче №14

1. Синдром цитолиза (гепатоспленомегалии, печеночно-клеточной недостаточности), синдром паренхиматозной желтухи, синдром холестаза, синдром мезенхимального воспаления.

2. На основании вышеперечисленных синдромов, анамнеза - злоупотребление алкоголем, контакт с инфицированной вирусом гепатита С, можно предположить поражение печени – хронический гепатит, цирроз печени.

3. В биохимическом анализе крови признаки синдрома цитолиза, печеночно-клеточной недостаточности, паренхиматозной желтухи, холестаза.

4. В общем анализе крови выявлены признаки синдрома мезенхимального воспаления: ускоренная СОЭ, лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево.

Ответ к задаче №15

1. Синдром цитолиза (астенический, печеночно-клеточной недостаточности, гепатомегалии, болевой), синдром желтухи.

2. На основании выделенных синдромов, анамнеза – прием гепатотоксичных препаратов, больше данных за токсическое поражение печени.

3. Желтуха развивается вследствие развития синдрома цитолиза – непосредственное разрушение гепатоцитов с выходом билирубина, а также из-за нарушения функции печени.

4. В биохимическом анализе крови имеются признаки синдрома цитолиза, паренхиматозной желтухи, печеночно-клеточной недостаточности.

5. Показатели общего анализа крови в пределах нормы.

Ответ к задаче № 16

1. Хронический активный гепатит, печеночно-клеточная недостаточность.

2. Выраженный синдром цитолиза.

3. В биохимическом анализе крови признаки синдрома цитолиза, печеночно-клеточной недостаточности.

Ответ задача № 18

1. Доброкачественная гипербилирубинемия - болезнь Жильбера.

2. Нарушение захвата билирубина из плазмы гепатоцита, дефект конъюгации билирубина с глюкуроновой кислотой.

3. Гемолитическую (ретикулоцитоз, осмотическую стойкость, сывороточное железо).

Ответ к задаче №19

1. Желтуха.

2. Камень желчного протока

3. Препятствие в желчных путях приводит к застою и повышению давления желчи, расширению и разрыву желчных капилляров и поступлению желчи в кровь.

4. В кровь в составе желчи попадает прямой (конъюгированный) билирубин.

5. В моче нет уробилина при полном закрытии протока, т.к. желчь не поступает в кишечник и уробилин не образуется.

Ответ к задаче № 20

Печеночная (паренхиматозная) желтуха у больной с вирусным гепатитом типа В. Желтуха печеночная, т.к. на фоне высокой гипербилирубинемии имеются признаки значительного снижения функции печени: нарушен синтез альбуминов (снижен А/Г коэффициент) и прокоагулянтов (протромбина, проакцелерина, проконвертина), нарушен углеводный обмен (гипогликемия). Увеличение АлАТ (цитолитический фермент) свидетельствует о повреждении гепатоцитов.

Больная выписана в состоянии неполного выздоровления (увеличена АлАТ).

У больной выявляются синдромы: желтуха, холестаз (маркером является увеличение в крови ЩФ), холемия (зуд кожи связан с увеличением в крови ЖК), синдром печеночно-клеточной недостаточности.

Моча у больной должна быть темной из-за содержания в ней ПБ (т.к. количество его в крови превышает 34

мкмоль/л и он легко проходит почечный фильтр) и должна вспениваться при встряхивании из-за присутствия в ней ЖК, которые понижают поверхностное натяжение жидкости.

I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Строение печени, структура гепатоцитов.
2. Ферменты печени, их характеристика.
3. Основные функции печени.
4. Биологическая роль печени в обмене белков, углеводов и липидов.
5. Биохимические показатели при патологии печени.
6. Желтуха, виды, характеристика.
7. Биохимический механизм развития желтух.
8. Биохимические изменения в биологических средах организма при разных типах желтух.

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Биохимия и патобиохимия печени. Желтухи. Гепатиты».

III Список используемой литературы:

Основная:

11. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
12. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
13. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медиа»
14. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г. Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
15. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А. Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

Тема: Биохимия мышечной ткани: строение, белки. Особенности энергообмена.

I Научно-методическое обоснование темы:

Мышечная ткань взрослого человека составляет 40–42% (у пожилых людей – 30%, у детей – 35%) от массы тела. Основная динамическая функция мышц – обеспечить подвижность путем сокращения и последующего расслабления. При сокращении мышц осуществляется работа, связанная с превращением химической энергии в механическую.

К мышечной ткани относятся (типы):

- скелетная мускулатура (поперечно-полосатые относятся мышцы языка и верхней трети пищевода, внешние мышцы глазного яблока и некоторые другие);
- сердечная мышца;
- гладкая мускулатура.

Отличаются они друг от друга морфологически, биохимически, функционально, а также в зависимости от путей развития.

Морфологически миокард относится к поперечно-полосатой мускулатуре, но по ряду других признаков он занимает промежуточное положение.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТОЙ МЫШЦЫ

Поперечно-полосатая мышца состоит из многочисленных удлинённых волокон, миобластов (многоядерных клеток гигантских размеров), покрытых эластичной оболочкой - сарколеммой (рис. 1). Двигательные нервы входят в различных точках в мышечное волокно и передают ему электрический импульс, вызывающий сокращение. Диаметр функционально зрелого поперечно-полосатого мышечного волокна обычно составляет от 10 до 100 мкм, а длина волокна часто соответствует длине мышцы.

Миобласты состоят из миофибрилл, функциональной единицей которых является саркомер. Миофибриллы расположены по длине волокна в полужидкой саркоплазме (толщиной менее 1 мкм), обладающих поперечной исчерченностью (зависящая от оптической неоднородности белковых веществ).

Выделяют белые и красные (с высоким содержанием миофибрилл и миоглобина, обеспечивают более быстрые мышечные сокращения, тонического характера) мышечные волокна.

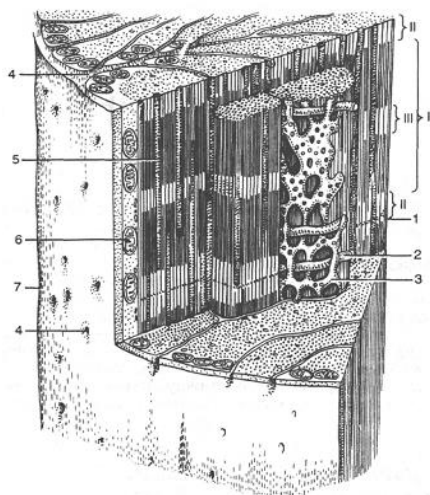


Рис. 1. Структура волокна скелетной мышцы (по Гассельбаху).

I - А-диск; II - I-диск; III - H-зона; 1 - Z-линия; 2 - Т-система; 3 - саркоплазматическая сеть; 4 - устье Т-системы; 5 - гликоген; 6 - митохондрия; 7 - сарколемма

В саркоплазме мышечных волокон обнаруживается и ряд других структур: митохондрии, микросомы, рибосомы, трубочки и цистерны саркоплазматической сети, различные вакуоли, глыбки гликогена и включения липидов, играющие роль запасных энергетических материалов, и т.д. (рис. 1).

При рассмотрении миофибриллы под электронным микроскопом видны два типа вытянутых нитей: темные и светлые полосы или диски (А и I диски).

Один тип — это толстая нить, соответствующая А диску (**анизотропный диск**). Центральная зона А диска (H зона) при этом кажется менее оптически плотной, чем остальная его часть. В центре диска А расположена **линия М**, которую можно наблюдать только в электронном микроскопе.

Второй тип — тонкая нить, расположена в I диске и проходит в А диск, не достигая H зоны. **Диск I** (изотропный диск), с очень слабым двойным лучепреломлением. В фазово-контрастном микроскопе они кажутся более светлыми, чем диски А. Длина дисков I около **1 мкм**. Каждый из них разделен на две равные половины Z-мембраной, или Z-линией.

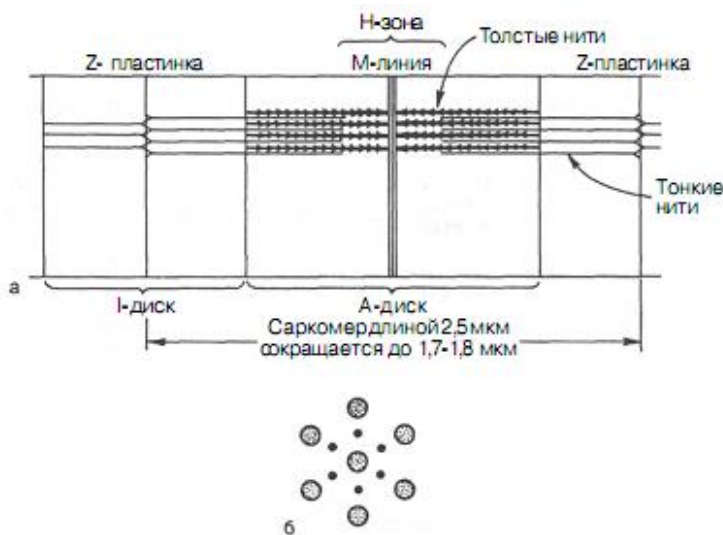
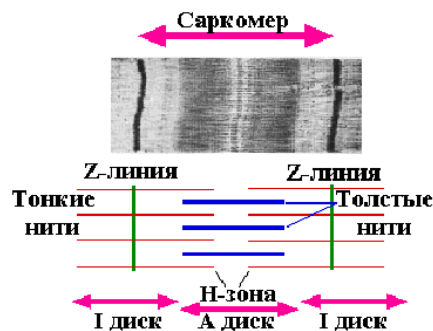


Рис. 2. Строение саркомера скелетной мышцы.
 а - схематическое изображение структуры саркомера; б - расположение толстых и тонких нитей (поперечное сечение).



Толстые нити состоят из белка **миозина**, и тонкие - как правило, из второго компонента актомиозиновой системы - белка **актина**. Тонкие (актиновые) нити начинаются в пределах каждого саркомера у Z-линии, тянутся через диск I, проникают в диск А и прерываются в области зоны Н (рис. 2).

Согласно модели, предложенной Э. Хаксли и Р. Нидергерке, а также Х. Хаксли и Дж. Хенсон, при сокращении миофибрилл одна система нитей проникает в другую, т.е. нити начинают, как бы скользить друг по другу, что и является причиной мышечного сокращения.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТОЙ МЫШЦЫ

В мышечной ткани взрослых животных и человека содержится от 72 до 80% воды. Около 20–28% от массы мышцы приходится на долю сухого остатка, главным образом белков. Помимо белков, в состав сухого остатка входят гликоген и другие углеводы, различные липиды и др.

Таблица 1. Химический состав поперечно-полосатой мышц млекопитающих

Компонент	В процентах от сырой массы	Компонент	В процентах от сырой массы
Вода	72-80	креатинин	0,003-0,005
Плотные вещества	20-28	АТФ	0,25-0,40
В том числе:		карнозин	0,2-0,3
белки	16,5-20,9	карнитин	0,02-0,05
гликоген	0,3-3,0	ансерин	0,09-0,15
фосфоглицериды	0,4-1,0	свободные аминокислоты	0,1-0,7
холестерин	0,06-0,2	молочная кислота	0,01-0,02
креатин + креатин-фосфат	0,2-0,55	зола	1,0-1,5

Данилевский впервые разделил экстрагируемые из мышц белки на 3 класса: растворимые в воде, экстрагируемые 8–12 % раствором хлорида аммония и белки, извлекаемые разбавленными растворами кислот и щелочей.

Около 25 % массы мышц составляют белки. **В настоящее время их делят на три основные группы:** • миофибрилярные (сократительные) белки (35% от общего количества мышечного белка); • белки саркоплазмы (45%); • белки стромы (20%). Эти группы белков резко отличаются друг от друга по растворимости в воде и солевых средах с различной ионной силой.

МИОФИБРИЛЛЯРНЫЕ (СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ) БЕЛКИ

К группе миофибрилярных белков относятся миозин, актин и актомиозин – белки, растворимые в солевых средах с высокой ионной силой, и так называемые регуляторные белки: тропомиозин, тропонин, α- и β-актинин, образующие в мышце с актомиозином единый комплекс. Перечисленные миофибрилярные белки тесно связаны с сократительной функцией мышц.

1. **Миозин** (рис. 3) основа толстых нитей, составляет 50–55% от сухой массы миофибрилл. Молекулярная масса ≈ 500 кДа. Представление о миозине как о главном белке миофибрилл сложилось в результате работ **А.Я. Данилевского, О. Фюрта, Э. Вебера** и ряда других исследователей. Однако всеобщее внимание к миозину было привлечено лишь после опубликования работ **В.А. Энгельгардта и М.Н. Любимовой (1939–1942)**. В этих работах впервые было показано, что миозин обладает АТФ-азной активностью, т.е. способностью катализировать расщепление АТФ на АДФ и H_3PO_4 . Химическая энергия АТФ, освобождающаяся в ходе данной ферментативной реакции, превращается в механическую энергию сокращающейся мышцы. Молекула миозина имеет вытянутую часть, состоящую из двух спиралей, накрученных одна на другую. Каждая спираль имеет на одном конце глобулярную головку и называется тяжёлой цепью. Возле головок спиралей располагается по 2 лёгких цепи. При обработке ферментами молекула миозина распадается на 2 больших

фрагмента: **тяжёлый меромиозин** (обе головки и часть двойной спирали) и **лёгкий меромиозин** (остальная часть двойной спирали).

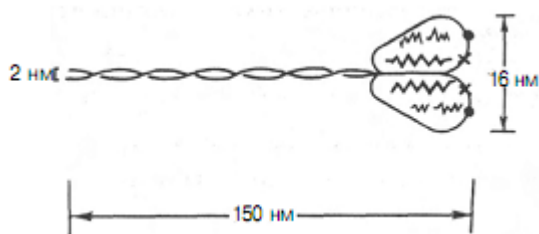


Рис. 3. Строение молекулы миозина.
Объяснение в тексте.

Тяжёлые цепи образуют длинную закрученную α -спираль

(«хвост» молекулы), конец каждой тяжелой цепи совместно с легкими цепями создает глобулу («головка» молекулы), способную соединиться с **актином**. Легкие цепи, находящиеся в «головке» миозиновой молекулы, принимают участие в проявлении АТФ-азной активности миозина, гетерогенны по своему составу. Количество легких цепей в молекуле миозина у различных видов животных и в разных типах мышц неодинаково.

Толстые нити (толстые миофиламенты) в саркомере образуются, полученное путем соединения большого числа определенным образом ориентированных в пространстве молекул миозина (рис.4).



Рис. 4. Строение толстого миозинового филамента.

Функции миозина:

- структурная — около 400 молекул миозина соединяются между собой «хвост» в «хвост» и образуют толстую нить;
- каталитическая — головка миозина способна расщеплять АТФ;
- контактная — соединяется с актином своими головками, которые в таком случае называются «поперечные мостики».

2. Актин - белок тонких нитей, составляющий 20% от сухой массы миофибрилл, был открыт **Ф. Штраубом в 1942 г.** Молекулярная масса — 42 кДа. Известны две формы актина: **глобулярный актин (G-актин, globular)** и **фибрилярный актин (F-актин)** в виде двойной спирали. Молекула G-актина состоит из одной полипептидной цепочки (глобула), в образовании которой принимают участие 374 АМК остатка. При повышении ионной силы до физиологического уровня G-актин полимеризуется в F-актин (фибрилярная форма). На электронных микрофотографиях волокна F-актина выглядят как две нити бус, закрученных одна вокруг другой (рис. 5).

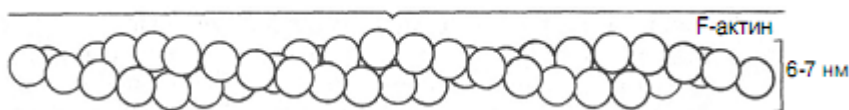


Рис. 5. Схематическое изображение F-актина

Актомиозин образуется при соединении миозина с F-актином. Актомиозин, как естественный, так и искусственный, т.е. полученный путем соединения *in vitro* высокоочищенных препаратов миозина и F-актина, обладает АТФ-азной активностью, которая отличается от таковой миозина, она значительно возрастает в присутствии стехиометрических количеств F-актина. **Фермент актомиозин** активируется ионами Mg^{2+} и ингибируется этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) и высокой концентрацией АТФ, тогда как миозиновая АТФ-аза ингибируется ионами Mg^{2+} , активируется ЭДТА и не ингибируется высокой концентрацией АТФ. Оптимальные значения pH для обоих ферментов также различны.

3. Тропомиозин (открыт **К. Бейли в 1946 г.**) - белок тонких нитей. Молекулярная масса—65 кДа. Состоит из двух α -спиралей в форме палочки. Располагается в бороздках, идущих вдоль обеих сторон актина. Каждая его молекула лежит на 7 молекулах актина. На долю тропомиозина приходится около 4–7% всех белков миофибрилл.

4. Тропонин – глобулярный белок тонких нитей, открытый **С. Эбаси в 1963 г.**; его мол.масса 80кДа. Состоит из 3 субъединиц: С-кальцийсвязывающий, обеспечивает связь с тропомиозином (Тн-С); I-ингибиторная (Тн-I), которая блокирует преждевременное соединение головок миозина с актином, может ингибировать АТФ-азную активность; Т-для связывания с тропомиозином (Тн-Т).

В скелетных мышцах взрослых животных и человека тропонин (Тн) составляет лишь около 2% от всех миофибрилярных белков

Тропонин, соединяясь с тропомиозином, образует комплекс, названный **нативным тропомиозином**. Этот комплекс прикрепляется к актиновым филаментам и придает актомиозину скелетных мышц позвоночных чувствительность к ионам Ca^{2+} (рис. 6).

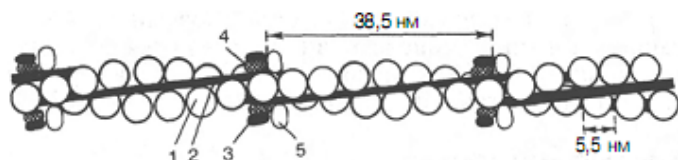


Рис. 6. Структура тонкого филамента. 1 - актин; 2 - тропомиозин; 3 - тропонин С; 4 - тропонин I; 5 - тропонин Т.

Установлено, что тропонин (его субъединицы Тн-Т и Тн-И) способен фосфорилироваться при участии цАМФ-зависимых протеинкиназ. Вопрос о том, имеет ли отношение фосфорилирование тропонина *in vitro* к регуляции мышечного сокращения, остается пока открытым.

5. α-актинин. Входит в Z-линию и фиксирует там тонкие нити. **6. β-актинин.** Регулирует длину тонких нитей. **7. М-белок.** Входит в M-линию и фиксирует там толстые нити. **8. С-белок.** Регулирует длину толстых нитей. **9. Десмин.** Содержится между Z-линиями соседних миофибрилл, обеспечивая совпадение границ всех их саркомеров.

Белки саркоплазмы - протеины, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой. **Глобулин X** представляет собой смесь различных белковых веществ со свойствами глобулинов. В состав белков группы **миогена** входит ряд протеинов, наделенных ферментативной активностью: например, ферменты гликолиза. **Дыхательный пигмент миоглобин** и разнообразные белки-ферменты, локализованные главным образом в митохондриях и катализирующие процессы тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, а также многие стороны азотистого и липидного обмена. **Парвальбумины** (кальмодулин и кальсеквестрин и др.), которые способны связывать ионы Ca^{2+} .

Таким образом, к белкам саркоплазмы можно отнести: миоглобин, ферменты гликолиза, кальмодулин и кальсеквестрин, способные обратимо связываться с ионами Ca^{2+} .

Белки стромы. Это коллаген и эластин. Известно, что строма скелетных мышц, остающаяся после исчерпывающей экстракции мышечной кашицы солевыми растворами с высокой ионной силой, состоит в значительной мере из соединительнотканых элементов стенок сосудов и нервов, а также сарколеммы и некоторых других структур.

Небелковые азотистые экстрактивные вещества

В скелетных мышцах содержится ряд важных азотистых экстрактивных веществ: адениновые нуклеотиды (АТФ, АДФ и АМФ), нуклеотиды неаденинового ряда, креатинфосфат, креатин, креатинин, карнозин, ансерин, свободные аминокислоты и др.

1. Креатина и креатинфосфат – составляют до 60% небелкового азота мышц. Они участвуют в химических процессах, связанных с мышечным сокращением.

Синтез креатина происходит в печени, откуда с током крови он заносится в мышечную ткань где, фосфорилируясь, превращается в креатинфосфат. В синтезе креатина участвуют три аминокислоты: аргинин, глицин и метионин.

Карнозин (открыт В.С. Гулевичем в 1900 г.) и **ансерин** (метилованное производное карнозина ансерин) – специфические азотистые имидазолсодержащие дипептиды скелетной мускулатуры позвоночных. Они увеличивают амплитуду мышечного сокращения, предварительно сниженную утомлением. Работами акад. С.Е. Северина показано, что они не влияют непосредственно на сократительный аппарат, но увеличивают эффективность работы ионных насосов мышечной клетки.

Свободные аминокислоты мышц: глутаминовая кислота (до 1,2 г/кг), глутамин (0,8–1,0 г/кг).

А также в состав мембран мышечной ткани входят: ряд фосфоглицеридов: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин; фосфоглицериды принимают участие в обменных процессах; мочевины, мочевая кислота, аденин, гуанин, ксантин и гипоксантин – встречаются в небольшом количестве и являются либо промежуточными, либо конечными продуктами азотистого обмена.

Безазотистые вещества: 1. **Гликоген** - концентрация колеблется от 0,3 до 2% и выше. На долю других представителей углеводов приходится десятые и сотые доли процента. 2. Следы свободной глюкозы; 3. очень мало гексозофосфатов; 4. триглицериды; 5. холестерин; 6. карбоновые кислоты (лактат, ПВК и др., образуются в процессе метаболизма глюкозы).

Состав неорганических солей в мышцах разнообразен. Из катионов больше всего **калия** (внутри миобластов) и **натрия** (в межклеточном веществе). Значительно меньше в мышцах магния, кальция и железа; микроэлементов: кобальт, алюминий, никель, бор, цинк и др.

ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ И ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ

Сердечная мышца по содержанию ряда химических соединений занимает промежуточное положение между скелетной мускулатурой и гладкими мышцами.

ПОКАЗАТЕЛЬ	СКЕЛЕТНЫЕ МЫШЦЫ	ГЛАДКАЯ МУСКУЛАТУРА
БЕЛКОВЫЙ АЗОТ	БОЛЬШЕ (30–31 МГ/Г)	МЕНЬШЕ (20,3 МГ/Г)
МИОФИБРИЛЛЯРНЫЕ БЕЛКИ	БОЛЬШЕ	МЕНЬШЕ
БЕЛКИ СТРОМЫ	МЕНЬШЕ	ВЫШЕ (И МИОКАРДЕ)
МИОАЛЬБУМИН	МЕНЬШЕ	БОЛЬШЕ (И В МИОКАРДЕ)
АТФ НА 1 Г ТКАНИ, МАКРОЭРГОВ	БОЛЬШЕ НА 4,43 МКМОЛЬ	МЕНЬШЕ 1,38МКМОЛЬ (2,6 МКМОЛЬ, В МИОКАРДЕ)
АНСЕРИН И КАРНОЗИН	БОЛЬШЕ	СЛЕДЫ (В МИОКАРДЕ И ГЛАДКОЙ

		МУСКУЛАТУРЕ)
ФОСФОГЛИЦЕРИДЫ	МЕНЬШЕ	БОЛЬШЕ (В МИОКАРДЕ)
ФОСФОШЛИПИДЫ	БОЛЬШЕ	МЕНЬШЕ

Особенности гладких мышц: 1. в сократительном аппарате содержат **кальдесмон**, выполняющий функцию тропонина; 2. их миозиновая АТФ-азная активность в 10 раз ниже; 3. их миозин может соединяться с актином только при условии фосфорилирования лёгких цепей;

Гладкие мышцы — медленные, но способны длительно поддерживать напряжение. Кроме того, они похожи на сердечную мышцу тем, что сокращаются непроизвольно.

Известно, что **миозин, тропомиозин и тропонин** сердечной мышцы и гладкой мускулатуры заметно отличаются по своим физико-химическим свойствам от соответствующих белков скелетной мускулатуры.

ИЗМЕНЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Показатели	Мышцы эмбрионов	Мышцы взрослого живот-го
вода	Больше	Меньше
Общий белка	Меньше	Больше
миозин и актомиозин	Ниже	Выше
белки стромы, миоальбумин, глобулины	Выше	Ниже
нуклеопротеины, РНК и ДНК	Более высокое	Низкое
АТФ и КФ	Меньше	Больше

Ансерин и карнозин появляются в мышечной ткани в строго определенный период онтогенеза. Время их появления тесно связано с мышечной функцией и совпадает с формированием рефлекторной дуги, обеспечивающей возможность двигательного рефлекса, появлением Ca^{2+} -чувствительности актомиозина и началом работы ионных насосов.

В ходе онтогенеза изменяется изоферментный спектр ЛДГ.

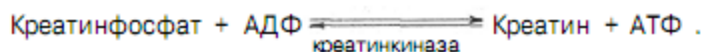
экстракты из скелетных мышц	фермент
3–5-месячного эмбриона	ЛДГ3 и ЛДГ2 приходится соответственно 40 и 31%
у взрослых особей	ЛДГ5 и ЛДГ4 активнее
В процессе развития плода	повышается активность изофермента I гексокиназы и снижается активность изофермента II

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ МЫШЦ

При сокращении мышц происходит переход химической энергии в механическую. Это осуществляется за счет энергии, освобождающейся при гидролизе АТФ с образованием АДФ и неорганического фосфата. В поперечно-полосатой мышце сокращение зависит от концентрации ионов Ca^{2+} , регулируемой саркоплазматическим ретикуломом (СПР) – специализированной системой мембран, накапливающей Ca^{2+} в состоянии покоя и высвобождающей его при воздействии на мышечное волокно нервного импульса.

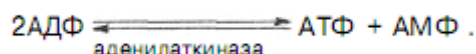
Пути ресинтеза АТФ:

1. **Креатинкиназный путь** Трансфосфорилированием АДФ с креатинфосфатом. Данная реакция катализируется ферментом **креатинкиназой**.



Данный путь чрезвычайно быстрым и максимально эффективным (за счет каждой молекулы КФ образуется молекула АТФ). Применив специфический ингибитор креатинкиназы (**1-фтор-2,4-динитро-фенол**), а также с помощью агентов, препятствующих окислительному фосфорилированию АДФ в АТФ, Т. Кейн и соавт. (1962) смогли продемонстрировать прямой распад АТФ с одновременным приростом неорганического фосфата и АДФ при одиночном сокращении изолированной мышцы лягушки.

2. **Миокиназный путь** (незнач. кол-во АТФ). Аденилаткиназная реакция:



Запасы креатинфосфатат (КФ) в мышце невелики, а доступность энергии КФ имеет ценность для работающей мышцы только в том случае, если расход его постоянно возмещается синтезом АТФ в процессе метаболизма.

Регенерация богатых энергией фосфорных соединений происходит за счет 2-х процессов – **гликолиза**, и **окислительного фосфорилирования** (ОФ). При достаточном снабжении O_2 мышца, несмотря на анаэробный механизм сокращения, в конечном итоге работает за счет энергии, образующейся при окислении (в цикле Кребса) как продуктов распада углеводов, так и ряда других субстратов тканевого дыхания, в частности жирных кислот, а также ацетата и ацетоацетата. КФ в мышечной ткани (в частности, в миокарде) способен выполнять не только роль как бы депо легко мобилизуемых макроэргических фосфатных групп, но также роль транспортной формы макроэргических фосфатных связей, образующихся в процессе тканевого дыхания и связанного с ним ОФ. Предложена схема переноса энергии из митохондрий в цитоплазму клетки миокарда (рис. 7).

АТФ–АДФ-транслоказа (локализованной на внутренней мембране митохондрий) транспортирует матричную АТФ и передает ее в активный центр крeатинкиназы (расположенный на внешней стороне внутренней мембраны). В межмембранном пространстве (в присутствии Mg^{2+}) при наличии в среде крeатина образуется равновесный тройной фермент-субстратный комплекс **крeатин–крeатинкиназа–АТФ– Mg^{2+}** , который затем распадается с образованием **КФ** и **АДФ– Mg^{2+}** .

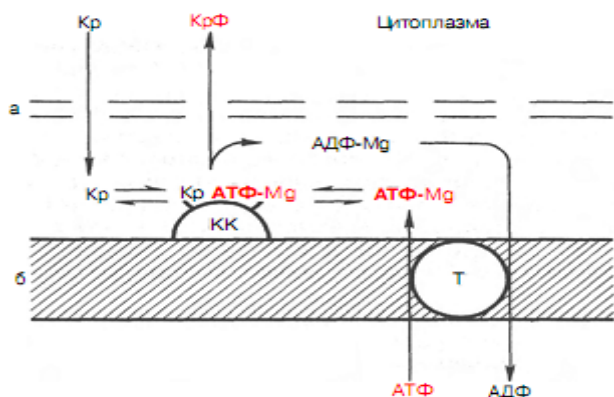


Рис.7. Перенос энергии из митохондрий в цитоплазму клетки миокарда (схема по В.А. Саксу и др.). Объяснение в тексте.

а - наружная мембрана; б - внутренняя мембрана; Кр - крeатин; КрФ - крeатинфосфат; КК - крeатинкиназа; Т - транслоказа.

КФ диффундирует в цитоплазму, где используется в миофибриллярной крeатинкиназной реакции для рефосфорилирования АДФ, образовавшегося при сокращении. Возможно не только в сердечной мышце, но и в скелетной мускулатуре имеется подобный путь транспорта энергии из митохондрий в миофибриллы.

Источники энергии мышечного сокращения

В состоянии покоя. Свободные жирные кислоты (СЖК) и кетонные тела (КТ).

При умеренной нагрузке. СЖК + КТ + глюкоза крови.

Преобладает аэробный метаболизм, аэробный путь ресинтеза АТФ.

При интенсивной мышечной работе скорость расщепления гликогена или глюкозы с образованием молочной кислоты увеличивается в сотни раз. Соответственно содержание лактата в мышечной ткани может повышаться до 1,0–1,2 г/кг и более. С током крови значительное количество лактата поступает в печень, где ресинтезируется в глюкозу и гликоген (глюконеогенез) за счет энергии окислительных процессов.

При максимально интенсивной работе – функционирует крeатинкиназный путь, а через 20с – присоединяется и гликолиз (максимум через 40–80 с).

При максимальной нагрузке. СЖК + КТ + глюкоза крови + гликоген мышц.

Преобладает гликолитический путь.

Ресинтез АТФ в **миокарде** должен происходить намного интенсивнее, чем в скелетной мускулатуре. Для сердечной мышцы теплокровных животных и человека основным путем образования богатых энергией фосфорных соединений является путь ОФ, связанный с поглощением O_2 .

Механизмы энергообеспечения мышечного сокращения

1. Основной регулятор энергетики мышечной клетки-это отношение $[АТФ]/[АДФ] \cdot [Фн]$. В покое концентрация АТФ высокая, а АДФ — низкая, в результате чего тормозится активность ключевых ферментов гликолиза, ЦТК и работа ДЦ. С началом работы мышц концентрация АТФ падает, а АДФ возрастает, что приводит к активации вышеназванных процессов.

2. Накапливающийся при работе мышц лактат поступает из крови в печень, где путём глюконеогенеза превращается в глюкозу, которая поступает в кровь, далее в мышцы, где восстанавливает запас гликогена (глюкозо-лактатный цикл).

3. Аденилаткиназная (миокиназная) реакция: $2 АДФ \leftrightarrow АТФ + АМФ$.

АТФ используется для мышечного сокращения, а АМФ стимулирует гликолиз.

4. Крeатинкиназная реакция: $Крeатин + АТФ \leftrightarrow КФ + АДФ$.

Покоящиеся мышцы содержат в 10–20 раз больше КФ, чем АТФ, но КФ, в отличие от АТФ, не может использоваться мышцами для сокращения.

КФ: 1. транспортная форма энергии в мышцах;

2. с АДФ участвует в образовании АТФ.

Запаса КФ хватает только на 10 с, но за это время запускаются 1–3-й механизмы. Особенно эта система важна для миокарда, так как он очень чувствителен к недостатку кислорода. В **сердечной мышце аэробное окисление** веществ неуглеводной природы при работе имеет большее значение, чем при сокращении скелетной мышцы. Только 30–35% O_2 , поглощаемого сердцем в норме, расходуется на окисление углеводов и продуктов их превращения. **Главным субстратом дыхания в сердечной мышце являются жирные кислоты.** Окисление неуглеводных веществ обеспечивает около 65–70% потребности миокарда в энергии. Из свободных жирных кислот в сердечной мышце особенно легко подвергается окислению олеиновая кислота.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ПРИ ПАТОЛОГИИ

Общие симптомы для большинства заболеваний мышц (прогрессирующие мышечные дистрофии, атрофия мышц в результате их денервации, тенотомия, полимиозит, некоторые авитаминозы и т.д.)	<ul style="list-style-type: none"> • резкое снижение в мышцах содержания миофибриллярных белков; • возрастание концентрации белков стромы и некоторых саркоплазматических белков, в том числе миоальбумина; • снижение уровня АТФ и креатинфосфата; • снижение АТФазной активности контрактильных белков (миозина); • уменьшение количества имидазолсодержащих дипептидов.
При прогрессирующих мышечных дистрофиях и других заболеваниях, связанных с распадом мышечной ткани	<ul style="list-style-type: none"> • часто отмечаются сдвиги в фосфолипидном составе мышц: значительно снижается уровень фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, концентрация сфингомиелина и лизофосфатидилхолина повышается

Ионофор (компонент Ca^{2+} -регулирующей системы СПР)- протеолипид, экстрагируемый из сети; известно, что он ускоряет действие АТФазы как насоса.



Рис. 9. Схематическое изображение происхождения креатинурии при прогрессирующей мышечной дистрофии (по Д.Л. Фердману).

Для многих форм патологии мышечной ткани характерны нарушение метаболизма креатина и его усиленное выделение с мочой (**креатинурия**).

Креатинурия у больных миопатией является результатом нарушения в скелетной мускулатуре процессов фиксации (удержания) креатина и его фосфорилирования. Если нарушен процесс синтеза КФ, то не образуется и креатинина; содержание последнего в моче резко снижается. В результате креатинурии и нарушения синтеза креатинина резко повышается **креатиновый показатель** (креатин/креатинин) мочи. Данный механизм представлен на рис. 9.

При миопатиях изменяется активности ферментов в мышцах: уменьшается активность ферментов, локализованных в саркоплазме; незначительно изменяется активность ферментов, связанных с митохондриями; заметно возрастает активность лизосомальных ферментов. При многих заболеваниях мышечной системы наступают сдвиги в системе цАМФ: снижается содержание цАМФ в мышечной ткани, повышается активность **фосфодиэстеразы** и нарушается способность аденилатциклазы активироваться под влиянием адреналина и фторида натрия.

Нарушение метаболизма сердечной мышцы при ИБС

При ишемии миокарда последовательно развиваются следующие изменения:

1. снижается ОФ и повышается анаэробный обмен;
2. происходит накопление гликогена за счет повышения концентрации катехоламинов и цАМФ;
3. наблюдается раннее ускорение гликогенолиза и гликолиза;
4. высокий уровень цАМФ способствует активации фосфорилазы и переход ее в **фосфорилазу а** и активация **фосфофруктокиназы** – ключевого фермента гликолиза.

Но, постепенно, запасы гликогена истощаются, гликолиз замедляется вследствие внутриклеточного ацидоза, который ингибирует фосфофруктокиназу. Содержание АТФ и КФ в клетке резко снижается в результате нарушения ОФ в митохондриях.

Одно из первых проявлений этого состояния – **нарушение мембранной проницаемости**. Что способствует выходу из клетки ионов, в том числе ионов K^+ , а также ферментов. Дефицит энергетических ресурсов и нарушение ионного состава, существенные изменения различных мембранных «резервуаров», обеспечивающих контроль за уровнем внутриклеточного Са, обуславливают торможение функциональной активности мышечных клеток и их постепенную гибель. В этот же период выявляются изменения состава белков миокарда (резкое снижение содержания миофибриллярных белков и накопление белков стромы).

Нарушение обмена углеводов, белков и липидов (свободные жирные кислоты не окисляются, а преимущественно включаются в ТАГ) при инфаркте миокарда находит отражение в жировой инфильтрации миокарда.

В диагностике инфаркта миокарда используют, в динамике, активность креатинкиназы, АсАТ и ЛДГ в сыворотке крови. Повышение активности указанных ферментов, особенно креатинкиназы, является постоянным и наиболее

высоким. Важно также исследование в сыворотке крови изоферментных спектров креатинкиназы (повышение активности изофермента МВ) и ЛДГ (увеличение активности изоферментов ЛДГ₁ и ЛДГ₂). В последние годы четко показано, что определение в сыворотке крови миокардиально специфичных белков (миоглобин, тропонин Т и др.) – весьма чувствительный ранний тест повреждения миокарда.

II Цель деятельности обучающихся на занятии

Обучающийся должен знать:

1. Мышечную ткань и ее типы;
2. Из каких компонентов состоит поперечно-полосатая мышца;
3. Какие химические компоненты входят в состав поперечно-полосатой мускулатуры;
4. Классификация белков мышечной ткани;
5. Какие белки относятся к миофибриллярным белкам?
6. Миозин, строение и его функции;
7. Актин и актомиозин, строение и механизм действия;
8. Тропомиозин и тропонин и другие миофибриллярные белки;
9. Белки саркоплазмы: миоглобин, ферменты гликолиза, тканевого дыхания, парвальбумин, кальмадулин и др.;
10. Белки стромы (коллаген и эластин);
11. Какие небелковые азотистые вещества входят в состав мышечной ткани;
12. Безазотистые вещества мышечной ткани;
13. Особенности химического состава миокарда;
14. Особенности химического состава гладкой мускулатуры;
15. Источники энергии для мышечного сокращения;
16. Особенности энергообеспечения в миокарде;
17. Особенности биохимических изменений в мышцах при патологии.

Обучающийся должен уметь:

1. в виде схемы показать строение саркомера скелетных мышц.;
2. написать реакцию, катализируемую креатинкиназой.

III Содержание обучения:

Основные вопросы:

1. Мышечную ткань и ее типы;
2. Компоненты поперечно-полосатой мышцы;
3. Химические компоненты поперечно-полосатой мускулатуры;
4. Классификация белков мышечной ткани;
5. Миофибриллярные белки мышечной ткани;
6. Миозин, строение и его функции;
7. Актин и актомиозин, строение и механизм действия;
8. Тропомиозин и тропонин и другие миофибриллярные белки;
9. Белки саркоплазмы: миоглобин, ферменты гликолиза, тканевого дыхания, парвальбумин, кальмадулин и др.;
10. Белки стромы (коллаген и эластин);
11. Небелковые азотистые вещества мышечной ткани;
12. Безазотистые вещества мышечной ткани;
13. Особенности химического состава миокарда;
14. Особенности химического состава гладкой мускулатуры;
15. Источники энергии для мышечного сокращения;
16. Особенности энергообеспечения в миокарде;
17. Особенности биохимических изменений в мышцах при патологии;
18. Схема строения саркомера скелетных мышц;
19. Креатинкиназная реакция.

Тестовые задания:

выберите правильный ответ

А) Интенсивно работающую мышцу обеспечивают энергией:

- 1) аэробное дихотомическое окисление глюкозы
- 2) анаэробное дихотомическое окисление глюкозы
- 3) окисление кетоновых тел
- 4) окисление жирных кислот

Ответ: 2;

Б) Резкое повышение концентрации белка в ликворе характерно для:

1. Энцефалит
2. Острая черепно-мозговая травма

3. геморрагический инсульт
4. Острый гнойный менингит
5. Опухоль мозга

Ответ: 4.

Для каждого вопроса, пронумерованного цифрой, подберите соответствующий ответ, обозначенный буквенным индексом. Один и тот же ответ может быть использован несколько раз.

А) 1) миофибриллярные белки

А. Миозин Б. Миоглобин

2) саркоплазматические белки

В. Актин

Г. Мышечные глобулины

Д. Тропомиозин

Ответ: 1А, В, Д; 2Б, Г.

Б) 1) соединения, временно связывающие аммиак в ткани мозга

А. Глицин Б. Дофамин

2) соединения – медиаторы ЦНС

В. Глутамат Г. α -кетоглутарат

3) соединение – предшественник тормозного медиатора ЦНС

Д. Серотонин

4) соединение, метаболизм которого нарушается при болезни Паркинсона

Е. Норадреналин

Ж. ГАМК

5) соединение, метаболизм которого нарушается при маниакально-депрессивном психозе и некоторых формах шизофрении

З. Ацетилхолин

6) основной медиатор лимбической системы и ретикулярной формации

7) соединения – медиаторы периферической нервной системы

Ответ: 1В, Г; 2А, Б, Д, Е, Ж; 3Б, 4Б, 5Д, 6Д, 7Е, З.

Для каждого вопроса выберите сочетание правильных ответов.

А) Выберите и расставьте в соответствующем порядке ферменты, при участии которых происходит мобилизация гликогена в мышцах.

1. Фосфоорилаза активная

2. Протеинкиназа активная (димер C_2)

3. Глюкозо-6-фосфатаза

4. Аденилатциклаза активная

5. Аденилатциклаза неактивная

6. Фосфоорилаза неактивная

7. Протеинкиназа неактивная (тетрамер $R_2 - C_2$)

Ответ: 5, 4, 7, 2, 6, 1

Б) Установите правильную последовательность возникновения нервного импульса.

1. «Следовая» деполяризация мембраны

2. Поток K^+ из нервной клетки

3. Деполяризация мембраны

4. Потенциал покоя на мембране

5. Реполяризация мембраны

6. «Следовая» гиперполяризация мембраны

7. Инверсия заряда на мембране (потенциал действия)

8. Поток Na^+ внутрь клетки

Ответ: 4, 3, 8, 7, 2, 5, 1, 6, 4.

Для каждого вопроса определите: 1) верно или неверно каждое из приведенных утверждений; 2) если верны оба утверждения, имеется ли между ними причинная связь.

А) Трупное окоченение обусловлено истощением запасов АТФ, потому что при трупном окоченении не происходит диссоциация комплекса актин – миозин.

Ответ: +, +, +.

Ситуационные задачи:

Задача 1. Токсическое действие аммиака на клетки мозга объясняется, в частности, нарушением образования нейромедиаторов. Синтез какого из известных Вам нейромедиаторов будет нарушен в первую очередь?

Ответ: Будет нарушен обмен, в первую очередь, γ -аминомасляной кислоты (ГАМК), поскольку глутаминовая кислота, из которой она образуется, будет использоваться по преимуществу на связывание аммиака с образованием глутамина.

Задача 2. Если препарат скелетной мышцы обработан смесью йодацетата (ингибитор глицеральдегиддегидрогеназы) и ротенона (ингибитор цепи переноса протонов и электронов), то мышца теряет

способность сокращаться в ответ на электростимуляцию. Если препарат скелетной мышцы обработан только ротеноном, то способность к сокращению сохраняется. Объясните результаты.

Подготовьте к предстоящему занятию протокол лабораторных работ: выпишите кратко принципы методов и техники их выполнения, показатели нормы, оставляя место для расчетов и выводов.

Ответ: В первом случае блокируется субстратное фосфорилирование (в гликолизе) и окислительное фосфорилирование (в цепи переноса электронов), в результате чего нарушается синтез АТФ, необходимый для акта мышечного сокращения. Во втором случае в миоците сохраняется возможность синтеза АТФ путем субстратного фосфорилирования (при гликолизе), поэтому мышца реагирует на электростимуляцию.

Наглядные пособия:

Рисунки: 1. Структура волокна скелетной мышцы (по Гассельбаху), 2. Строение саркомера скелетной мышцы, 3. Строение молекулы миозина, 4. Строение толстого миозинового филамента, 5. Схематическое изображение F-актина, 6. Структура тонкого филамента, 7. Перенос энергии из митохондрий в цитоплазму клетки миокарда (схема по В.А. Саксу и др.), 9. Схематическое изображение происхождения креатурии при прогрессирующей мышечной дистрофии (по Д.Л. Фердману); Таблица 1. Химический состав поперечно-полосатой мышц млекопитающих

IX Самостоятельная работа обучающихся:

Составление тестов, кроссвордов и задач по данной теме.

Вопросы для самостоятельного обучения:

1. ИЗМЕНЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В ОНТОГЕНЕЗЕ;
2. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ;
3. НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА МИОКАРДА ПРИ ИБС.

X Список используемой литературы:

Обязательная:

3. Е.С. СЕВЕРИН «Биохимия», МОСКВА 2004;
4. Е.С. СЕВЕРИН «Биохимия с упражнениями и задачами», МОСКВА 2008;
5. ТАГАНОВИЧ А.Д., КУХТА В.К., МОРОЗКИНА Т.С., ОЛЕЦКИЙ Э. И. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ//Краткий курс лекций для иностранных учащихся стоматологического факультета, МИНСК 2005, С.114-118

Дополнительная:

6. ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
7. МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Биохимия нервной ткани. Химический состав. Медиаторы.

Нервная ткань – это система связанных между собой нервных клеток и клеток нейроглии, которая обеспечивает ряд специфических функций: руководит работой различных органов и систем, устанавливает взаимосвязь организма с внешней средой и объединяет все части организма в единое целое. Особенности химического состава нервной ткани По химическому составу нервная ткань значительно отличается от других тканей. Особенности химического состава нервной ткани определяет гематоэнцефалический барьер. Он имеет выборочную проницаемость для различных метаболитов организма и токсинов, а также способствует накоплению некоторых веществ в нервной ткани. Липиды нервной системы. В нервной системе большее содержание липидов, чем в других тканях. Среди липидов мозга преобладают сложные липиды: глицерофосфолипиды (лецитин), сфинголипиды и гликолипиды (ганглиозиды, цереброзиды, сульфолипиды). Единственным стероидом, который встречается в нервной ткани, является холестерол. Липиды в нервной ткани выполняют целый ряд функций: они составляют основу плазматических мембран, входят в состав миелинового слоя, выступают в роли изоляторов и способствуют прохождению нервного импульса вдоль аксона. Нарушения в структуре, содержании и метаболизме липидов приводят к развитию тяжелых неврологических заболеваний. Свободные аминокислоты нервной системы. В клетках головного мозга происходит активный метаболизм аминокислот, концентрация которых значительно превышает их содержание в печени. Аминокислоты в нервной системе, в основном, играют роль нейромедиаторов либо их предшественников. Центральное место в обмене аминокислот мозга занимает глутаминовая кислота. Она является медиатором ЦНС и предшественником γ -аминомасляной кислоты (ГАМК), которая является главным тормозным медиатором центральной нервной системы. ГАМК образуется при декарбоксилировании глутаминовой кислоты, происходящем в нервных окончаниях. Данный медиатор хранится в синаптических везикулах и выделяется в ответ на специфический сигнал. Другой важной аминокислотой нервной ткани является глицин – нейромедиатор, который также используется в синтезе белков, глутатиона и креатина. Поскольку глицин медленно проходит сквозь гематоэнцефалический барьер, он частично синтезируется в тканях мозга из глюкозы и серина. Нарушения в метаболизме аминокислот имеют тяжелые невротические последствия. Белки нервной системы. По структуре и химическим свойствам белки нервной ткани можно разделить на простые, сложные, кислые и основные. Простые белки в свою очередь делят на четыре класса: нейроральбумины, нейроглобулины, катионные белки и опорные белки – нейросклеропротеины (нейроколлагены, нейроэластины, нейростромины и т.д.). Сложные белки нервной ткани представлены нуклеопротеинами, липопротеинами, фосфопротеинами, гликопротеинами. Характерной особенностью нейрональных белков является наличие сложных образований – липонуклеопротеинов и липогликопротеинов. К кислым нейроспецифическим белкам относят белок S100, в состав которого входит большое количество остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот. Данный белок играет значительную роль в процессах формирования и реализации памяти. Углеводы нервной системы и особенности энергетического обмена. В клетках головного мозга практически единственным источником энергии является глюкоза. Если поступление глюкозы недостаточно, в тканях мозга используется гликоген, но запасы данного полисахарида в нервной ткани незначительны. Главным источником энергии в мозге является аэробное окисление глюкозы до воды и углекислого газа. Однако в нервной ткани довольно интенсивно происходит и анаэробный гликолиз. При длительном голодании нейроны начинают использовать в качестве источников энергии кетоновые тела. Другие соединения не используются нейронами, поскольку жирные кислоты не проходят гематоэнцефалический барьер. Нейромедиаторы Нейромедиаторы либо нейротрансмиттеры – биомолекулы, обеспечивающие передачу импульсов в нервной системе от одного нейрона к другому, а также от нейрона на эффекторный орган. По химической природе нейромедиаторы делят на такие группы: ацетилхолин, биогенные амины (катехоламины – норадреналин, дофамин, серотонин), аминокислоты и их производные (ГАМК, глицин, глутамат, аспаргат). 1. Ацетилхолин – производное холина и уксусной кислоты – наиболее распространенный возбуждающий медиатор. $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{C}(\text{H}_2)_2-\text{N}(\text{CH}_3)_3$ Ацетилхолин $\text{H}_3\text{C}-\text{N}(\text{CH}_3)_3$ Хранится ацетилхолин в синаптических везикулах нервных окончаний и высвобождается путем экзоцитоза. Сигналом для высвобождения ацетилхолина является увеличение концентрации ионов Ca^{2+} в нервных окончаниях. Расщепление медиатора в синаптической щели производится ферментом ацетилхолинэстеразой. 2. Биогенные амины. Катехоламины синтезируются в нервной системе из тирозина в несколько этапов: Тирозин $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{COOH}$ $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{OH}$ $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{COOH}$ $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OH}$ $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ ДОФА Дофамин Норадреналин $\text{O}-\text{CO}_2$ Дофамин – принимает участие в регуляции поведения, двигательной активности, работы сердечно-сосудистой системы, кишечника и почек. Существуют несколько типов рецепторов дофамина D1, D2, D3, D4. С нарушением обмена дофамина и функций дофаминовых рецепторов связано развитие шизофрении, алкоголизма, депрессивных состояний, болезни Паркинсона и других нарушений. Норадреналин – принимает участие в процессах узнавания и запоминания, а также в адаптивных процессах. Развитие депрессивных состояний связывают также с уменьшением норадренергической активности в ЦНС. Серотонин – является производным 5-гидрокситриптофана, принимает участие в регуляции таких психоэмоциональных состояний как: тревога, агрессия, сексуальное поведение, в контроле циклов физиологического сна. Серотонин $\text{N}-\text{H}-\text{OH}-\text{H}_2\text{C}-\text{C}(\text{H}_2)-\text{NH}_2$ Триптофан $\text{N}-\text{H}-\text{H}_2\text{C}-\text{C}(\text{H}_2)-\text{NH}_2$ 5-Гидрокситриптофан $\text{N}-\text{H}-\text{OH}-\text{H}_2\text{C}-\text{C}(\text{H}_2)-\text{NH}_2$ COOH COOH $\text{O}-\text{CO}_2$ Нарушение обмена серотонина и работы серотониновых рецепторов способствуют развитию депрессивных состояний, шизофрении, алкоголизма, наркомании. Биогенные амины синтезируются из предшественников с помощью ферментов декарбоксилаз, а обезвреживаются за счет аминооксидаз (моноаминоксидазы, диаминоксидазы). Коферментом данных ферментов является производное витамина B6 – пиридоксальфосфат. 3. Аминокислоты и их производные как нейромедиаторы. Аминокислотынейромедиаторы делятся на два класса: возбуждающие кислые аминокислоты и тормозные нейтральные аминокислоты. К первой группе относят глутаминовую и аспарагиновую кислоты, ко второй – ГАМК, глицин, таурин. ГАМК образуется из глутамата под действием глутаматдекарбоксилазы. Дальнейшее последовательное окисление ГАМК включает трансаминирование с образованием полуальдегида янтарной кислоты, окисление в сукцинат и, наконец, окисление через ЦТК. Нейрохимические механизмы действия психотропных средств Психотропные лекарственные средства – это фармакологические препараты, которые используются при нарушениях психической деятельности

человека. Выделяют такие звенья синаптической передачи в головном мозге, на которые действуют регулирующим либо коррегирующим образом психотропные препараты различной направленности: 1. Ферментативный синтез и расщепление нейромедиаторов. 2. Депонирование нейромедиатора в везикулах пресинаптических окончаний. 3. Высвобождение медиаторов. 4. Взаимодействие нейромедиатора с постсинаптическими рецепторами. 5. Взаимодействие нейромедиатора со структурами пресинаптической мембраны. Наиболее распространенными являются такие группы психотропных препаратов: нейролептики, антидепрессанты, анксиолитики и снотворные средства. Нейролептики – лекарственные средства, которые используют для лечения психозов, главным образом, шизофрении, а также других эндогенных и экзогенных психических расстройств, проявляющихся тяжелыми психоэмоциональными нарушениями. В основе нейрохимического механизма действия нейролептиков лежит их антагонизм к дофаминовым рецепторам подтипа D₂, локализованным, в основном, в лимбической системе головного мозга. Представителями данной группы препаратов являются аминазин (фенотиазин) и бутирофенон (галоперидол). Антидепрессанты – психофармакологические препараты, которые используются для лечения депрессий различного генеза. По механизму нейрохимического действия антидепрессанты делят на: ингибиторы обратного захвата моноаминов и ингибиторы моноаминоксидазы (МАО). Первая группа блокирует систему обратного захвата норадреналина, серотонина либо дофамина пресинаптическими нервными окончаниями, что приводит к их накоплению в синапсах и стимуляции нейротрансмиссивного моноаминергического сигнала (имипарин, амитриптилин). Ингибиторы МАО – соединения с различной степенью селективности и обратимости блокирования моноаминоксидазы – фермента, который катализирует окислительное дезаминирование моноаминов в митохондриях головного мозга (ипрониазид, пиразидол). Анксиолитики – препараты, которые обладают успокаивающим действием, ослабляя состояние психического и эмоционального напряжения, тревоги. В наше время наиболее широко используются в качестве анксиолитиков производные бензодиазепа. Нейрохимический механизм действия данной группы веществ связан с их взаимодействием с ГАМК-рецепторами постсинаптических мембран ГАМК-эргических нейронов, что потенцирует тормозящий эффект ГАМК. Снотворные средства – группа психоактивных лекарственных средств, используемых для облегчения наступления сна и обеспечения его достаточной продолжительности, а также при проведении анестезии. Данные препараты классифицируют, исходя из принципа их действия и химического строения: агонисты бензодиазепиновых рецепторов (бензодиазепины), снотворные средства с наркотическим типом действия (барбитураты, этаминал натрия), блокаторы H₁ гистаминовых рецепторов (доксиламин) и т.д. Барбитураты (фенобарбитал, амобарбитал) подобно бензодиазепинам, взаимодействуют с барбитурат-бензодиазепиновыми рецепторами, нековалентно связанными с ГАМК-рецепторами. В результате повышается их сродство к ГАМК. Вместе с этим данные вещества при поступлении в митохондрии блокируют первый комплекс дыхательной цепи – NADHдегидрогеназу. Что приводит к торможению окислительного фосфорилирования и, как следствие, к нарушению синтеза АТФ.

44, 48. Биохимия соединительной ткани. Организация межклеточного матрикса. Общие сведения о структуре коллагеновых белков.

Биохимическая диагностика заболеваний соединительной ткани.

I Научно-методическое обоснование темы:

Ткани организма построены из клеток и внеклеточной жидкости, внеклеточный матрикс. В его состав входят разнообразные полисахариды и белки, которые самопроизвольно организуются в упорядоченную структуру.

В соединительной ткани – внеклеточный матрикс занимает большую часть, чем клетки.

Функции соединительной ткани:

- Активный обмен метаболитами и ионами между кровью и тканями;
- Формирование структур органов и тканей в эмбриогенезе и постнатальном периоде;
- Подвижность трущихся поверхностей суставов, так как она образует покрывающий их хрящ;
- Защиту от внешних воздействий, регулируя функциональное состояние фагоцитов и клеток иммунной системы;
- Регенерацию и замещение дефектов путем стимулирования функциональной активности и пролиферации клеток ткани.

Формы соединительной ткани:

1. **Минерализованная** (зубы или кости);

2. **Неминерализованная** – все остальные виды соединительной ткани (прозрачное вещество роговицы глаза, сухожилия, кровь, лимфа, синовиальная жидкость и т.д.)

КЛАССИФИКАЦИЯ

A. СОБСТВЕННО СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ ТКАНЬ:

1. рыхлая волокнистая неоформленная
2. плотная волокнистая неоформленная
3. плотная волокнистая оформленная

Б. СКЕЛЕТНЫЕ СОЕДИНИТЕЛЬНЫЕ ТКАНИ:

1. хрящевая ткань
2. костная ткань
3. развитие кости

В. СПЕЦИАЛЬНЫЕ ВИДЫ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ:

1. белая жировая
2. бурая жировая
3. пигментная

4. студенистая
5. ретикулярная

Компоненты соединительной ткани

Клеточные элементы

1. Фибробласты, хондробласты, остеобласты

Межклеточное вещество

1. Структурные (фибрилярные) белки

2. Тучные клетки
3. Плазматические клетки

- Коллагеновые волокна
- Эластические волокна
- Ретикулиновые волокна

2. Специализированные (адгезивные) белки: Фибрилин; Фибронектин; Ламинины и т.д.

3. Протеогликаны (ГАГ).

Функции межклеточного матрикса:

1. Каркас органов и тканей
2. «Биологический» клей
3. Регуляция водно-солевого обмена
4. Образует высокоспециализированные структуры – кости, зубы, хрящи, сухожилия, базальные мембраны

Внеклеточный матрикс неминерализованной соединительной ткани образуют макромолекулы 2 основных классов:

1. протеогликаны (ГАГ) – присутствуют как в свободном виде, так и в связанном состоянии с белками (чаще всего) или липидами (такие связанные комплексы называют глюкоконъюгатами).
2. фибриллярные белки (структурные, адгезивные и неадгезивные)

ГАГ (табл.1.) – это длинные неразветвленные полисахаридные цепи, состоящие из повторяющихся полисахаридных звеньев $-[A-B]_n-$.

Компоненты ГАГ (мономер):

1. Гексуриновая кислота: бета-D-глюкуроновая кислота, бета-L-идуриновая кислота. В иногда - бета-D-галактоза.
2. Гексозамины представлены глюкозамин и галактозамин, а чаще их ацетильными производными: бета-D-N-ацетилглюкозамин, бета-D-N-ацетилгалактозамин.

Сульфатные и карбоксильные группы в структуре ГАГ придают ему отрицательный заряд.

Протеогликаны – ВМС, состоящие из белка (5-10 %) и ГАГ (90-95%); могут составлять до 50% сухой массы.

Функции ГАГ и протеогликанов

1. Структурные компоненты межклеточного матрикса
2. Специфически взаимодействуют с белками межклеточного матрикса
3. Являясь полианионами могут присоединять (кроме воды) большие кол-ва катионов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и т.д.)
4. Защитная функция
5. Рессорная функция в суставных хрящах
6. ГС- создают фильтрационный барьер в почках; являясь компонентами плазматических мембран функционируют как рецепторы
7. КС- и ДС- обеспечивают прозрачность роговицы
8. Гепарин является антикоагулянтом

СТРОЕНИЕ ПРОТЕОГЛИКАНОВ

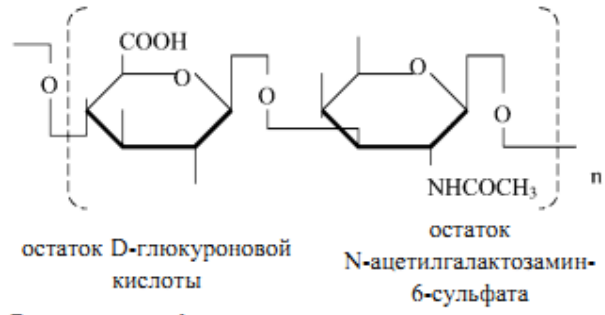
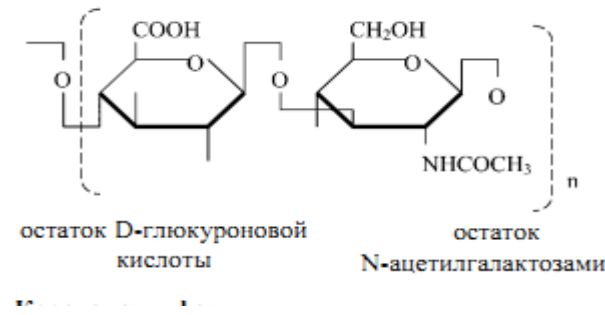


4 главные группы ГАГ: гиалуроновую кислоту, хондроитинсульфат и дерматансульфат, гепарансульфат и гепарин, кератансульфат.

Белковая часть составляет около 5 %.

Таблица 1. ГАГ

<p>1. Гиалуроновая кислота.</p> <p>остаток D-глюкуроновой кислоты</p> <p>остаток N-ацетилгалактозамин-4-сульфата</p>	<p>2. Хондроитин-4-сульфат.</p> <p>Содержится в матриксе соединительной ткани.</p> <p>остаток L-идуриновой кислоты</p> <p>остаток N-ацетилгалактозамин-4-сульфата</p>
--	---

<p>3. Хондритин-6-сульфат. Содержится в матриксе соединительной ткани.</p>  <p>остаток D-глюкуроновой кислоты остаток N-ацетилгалактозамин-6-сульфата</p>	<p>4. Дерматансульфат. Содержится в коже.</p>  <p>остаток D-глюкуроновой кислоты остаток N-ацетилгалактозамина</p>
<p>5. Кератансульфат. Содержится в роговице глаза и хрящевой ткани.</p>	<p>6. Гепарин. Антикоагулянт</p>

Синтез протеогликанов и ГАГ

Полипептидные цепи (коровый белок) протеогликанов синтезируются на рибосомах эндоплазматического ретикулума (ЭПР), а ГАГ образуется главным образом в аппарате Гольджи. Предшествует синтезу полисахарида присоединение к остатку серина линкерного трисахарида (-ксилоза-галактоза-галактоза-), выполняющего роль затравки для роста ГАГ (рис.1). Остальная часть цепи ГАГ, построенная из повторяющихся дисахаридных единиц (А и В), синтезируется путем последовательного присоединения углеводных. Синтез гиалуроновой кислоты катализируют **гиалуронатсинтетазы**, связанные с внутренней поверхностью плазматической мембраны. По мере удлинения полимерной цепи гиалуроновая кислота выводится через мембрану на наружную поверхность. Вне клетки гиалуроновая кислота может взаимодействовать с гиалуронат-связывающими белками и участвовать в образовании **агрекана**.

Структура ГАГ

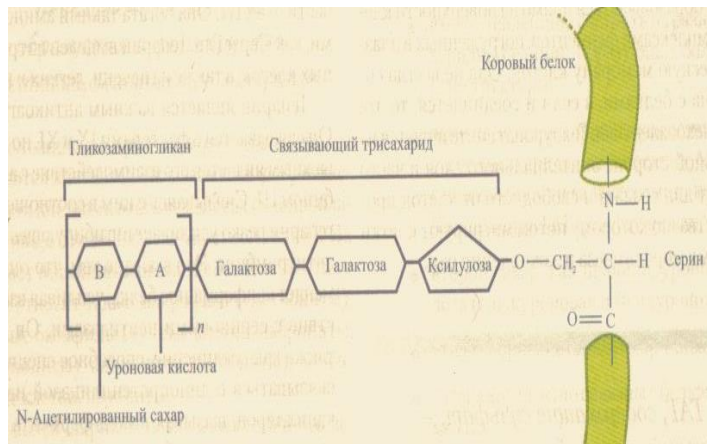
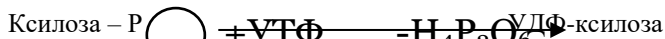


Рис.1. Связь линкерного участка ГАГ с серином корового белка.

Каждую реакцию построения линкерного трисахарида и дальнейший рост цепи катализируют специфические гликозилтрансферазы. Сахара, участвующие в процессе предварительно активируются:



Реакция заключается в прикреплении УМФ к фосфорилированному полисахариду (подобная реакция протекает при синтезе гликогена).

По завершении синтеза вся молекула протеогликана выходит из клетки. Синтезированные молекулы могут существенно различаться по количеству белка, длине, числу и типу гликозаминогликановых цепей в молекуле. Длина и состав цепей ГАГ могут сильно варьировать, также как и пространственное расположение гидроксильных, сульфатных и карбоксильных групп вдоль цепи.

В межклеточном пространстве протеогликаны могут образовывать гигантские агрегаты с участием гиалуроновой кислоты, например **агрекан (рис 2)**.

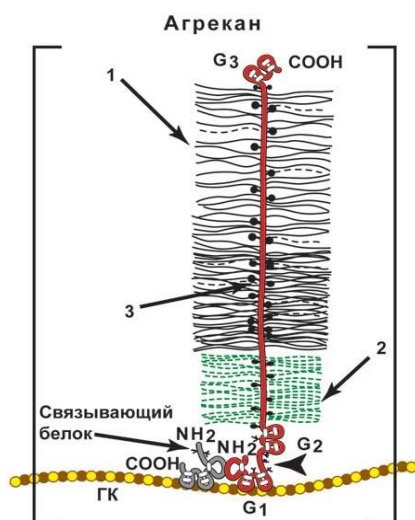
Благодаря высокой плотности отрицательных зарядов полисахаридные цепи связывают множество осмотически активных ионов: Na, Ca, K. Высокая концентрация ионов удерживает воду во внеклеточном матриксе, вызывая разбухание и загустевание матрикса. Например, молекула гиалуроновой кислоты может присоединять от 200 до 500 молекул воды. Особая структура и способность к гидратации внеклеточного матрикса определяют степень жесткости в сочетании с эластичностью и упругостью. Комплексы протеогликанов и коллагенов в позвоночных и суставных дисках повышают их устойчивость к ударам, смягчая трение, возникающее между костями.

По мере удлинения цепи многие углеводные остатки модифицируются путем **сульфирования**, **эпимеризации** (перемещение функциональных групп в молекуле сахара). Источником $-\text{SO}_3^-$ групп является соединение 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС). Присоединение сульфатных групп значительно увеличивает отрицательный заряд протеогликанов.

Образованная структура может включать более сотни протеогликановых мономеров, нековалентно присоединенных к одной молекуле гиалуроновой кислоты. Комплекс стабилизируют связывающие белки, которые одновременно соединены как с коровым белком протеогликана, так и с цепью гиалуроновой кислоты. Молекулярная масса такого образования

может превышать 10^8 Д и занимать объем, равный бактериальной клетки. Такой сложный протеогликан, как агрекан, является основным структурным компонентом хрящевого матрикса, содержит более 100 цепей хондроитинсульфата и около 60 цепей кератансульфата.

Эти диски сдавливаются в течение дня, восстанавливают эластичность ночью, но постепенно деформируются с возрастом.



ГК - гиалуроновая кислота;

1 - хондроитинсульфат;

2 - кератансульфат;

3 - сердцевинный белок

Рис 2. Строение агрекана

В центре молекулы находится **сердцевинный белок**, имеющий три глобулярных домена: G1, G2, G3.

G1 обеспечивает связывание агрекана с гиалуроновой кислотой и низкомолекулярным связывающим белком; **G2** (?); **G3** обеспечивает присоединение агрекана к другим молекулам межклеточного матрикса и, возможно, участвует в межклеточных взаимодействиях.

Между доменами G2 и G3 находятся области, в которых к белку присоединяются кератансульфаты и хондроитинсульфаты.

В этих областях в коровом белке имеются пептидные участки, состоящие из 6 и 19 аминокислотных остатков, которые повторяются от 10 до 20 раз.

Катаболизм гликозаминогликанов

Из внеклеточного пространства ГАГ поступают в клетку по механизму эндоцитоза и заключаются в эндоцитозные пузырьки, которые затем сливаются с лизосомами. Лизосомальные гидролазы обеспечивают постепенное полное расщепление ГАГ до мономеров.

Разрушение полисахаридных цепей осуществляется экзо- и эндогликозидазами и сульфатазами, к которым относят гиалуронидазу, глюкуронидазу, галактозидазу, идуронидазу и др. При отсутствии одного из ферментов, участвующих при катаболизме, весь процесс нарушается. Фрагменты молекул ГАГ накапливаются в лизосомах. **Лизосомные болезни** являющиеся следствием накопления ГАГ, называются мукополисахаридозами (по первоначальному названию ГАГ – мукополисахариды).

Волокнистые структуры соединительной ткани

Коллагены – это семейство очень сходных белков с некоторыми различиями в зависимости от их тканевой локализации. Их синтезируют и секретируют главным образом клетки соединительной ткани, они составляют приблизительно 30% общего количества белка в организме человека. Молекулы коллагенов имеют трехспиральную структуру, сформированную скручиванием 3 полипептидных цепей, названных α -цепями.

Аминокислотный состав α -цепей коллагена

Содержание аминокислот в каждой цепи может варьировать от 600 до 3000. Цепь полипептидов состоит из повторяющихся триплетов –[гли-Х-У]-, где Х и У могут быть любыми аминокислотами, но чаще всего Х – это пролин, а У – гидроксипролин (рис.3.). Присутствие в каждом триплете глицина – аминокислоты, практически не имеющей радикала, обеспечивает плотность укладки 3 полипептидных цепей.

~~-гли-лей-гидпро--гли-лей-гидпро--гли-лей-гидпро-~~~

Рис.3. Аминокислотный состав фрагмента α_1 -цепи коллагена.

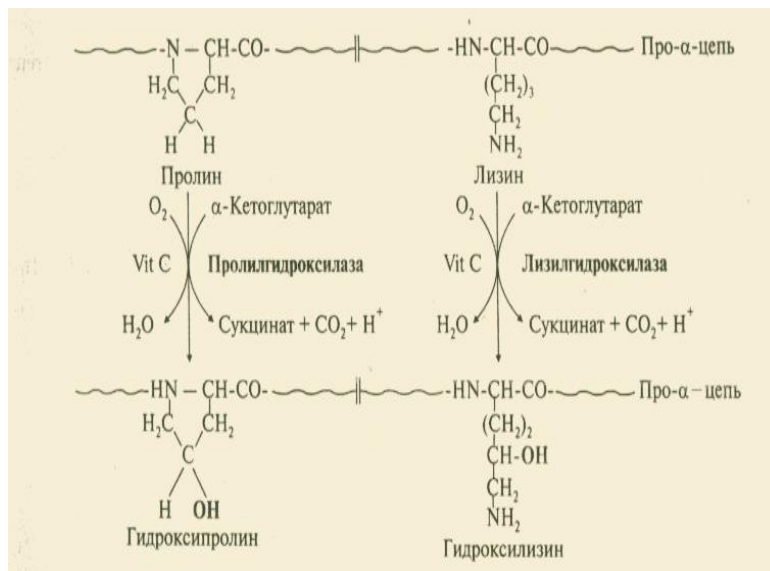
Коллаген содержит в основном заменимые аминокислоты, поэтому является неполноценным белком. Так в полипептидной цепи нет триптофана и цистеина, очень мало метионина, тирозина и гистидина. Кроме гидроксипролина, присутствует другая нестандартная аминокислота гидроксизин, они образуются путем введения гидроксильной группы в аминокислотные остатки пролина и лизина.

Синтез и формирование фибрилл коллагена

Весь процесс от начала образования полипептидных молекул на рибосомах до формирования миофибрилл протекает в два этапа. Первый происходит в фибробластах соединительной ткани называется **внутриклеточным этапом**. Синтез белка идет на рибосомах, связанных с мембраной ЭПР. Одновременно образуются многие молекулы пре-про- α -цепей коллагена.

А.1. На N-конце растущей пре-про- α -цепи присутствует гидрофобный сигнальный пептид, состоящий из 100 АМК, функция которого заключается в облегчении перемещения молекулы белка в просвет ЭПР. После отщепления сигнального пептида образуется про- α -цепь.

2. В полости ЭПР остатки пролина и лизина **гидроксилируются** с образованием гидроксизина и гидроксипролина. Катализируют эти реакции железосодержащие ферменты **пролингидроксилаза** и **лизингидроксилаза**. Для поддержания восстановленной формы железа (Fe^{2+} необходимо присутствие восстановителя аскорбиновой кислоты (витамин С).



3. Следующая **посттрансляционная модификация радикалов – гликозилирование остатков гидроксилина** - происходит одновременно с формированием трехспиральной структуры и прекращается по завершении спирализации. К OH-группам радикалов гидроксилина специфические **гликозилтрансферазы** могут присоединять остатки галактозы, галактазы и глюкозы и в С-концевых участках молекул остатки маннозы.

Правильную ориентацию цепей друг относительно друга обеспечивают N- и С- концевые фрагменты про-α-цепей, имеющие глобулярную структуру и содержащие остатки цистеина.

4. Образование **внутрицепочечных дивсульфидных мостиков** в N-концевом участке молекулы препятствует спирализации фрагмента из 100 аминокислотных остатков. Внутри- и межцепочечные дисульфидные связи в С- концевом фрагменте из 250 АМК остатков обеспечивают правильную ориентацию про-α-цепей и в тоже время мешают спирализации этого участка. Они так же препятствуют образованию крупных коллагеновых фибрилл в клетках, что приводило бы к нарушению функций этих клеток и всей соединительной ткани.

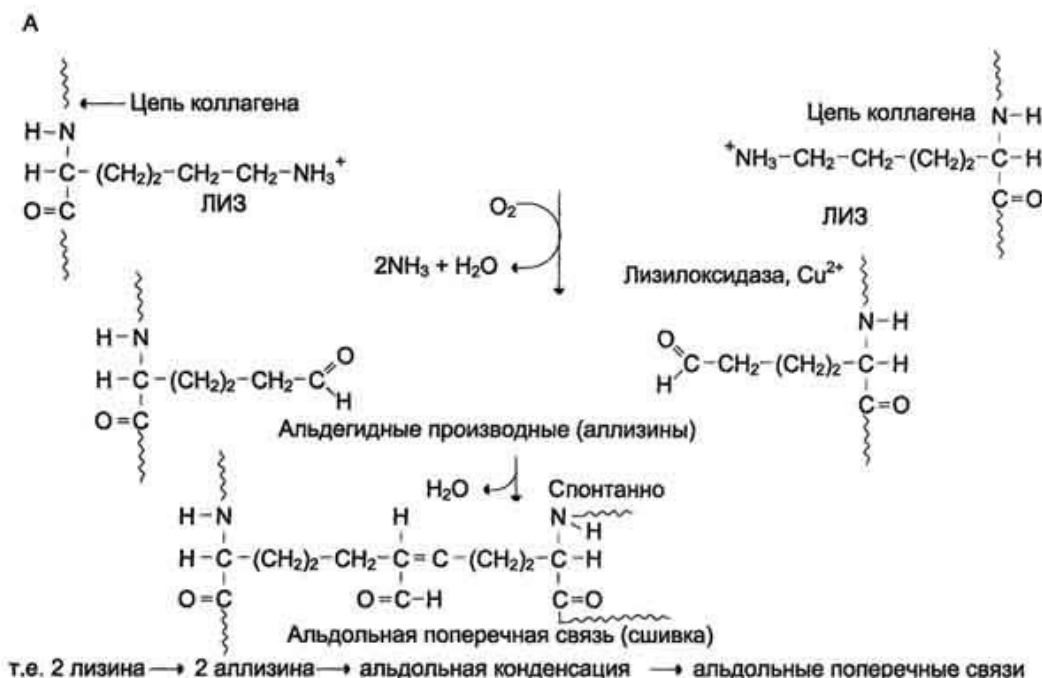
Б. Структуры, состоящие из 3 про-α-цепей, включаются в секреторные гранулы и поступают во **внеклеточное пространство**. Первой модификацией внеклеточного этапа является частичный протеолиз N- и С-концевых неспирализованных фрагментов. Гидролиз пептидных связей сразу в 3 цепях катализируют специфические пептидазы. В результате образуется молекула тропоколлагена.

Тропоколлаген представляет палочкообразную молекулу. Три спирально навитые друг на друга полипептидные цепи имеют равную длину, в каждой из которых содержится около 1000 аминокислотных остатков.

Объединению тропоколлагена в миофибриллы – фибриллогенезу – предшествует еще одна модификация лизина в составе трехспиральной молекулы. Внеклеточный Cu^{2+} -содержащий фермент **лизилоксидаза** катализирует реакции дезаминирования лизина и гидроксилина. Образуется **аллизин** (альдегид лизина) и **гидроксиаллизин** (альдегид гидроксилина), обладающие высокой реакционной способностью (рис.4.).

Фибриллогенез

Образование коллагеновых миофибрилл – самопроизвольный процесс. Молекулы тропоколлагена расположены параллельными рядами.



Б

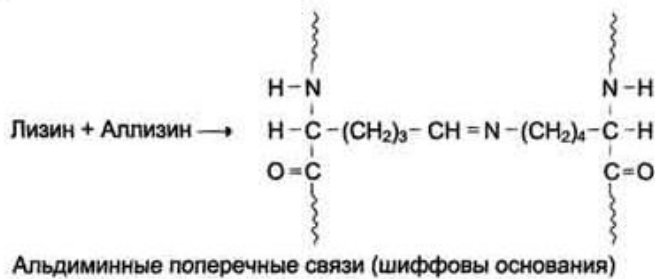


Рис. 4. Образование поперечных связей в коллагене. А - образование альдольной поперечной сшивки из двух боковых цепей лизина; Б - образование шиффовых оснований из боковых цепей лизина и аллизина.

Расположение молекул тропоколлагена коллагеновых миофибриллах. В каждом ряду может находиться несколько молекул тропоколлагена, расстояние между которыми - 35 нм. В параллельных рядах отдельные молекулы тропоколлагена смещены на $\frac{1}{4}$ относительно друг друга (67 нм). Структура фибрилл стабилизируется путем самопроизвольного формирования межмолекулярных ковалентных сшивок между группами лизина, аллизина, гидроксизина или гидроксалилизина.

Коллагеновые связи такого типа встречаются только в коллагене и эластине. Количество и тип сшивок в разных тканях различается. Образование большего или меньшего числа сшивок в коллагене зависит от прочности ткани на растяжение. Например, в ахилловом сухожилии, для которого прочность на разрыв очень важна, такие сшивки в коллагене особенно многочисленны. Прочность коллагеновых волокон обусловлена водородными связями между пептидными цепями коллагена; строением тройной спирали из полипептидных цепей; множеством ковалентных связей между молекулами коллагена; сдвигом молекул тропоколлагена на $\frac{1}{4}$ относительно друг друга в микрофибриллах коллагена.

Коллагеновые микрофибриллы отличаются по толщине и структурной организации в различных тканях. Например, в коже они расположены в виде прутьев в плетеных изделиях и поэтому сопротивляются нагрузкам по всем направлениям. В сухожилии они собраны в параллельные пучки, уложенные вдоль главной оси (рис.11.14). В зрелой костной ткани и роговице их расположение напоминает чередующиеся слои в фанере; фибриллы каждого слоя уложены параллельно друг другу почти под прямым углом к фибриллам соседних слоев.

Размер, структуру и расположение коллагеновых фибрилл определяют клетки соединительной ткани. Они могут экспрессировать один или несколько генов, кодирующих различные типы молекул пре-про- α -цепей и таким образом влиять на последующие этапы внутриклеточных и внеклеточных модификаций, а так же укладку коллагеновых фибрилл.

Типы коллагена

Коллагены – полиморфные белки. Идентифицировано 20 различных α -цепей коллагена. Каждая из которых кодируется отдельным геном. В различных тканях экспрессируются различные комбинации этих генов. Наиболее распространенные коллагены I, II, III, IV типов. Коллагены I, II, III типов – фибриллярные белки. Из них особенно широко распространен коллаген I типа. Молекулы коллагена IV типа встречаются только в базальной мембране, вместо фибрилл он образует плоскую сеть, которая составляет значительную часть всей базальной мембраны.

Тройная спираль коллагенов II и III типов содержит 3 идентичные цепи, их структура может быть написана таким образом $[\alpha_3(\text{II})]_3$ и $[\alpha_3(\text{III})]_3$. Коллагены I и IV типов образованы двумя разными α -цепями, поэтому записываются: $[\alpha_3(\text{I})]_2$, $\alpha_2(\text{I})$ и $[\alpha_3(\text{IV})]_2$, $\alpha_2(\text{IV})$.

Катаболизм коллагена

Коллаген – медленно обменивающийся белок. Время его полужизни составляет недели или даже месяцы. В катаболизме молекул участвует **коллагеназа** - металлопротеаза, которая гидролизует сразу 3 нити в одном и том же месте между остатками глицина и лейцина (изолейцина). Образующие растворимые пептиды под влиянием пептидгидролаз расщепляются до дипептидов.

Коллагеназа – Ca^{2+} , Zn^{2+} -зависимый фермент (оптимум pH 8,5), в клетках тканей неактивна. Синтез фермента осуществляется в фибробластах.

Молекулы внеклеточного матрикса могут повреждаться, например, в результате гликозилирования (неферментативного присоединения остатков глюкозы к аминокислотным остаткам белков) или протеолиза. Такие изменения приводят к нарушению взаимодействия, приводящие к изменению отдельных элементов в соединительной ткани. На участке повреждения активирует металлопротеиназы, которые разрушают продольно ориентированные макромолекулы.

Молекулы внутриклеточного матрикса могут повреждаются, на пример в результате гликозилирования (неферментативного присоединения остатков глюкозы к аминокислотным остаткам белков) или протеолиза. Такие изменения приводят к нарушению взаимодействия отдельных элементов соединительной ткани. На участке повреждения активируется металлопротеиназы, которые разрушают отдельно ориентированные молекулы.

Рецепторы фибробластов реагируют на изменения структуры окружения. Наблюдается повышение синтеза компонентов матрикса. По количеству гидроксипролина выделяемого за сутки, можно судить об активности процесса синтеза коллагена, так как данная аминокислота является характерной только для соединительной ткани. В норме экскретируется 15-20 мг в сутки гидроксипролина.

Эластин

Эластичность, необходимая для функционирования кровеносных сосудов, легких, связок и кожи, обеспечивается комплексом волокон внеклеточного матрикса этих тканей. Резиноподобные свойства определяются особенностями состава и строения эластина. В отличие от большого семейства коллагенов, структура молекулы кодируется только одним геном.

Белок построен из 250 аминокислотных остатков. Молекулы содержат много аминокислот с гидрофобными радикалами. Глицины, валины, аланины и пролин составляют 70 % общего количества аминокислот полипептида. В состав цепи входит небольшое количество гидроксипролина, и совсем нет гидроксизина и углеводных фрагментов.

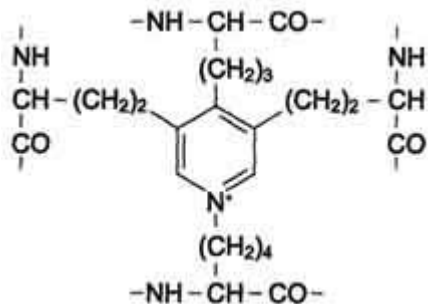
Полимерные молекулы не имеют строго определенной конформации. При натяжении упорядоченность структуры возрастает.

Синтез эластина и формирование полимерных структур

Мономерная форма эластина синтезируется на рибосомах и называется тропоэластином. В полости ЭПР происходит гидроксидирование пролина – это единственная внутриклеточная модификация эластина. Во внеклеточном пространстве лизилоксидаза катализирует образование радикалов аллизинана участках пептидной цепи, имеющих определенную последовательность аминокислот:

-лиз-ала-ала-лиз- и -лиз-ала-ала-ала-лиз-. Химически активный альдегид взаимодействует с другими остатками аллизина и лизина. Четыре радикала сближаются друг с другом и превращаются в десмозин (пиридиноолин) или в подий по структуре изодесмозин (изопирилинолин). В образовании этих структур могут принимать участие 2,3 или 4 молекулы тропоэластина. Кроме десмозинов, в эластине вступают поперечные сшивки лизиннорлейцина, образованные двумя радикалами лизина (рис 5.)

А. Значение десмозина и лизиннорлейцина



Б. Десмозин (образован четырьмя остатками лизина)

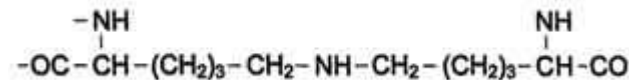


Рис.5: А. Значение десмозина и лизиннорлейцина; Б. Десмозин (образован четырьмя остатками лизина)

Эластические волокна состоят не только из эластина. Они содержат так же гликопротеин, который в основном распределен в виде микрофибрилл по поверхности волокна. Микрофибриллы секретируются во внеклеточное пространство чуть раньше цепей тропоэластина и, возможно, обеспечивают правильную ориентацию молекул полимера в матриксе.

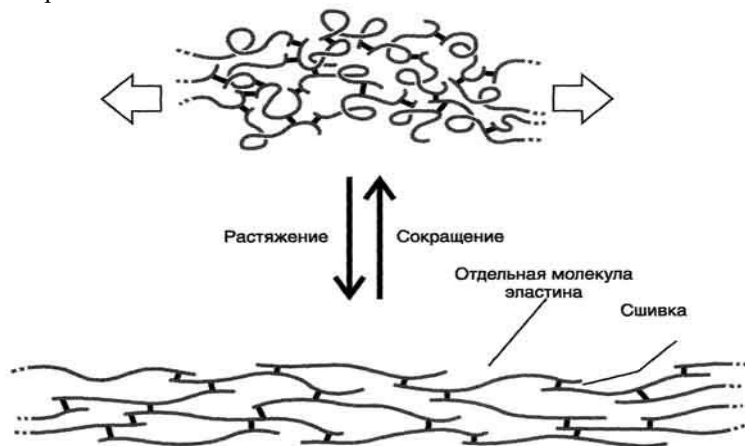


Рис. 6. Молекулы эластина связаны ковалентными сшивками в обширную сеть.

Катаболизм эластина

Время полураспада эластина составляет около 75 лет, поэтому за всю жизнь человека обновляется только половина эластина. Протеолиз белка происходит под действием эластазы, которая секретируется в внеклеточное пространство нейтрофилами, она активна в слабощелочной среде (оптимальное рН 7,5-8,5), не обладает абсолютной специфичностью и может гидролизовать помимо эластина, коллаген, иммуноглобулины и другие белки.

Адгезивные белки

Внеклеточный матрикс содержит несколько адгезивных гликопротеинов: **фибронектин**, **ламинин**, **нидоген**, которые, взаимодействуя с другими макромолекулами и клетками, способствуют их ориентации в соединительной ткани. Один из них, **фибронектин (рис.7.)**, большой, образующий с фибриллы гликопротеин. Это димер, состоящий из двух субъединиц, каждая состоит из 2500 аминокислотных остатков. Субъединицы свернуты в серию глобулярных доменов, которые вблизи карбоксильных концов соединены 2 дисульфидными мостиками. Отдельные домены предназначены для связывания с другими молекулами фибронектина, коллагеном, сульфатированными ГАГ, интегринами рецепторами клеток и ферментом транслугтаминазой. Этот фермент обеспечивает образование ковалентной связи между остатками глутамина и лизина 2 молекул фибронектина, фибронектина и коллагена или фибронектина и других белков.

Подобно эластину, фибронектин кодируется только одним геном. Однако в фибробластах, эпителиальных, эндотелиальных и гладкомышечных клетках мРНК цепи фибронектина подвергаются разным вариантам альтернативного сплайсинга. В зависимости от типа клеток образуется один или несколько вариантов сплайсинга. Поэтому молекулы фибронектина могут значительно различаться по структуре и функциональной активности.

Эндотелиальные клетки, секретируют внеклеточный адгезивный гликопротеин **ламинин (рис.8.)** – основной белок базальной мембраны. Он состоит из трех полипептидных цепей: α, β, γ , имеющих доменное строение.

Глобулярные домены ламинина связываются с другими молекулами ламинина, белками клеточных мембран – интегринами, протеогликанами базальной мембраны, гликопротеинами клеточной поверхности и с белком **нидогенином**. N-концевые группы ламинина могут присоединять кальций и образовывать сетевидные структуры с помощью Са-зависимого взаимодействия.

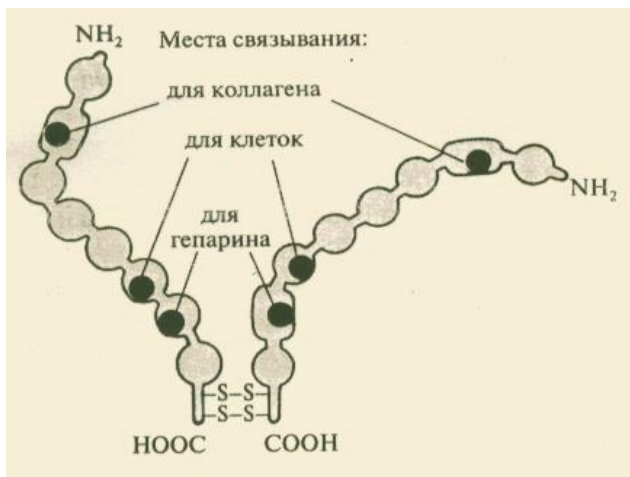


Рис. 7. Структура фибронектина. неидентичные полипептидные цепи, каждая из которых имеет ряд глобулярных доменов

Нидоген имеет стержневой сегмент, по концам которого расположены глобулярные домены. Один из доменов обеспечивает взаимодействие с коллагеном IV типа, другой с – гепарансульфатом базальных мембран. В базальной мембране нидоген играет роль связывающего белка между сетевидными слоями ламинина и плоской сетью из коллагеновых фибрилл.

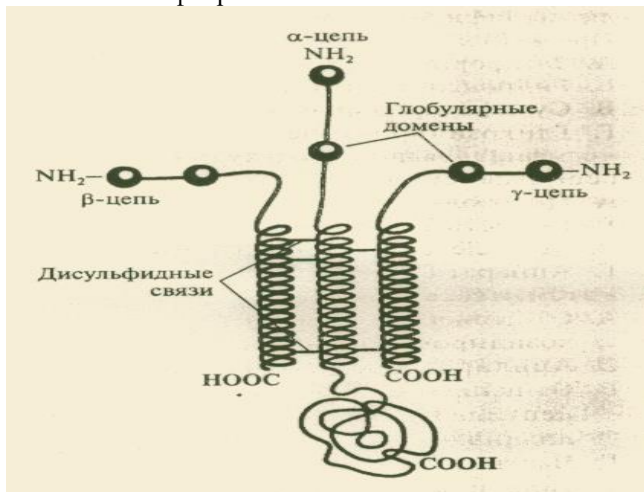


Рис.8. Строение ламинина

II Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Соединительная ткань, функции;
2. Формы соединительной ткани;
3. Классификация соединительной ткани;
4. Компоненты соединительной ткани;
5. Функции межклеточного матрикса соединительной ткани;
6. Классы макромолекул, входящие в состав внеклеточного матрикса неминерализованной соединительной ткани;
7. ГАГ, и их компоненты, функции;
8. Протеогликаны, строение;
9. Представители ГАГ, структура;
10. Синтез протеогликанов;
11. Строение агрекана;
12. Катаболизм ГАГ;
13. Коллаген, особенности строения, типы;
14. Синтез и формирование фибрилл коллагена, этапы;
15. Внутриклеточный этап;
16. Внеклеточный этап;
17. Тропоколлаген, строение;
18. Фибрилlogenез;
19. Катаболизм коллагена;
20. Эластин, строение, синтез и катаболизм;
21. Адгезивные белки, представители, биологическая роль.

Студент должен уметь:

1. Нарисовать структуры ГАГ;
2. Написать строение ГАГ;
3. Строение агрекана.

Шсодержание обучения:

Основные вопросы:

1. Соединительная ткань, функции;
2. Формы соединительной ткани;

3. Классификация соединительной ткани;
4. Компоненты соединительной ткани;
5. Функции межклеточного матрикса соединительной ткани;
6. Классы макромолекул, входящие в состав внеклеточного матрикса неминерализованной соединительной ткани;
7. ГАГ, и их компоненты, функции;
8. Протеогликаны, строение;
9. Представители ГАГ, структура;
10. Синтез протеогликанов;
11. Строение агрекана;
12. Катаболизм ГАГ;
13. Коллаген, особенности строения, типы;
14. Синтез и формирование фибрилл коллагена, этапы;
15. Внутриклеточный этап;
16. Внеклеточный этап;
17. Тропоколлаген, строение;
18. Фибриллогенез;
19. Катаболизм коллагена;
20. Эластин, строение, синтез и катаболизм;
21. Адгезивные белки, представители, биологическая роль.

IX Самостоятельная работа студентов:

Составление тестов и кроссвордов по данной теме.

Наглядные пособия:

Таблица 1. ГАГ; Рисунок: 1. Связь линкерного участка ГАГ с серином корового белка; 2. Строение агрекана; 3. Аминокислотный состав фрагмента α_1 -цепи коллагена; 4. Образование поперечных связей в коллагене; 5. А. Значение десмозина и лизиннорлейцина; Б. Десмозин (образован четырьмя остатками лизина); 6. Молекулы эластина связаны ковалентными сшивками в обширную сеть. 7. Структура фибронектина; 8. Строение ламинина.

X Список используемой литературы:

Обязательная:

3. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2004;
4. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2008;

Дополнительная:

8. Интернет ресурсы
9. Материал конспектов занятия

Тема: Кислотно-основной баланс и буферные системы крови.

Кровь играет определяющую роль в поддержании кислотно-щелочного равновесия, изменение которого может привести к развитию патологических состояний или гибели организма. Поэтому в организме существуют специальные системы, которые препятствуют изменению рН крови и других биологических жидкостей при образовании кислых и щелочных продуктов или при большом поступлении воды. Такую роль выполняют отдельные физиологические системы (дыхательная, выделительная), а также буферные системы. Последние очень быстро (в течение нескольких секунд) реагируют на изменение концентрации H^+ и OH^- в водных средах и являются срочными регуляторами кислотно-основного состояния в тканях организма.

Буферные системы – это смесь слабой кислоты и её растворимой соли, двух солей или белков, которые способны препятствовать изменению рН водных сред. Действие буферных систем направлено на связывание избытка H^+ или OH^- в среде и поддержание постоянства рН среды. При действии буферной системы образуются слабодиссоциируемые вещества или вода. К основным буферным системам крови относятся бикарбонатная, белковая (гемоглобиновая) и фосфатная. Имеются также ацетатная и аммонийная буферные системы.

Бикарбонатная буферная система - мощная и самая управляемая система крови и внеклеточной жидкости. На её долю приходится около 10% всей буферной ёмкости крови. Бикарбонатная система представляет собой сопряжённую кислотно-основную пару, состоящую из молекулы угольной кислоты H_2CO_3 , выполняющую роль донора протона, и бикарбонат-иона HCO_3^- , выполняющего роль акцептора протона:



Истинная концентрация недиссоциированных молекул H_2CO_3 в крови незначительна и находится в прямой зависимости от концентрации растворённого CO_2 . При нормальном значении рН крови (7,4) концентрация ионов бикарбоната HCO_3^- в плазме крови превышает концентрацию CO_2 примерно в 20 раз. Бикарбонатная буферная система функционирует как эффективный регулятор в области рН = 7,4. Механизм действия этой системы заключается в том, что при выделении в кровь относительно больших количеств кислых продуктов протоны H^+ взаимодействуют с ионами бикарбоната HCO_3^- , что приводит к образованию слабодиссоциируемой H_2CO_3 .

Последующее снижение концентрации H_2CO_3 достигается в результате ускоренного выделения CO_2 через лёгкие в результате их гипервентиляции. Если в крови увеличивается количество оснований, то они, взаимодействуя со слабой угольной кислотой, образуют ионы бикарбоната и воду. При этом не происходит сколько-нибудь заметных сдвигов в величине рН. Кроме того, для сохранения нормального соотношения между компонентами буферной системы в этом случае подключаются физиологические механизмы регуляции кислотно-основного равновесия: происходит задержка в плазме крови некоторого количества CO_2 в результате гиповентиляции

Фосфатная буферная система представляет собой сопряжённую кислотно-основную пару, состоящую из иона $H_2PO_4^-$ (донор протонов, выполняет роль кислоты) и иона HPO_4^{2-} (акцептор протонов, выполняет роль соли). Фосфатная буферная система составляет лишь 1% от буферной ёмкости крови. В других тканях эта система является одной из основных. Фосфатная буферная система способна оказывать влияние при изменениях рН в интервале от 6,1 до 7,7 и может обеспечивать определённую ёмкость внутриклеточной жидкости, величина рН которой в пределах 6,9-7,4. В крови максимальная ёмкость фосфатного буфера проявляется вблизи значения 7,2. Органические фосфаты также обладают буферными свойствами, но мощность их слабее, чем неорганического фосфатного буфера.

Белковая буферная система имеет меньшее значение для поддержания кислотно-основного равновесия в плазме крови, чем другие буферные системы. Белки образуют буферную систему благодаря наличию кислотно-основных групп в молекуле белков: белок- H^+ (кислота, донор протонов) и белок (сопряжённое основание, акцептор протонов). Белковая буферная система плазмы крови эффективна в области значений рН 7,2-7,4.

Гемоглобиновая буферная система – самая мощная буферная система крови, на её долю приходится 75% от всей буферной. Участие гемоглобина в регуляции рН крови связано с его ролью в транспорте кислорода и углекислого

газа. При насыщении кислородом гемоглобин становится более сильной кислотой (HНbO₂). Гемоглобин, отдавая кислород, превращается в очень слабую органическую кислоту (HНb).

Кислотно-основные буферные системы и растворы.

Буферными называют растворы, рН которых практически не изменяется от добавления к ним небольших количеств сильной кислоты или щелочи, а также при разведении. Простейший буферный раствор - это смесь слабой кислоты и соли, имеющей с этой кислотой общий анион (например, смесь уксусной кислоты CH₃COOH и ацетата натрия CH₃COONa), либо смесь слабого основания и соли, имеющей с этим основанием общий катион (например, смесь гидроксида аммония NH₄OH с хлоридом аммония NH₄Cl).

С точки зрения протонной теории Согласно протонной теории, кислотой называют всякое вещество, молекулярные частицы которого (в том числе и ионы) способны отдавать протон, т.е. быть донором протонов; основанием называют всякое вещество, молекулярные частицы которого (в том числе и ионы) способны присоединять протоны, т.е. быть акцептором протонов. буферное действие растворов обусловлено наличием кислотно-основного равновесия общего типа:



Сопряженные кислотно-основные пары B /BH⁺ и A⁻ /HA называют буферными системами.

Буферные растворы играют большую роль в жизнедеятельности. К числу исключительных свойств живых организмов относится их способность поддерживать постоянство рН биологических жидкостей, тканей и органов - кислотно-основной гомеостаз. Это постоянство обусловлено наличием нескольких буферных систем, входящих в состав этих тканей.

Классификация кислотно-основных буферных систем. Буферные системы могут быть четырех типов:

Слабая кислота и ее анион A⁻ /HA:

ацетатная буферная система CH₃COO⁻/CH₃COOH в растворе CH₃COONa и CH₃COOH, область действия рН 3,8 - 5,8.

Водород-карбонатная система HCO₃⁻/H₂CO₃ в растворе NaHCO₃ и H₂CO₃, область её действия - рН 5,4 - 7,4.

Слабое основание и его катион B /BH⁺:

аммиачная буферная система NH₃/NH₄⁺ в растворе NH₃ и NH₄Cl,

область ее действия - рН 8,2 - 10,2.

Анионы кислой и средней соли или двух кислых солей:

карбонатная буферная система CO₃²⁻/HCO₃⁻ в растворе Na₂CO₃ и NaHCO₃, область ее действия рН 9,3 - 11,3.

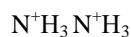
фосфатная буферная система HPO₄²⁻/H₂PO₄⁻ в растворе Na₂HPO₄ и NaH₂PO₄, область ее действия рН 6,2 - 8,2.

Эти солевые буферные системы можно отнести к 1-му типу, т. к. одна из солей этих буферных систем выполняет функцию слабой кислоты. Так, в фосфатной буферной системе анион H₂PO₄⁻ является слабой кислотой.

4. **Ионы и молекулы амфолитов.** К ним относят аминокислотные и белковые буферные системы. *Если аминокислоты или белки находятся в изоэлектрическом состоянии (суммарный заряд молекулы равен нулю), то растворы этих соединений не являются буферными.* Они начинают проявлять буферное действие, когда к ним добавляют некоторое количество кислоты или щелочи. Тогда часть белка (аминокислоты) переходит из ИЭС в форму "белок-кислота" или соответственно в форму "белок-основание". При этом образуется смесь двух форм белка: (R - макромолекулярный остаток белка)

а) слабая "белок-кислота" + соль этой слабой кислоты:

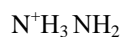




основание А- сопряженная кислота НА

(соль белка-кислоты) (белок-кислота)

б) слабое “белок-основание” + соль этого слабого основания:



кислота BH^+ сопряженное основание В

(соль белка-основания) (белок-основание)

Таким образом, и этот тип буферных систем может быть отнесен соответственно к буферным системам 1-го и 2-го типов.

Механизм буферного действия можно понять на примере *ацетатной* буферной системы $\text{CH}_3\text{COO}^-/\text{CH}_3\text{COOH}$, в основе действия которой лежит кислотно-основное равновесие:



Главный источник ацетат-ионов - сильный электролит CH_3COONa :



При добавлении сильной кислоты сопряженное основание CH_3COO^- связывает добавочные ионы H^+ , превращаясь в слабую уксусную кислоту:



(кислотно-основное равновесие смещается влево, по Ле Шателье)

Уменьшение концентрации анионов CH_3COO^- точно уравновешивается повышением концентрации молекул CH_3COOH . В результате происходит небольшое изменение в соотношении концентраций слабой кислоты и ее соли, а следовательно, и незначительно изменяется рН.

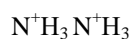
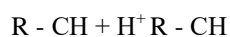
При добавлении щелочи протоны уксусной кислоты (резервная кислотность) высвобождаются и нейтрализуются добавочные ионы OH^- , связывая их в молекулы воды:



(кислотно-основное равновесие смещается вправо, по Ле Шателье)

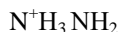
В этом случае также происходит небольшое изменение в соотношении концентраций слабой кислоты и ее соли, а следовательно, и незначительное изменение рН. Уменьшение концентрации слабой кислоты CH_3COOH точно уравновешивается повышением концентрации анионов CH_3COO^- .

Аналогичен механизм действия и других буферных систем. Например, для *белкового буферного раствора*, образованного кислотой и солевой формами белка, при добавлении сильной кислоты ионы H^+ связываются солевой формой белка:



Количество слабой кислоты при это незначительно увеличивается, а солевой формы белка - эквивалентно уменьшается. Поэтому pH остается практически постоянным.

При добавлении щелочи к этому буферному раствору ионы H^+ , связанные в "белке - кислоте", высвобождаются и нейтрализуют добавленные ионы OH^- :



Количество солевой формы белка при этом незначительно увеличивается, а "белка - кислоты" - эквивалентно уменьшается. И поэтому pH практически не изменится.

Таким образом, рассмотренные системы показывают, что **буферное действие раствора обусловлено смещением кислотно-основного равновесия за счет связывания добавляемых в раствор ионов H^+ и OH^- в результате реакции этих ионов и компонентов буферной системы с образованием малодиссоциированных продуктов.**

В основе **расчета pH** буферных систем лежит *закон действующих масс* для кислотно-основного равновесия.

Для **буферной системы 1-го типа**, например, ацетатной, концентрацию ионов H^+ в растворе легко вычислит, исходя из константы кислотно-основного равновесия уксусной кислоты:



$K_a =$	$\frac{H^+ CH_3COO^-}{CH_3COOH}$	(1)
---------	----------------------------------	-----

Из уравнения (1) следует, что концентрация водород-ионов равна

$H^+ = K_a$	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COO^-}$	(2)
-------------	------------------------------	-----

В присутствии второго компонента буферного раствора - сильного электролита CH_3COONa кислотно-основное равновесие уксусной кислоты CH_3COOH сдвинуто влево (принцип Ле Шателье). Поэтому концентрация недиссоциированных молекул CH_3COOH практически равна концентрации кислоты, а концентрация ионов CH_3COO^- - концентрации соли. В таком случае уравнение (2) принимает следующий вид:

$H^+ = K_a$	$\frac{c_{(кислота)}}{c_{(соль)}}$	(3)
-------------	------------------------------------	-----

где $c_{(кислота)}$ и $c_{(соль)}$ - равновесные концентрации кислоты и соли. Отсюда получают **уравнение Гендерсона-Гассельбаха для буферных систем 1-го типа**:

$pH = pK_a + \lg$	$\frac{c_{(соль)}}{c_{(кислота)}}$	(4)
-------------------	------------------------------------	-----

В общем случае уравнение Гендерсона-Гассельбаха для буферных систем 1-го типа:

$pH = pK_a + \lg$	$\frac{сопряженное основание}{кислота}$	(5)
-------------------	---	-----

Для **буферной системы 2-го типа**, например, аммиачной, концентрацию ионов H^+ в растворе можно рассчитать, исходя из константы кислотно-основного равновесия сопряженной кислоты NH_4^+ :



$K_a =$	$\frac{NH_3 H^+}{NH_4^+}$	(6)
---------	---------------------------	-----

Отсюда получают уравнение Гендерсона-Гассельбаха для буферных систем 2-го типа:

$pH = pK_a + \lg$	$\frac{c_{(основание)}}{c_{(кислота)}}$	(7)
-------------------	---	-----

	c (соль)	
--	------------	--

Уравнение (7) для буферных систем 2-го типа можно представить и в следующем виде:

$pH = 14 - pK_a - \lg$	c (соль)	(8)
	c (основание)	

Значения pH буферных растворов других типов также можно рассчитать по уравнениям буферного действия (4), (7), (8).

Например, для **фосфатной буферной системы** $HPO_4^{2-}/H_2PO_4^-$, относящейся к 3-му типу, pH можно рассчитать по уравнению (4):

$pH = pK_a (H_2PO_4^-) + \lg$	$c(HPO_4^{2-})$
	$c(H_2PO_4^-)$

где $pK_a (H_2PO_4^-)$ - отрицательный десятичный логарифм константы диссоциации фосфорной кислоты по второй ступени $pK_a (H_2PO_4^-)$ - слабая кислота);

$c (HPO_4^{2-})$ и $c (H_2PO_4^-)$ - соответственно концентрации соли и кислоты.

Уравнение Гендерсона-Гассельбаха позволяет сформулировать ряд важных выводов:

1. pH буферных растворов зависит от отрицательного действия логарифма константы диссоциации слабой кислоты pK_a или основания pK_b и от отношения концентраций компонентов КО-пары, но практически не зависит от разбавления раствора водой.

Следует отметить, что постоянство pH хорошо выполняется при малых концентрациях буферных растворов. При концентрациях компонентов выше 0, 1 моль/ л необходимо учитывать коэффициенты активности ионов системы.

2. Значение pK_a любой кислоты и pK_b любого основания можно вычислить по измеренному pH раствора, если известны молярные концентрации компонентов.

Кроме того, уравнение Гендерсона-Гассельбаха позволяет рассчитать pH буферного раствора, если известны значения pK_a и молярные концентрации компонентов.

3. Уравнение Гендерсона-Гассельбаха можно использовать и для того, чтобы узнать, в каком соотношении нужно взять компоненты буферной смеси, чтобы приготовить раствор с заданным значением pH.

Способность буферного раствора сохранять pH по мере прибавления сильной кислоты или приблизительно на постоянном уровне далеко небеспредельна и ограничена величиной так называемой **буферной емкости В**. За единицу буферной емкости обычно принимают емкость такого буферного раствора, для изменения pH которого на единицу требуется введение сильной кислоты или щелочи в количестве 1 моль эквивалента на 1л раствора. Т. е. это величина, характеризующая способность буферного раствора противодействовать смещению реакции среды при добавлении сильных кислот или сильных оснований.

$V =$	N
	$pH_2 - pH_1$

Буферная емкость, как следует из ее определения, зависит от ряда факторов:

Чем больше количества компонентов кислотно-основной пары основание/ сопряженная кислота в растворе, тем выше буферная емкость этого раствора (следствие закона эквивалентов).

Буферная емкость зависит от соотношения концентраций компонентов буферного раствора, а следовательно, и от pH буферного раствора.

При $pH = pK_a$ отношение c (соль)/ c (кислота) = 1, т. е. в растворе имеется одинаковое количество соли и кислоты. При таком соотношении концентраций pH раствора изменяется в меньшей степени, чем при других, и, следовательно, буферная емкость максимальна при равных концентрациях компонентов буферной системы и уменьшается с отклонением от этого соотношения. Буферная емкость раствора возрастает по мере увеличения концентрации его компонентов и приближения соотношения HA_n/ KtA_n или $KtOH/ KtA_n$ к единице.

Рабочий участок буферной системы, т. е. способность противодействовать изменению рН при добавлении кислот и щелочей, имеет протяженность приблизительно одну единицу рН с каждой стороны от точки $pH = pK_a$. Вне этого интервала буферная емкость быстро падает до 0. Интервал $pH = pK_a \pm 1$ называется *зоной буферного действия*.

Общая буферная емкость артериальной крови достигает 25,3 ммоль/л; у венозной крови она несколько ниже и обычно не превышает 24,3 ммоль/л.

Кислотно-щелочное равновесие и главные буферные системы в организме человека

Организм человека располагает тонкими механизмами координации происходящих в не физиологических и биохимических процессов и поддержания постоянства внутренней среды (оптимальных значений рН и уровней содержания различных веществ в жидкостях организма, температуры, кровяного давления и т. д.). Эта координация названа, по предложению В. Кеннона (1929), *гомеостазисом* (от греч. "гомео" - подобный; "стазис" - постоянство, состояние). Она осуществляется путем *гуморальной регуляции* (от лат. "гумор" - жидкость), т. е. через кров, тканевую жидкость, лимфу и т. д. с помощью биологически активных веществ (ферментов, гормонов и др.) при участии нервных регулирующих механизмов. Гуморальные и нервные компоненты тесно взаимосвязаны между собой, образуя единый комплекс *нейро-гуморальной регуляции*. Примером гомеостазиса является стремление организма к сохранению постоянства температуры, энтропии, энергии Гиббса, содержания в крови и межклеточных жидкостях различных катионов, анионов, растворенных газов и др., величины осмотического давления и стремление поддерживать для каждой из его жидкостей определенную оптимальную концентрацию ионов водорода. Сохранение постоянства кислотности жидких сред имеет для жизнедеятельности человеческого организма первостепенное значение, потому что, *во-первых*, ионы H^+ оказывают каталитическое действие на многие биохимические превращения; *во-вторых*, ферменты и гормоны проявляют биологическую активность только в строго определенном интервале значений рН; *в-третьих*, даже небольшие изменения концентрации ионов водорода в крови и межклеточных жидкостях ощутимо влияют на величину осмотического давления в этих жидкостях.

Нередко отклонения рН крови от нормального для нее значения 7,36 всего лишь на несколько сотых приводят к неприятным последствиям. При отклонениях порядка 0,3 единицы в ту или другую сторону может наступить тяжелое коматозное состояние, а отклонения порядка 0,4 единицы могут повлечь даже смертельный исход. Впрочем, в некоторых случаях, при ослабленном иммунитете, для этого оказывается достаточными и отклонения порядка 0,1 единицы рН.

Особенно большое значение буферных систем имеют в поддержании кислотно-основного равновесия организма. Внутриклеточные и внеклеточные жидкости всех живых организмов, как правило, характеризуются постоянным значением рН, которое поддерживается с помощью различных буферных систем. Значение рН большей части внутриклеточных жидкостей находится в интервале от 6,8 до 7,8.

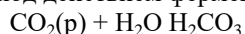
Кислотно-основное равновесие в крови человека обеспечивается водородкарбонатной, фосфатной и белковой буферными системами.

Нормальное значение рН плазмы крови составляет 7,40 ± 0,05. Этому соответствует интервал значений активной кислотности $a(H^+)$ от 3,7 до 4,0 10^{-8} моль/л. Так как в крови присутствуют различные электролиты - HCO_3^- , H_2CO_3 , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$, белки, аминокислоты, это означает, что они диссоциируют в такой степени, чтобы активность $a(H^+)$ находилась в указанном интервале.

Водородкарбонатная (гидро-, бикарбонатная) буферная система HCO_3^-/H_2CO_3 плазмы крови характеризуется равновесием молекул слабой угольной кислоты H_2CO_3 с образующимися при ее диссоциации гидрокарбонат-ионами HCO_3^- (сопряженное основание):



В организме угольная кислота возникает в результате гидратации диоксида углерода - продукта окисления углеводов, белков и жиров. Причем процесс этот ускоряется под действием фермента карбоангидразы:

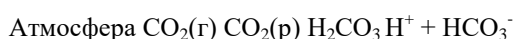


Равновесная молярная концентрация в растворе свободного диоксида углерода при 298,15 К в 400 раз выше, чем концентрация угольной кислоты $H_2CO_3/CO_2 = 0,00258$.

Между CO_2 в альвеолах и водородкарбонатным буфером в плазме крови, протекающей через капилляры легких, устанавливается цепочка равновесий:

2

1 + H_2O 3



воздушное пространство легких - H_2O плазма крови

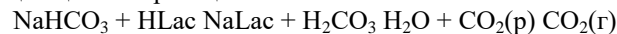
В соответствии с уравнение Гендерсона-Гассельбаха (4) рН водородкарбонатного буфера определяется отношением концентрации кислоты H_2CO_3 и соли $NaHCO_3$.

Согласно цепочке равновесий содержание H_2CO_3 определяется концентрацией растворенного CO_2 , которая по пропорциональна парциальному давлению CO_2 в газовой фазе (по закону Генри): $CO_{2p} = K_p p(CO_2)$. В конечно счете оказывается, что $c(H_2CO_3)$ пропорциональна $p(CO_2)$.

Водородкарбонатная буферная система действует как эффективный физиологический буферный раствор вблизи рН 7,4. При поступлении в кровь кислот - доноров H^+ равновесие 3 в цепочке по принципу Ле Шателе смещается влево в результате того, что ионы HCO_3^- связывают ионы H^+ в молекулы H_2CO_3 . При этом концентрация H_2CO_3 повышается, а концентрация ионов HCO_3^- соответственно понижается. Повышение концентрации H_2CO_3 , в свою очередь, приводит к смещению равновесия 2 влево. Это вызывает распад H_2CO_3 и увеличении концентрации CO_2 , растворенного в плазме. В результате смещается равновесие 1 влево и повышается давление CO_2 в легких. Избыток CO_2 выводится из организма. При поступлении в кровь оснований - акцепторов H^+ сдвиг равновесий в цепочке происходит в обратной последовательности.

В результате описанных процессов водородкарбонатная система крови быстро приходит в равновесие с CO_2 в альвеолах и эффективно обеспечивает поддержание постоянства рН плазмы крови.

Вследствие того, что концентрация $NaHCO_3$ в крови значительно превышает концентрацию H_2CO_3 , буферная емкость этой системы будет значительно выше по кислоте. Иначе говоря, водородкарбонатная буферная система особенно эффективно компенсирует действие веществ, увеличивающих кислотность крови. К числу таких веществ, прежде всего, относят молочную кислоту $HLac$, избыток которой образуется в результате интенсивной физической нагрузки. Этот избыток нейтрализуется в следующей цепочке реакций:

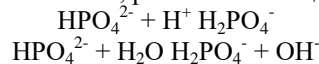


Таким образом, эффективно поддерживается нормальное значение рН крови при слабо выраженном сдвиге рН, обусловленным ацидозом.

В замкнутых помещениях часто испытывают удушье - нехватку кислорода, учащение дыхания. Однако удушье связано не столько с недостатком кислорода, сколько с избытком CO_2 . Избыток CO_2 в атмосфере приводит к дополнительному растворению CO_2 в крови (согласно закону Генри), а это приводит к понижению рН крови, т. е. к ацидозу (уменьшение резервной щелочности).

Водородкарбонатная буферная система наиболее "быстро" отзывается на изменение рН крови. Ее буферная емкость по кислоте составляет $B_k = 40$ ммоль/л плазмы крови, а буферная емкость по щелочи значительно меньше и равна примерно $B_{щ} = 1 - 2$ ммоль/л плазмы крови.

2. Фосфатная буферная система $HPO_4^{2-}/H_2PO_4^-$ состоит из слабой кислоты $H_2PO_4^-$ и сопряженного основания HPO_4^{2-} . В основе ее действия лежит кислотно-основное равновесие, равновесие между гидрофосфат- и дигидрофосфат-ионами:



Фосфатная буферная система способна сопротивляться изменению рН в интервале 6, 2 - 8, 2, т. е. обеспечивает значительную долю буферной емкости крови.

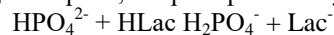
Из уравнения Гендерсона-Гассельбаха (4) для этой уферной системы следует, что в норме при рН 7, 4 отношение концентраций соли (HPO_4^{2-}) и кислоты ($H_2PO_4^-$) примерно составляет 1. 6. Это следует из равенства:

$pH = 7, 4 = 7, 2 + \lg$	$\frac{c(HPO_4^{2-})}{c(H_2PO_4^-)}$, где $7, 2 = pK_a(H_2PO_4^-)$	

Отсюда

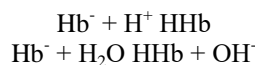
$\lg =$	$\frac{c(HPO_4^{2-})}{c(H_2PO_4^-)}$	$= 7, 4 - 7, 2 = 0, 2$ и	$\frac{c(HPO_4^{2-})}{c(H_2PO_4^-)}$	$= 1, 6$

Фосфорная буферная система имеет более высокую емкость по кислоте, чем по щелочи. Поэтому она эффективно нейтрализует кислые метаболиты, поступающие в кровь, например молочную кислоту $HLac$:

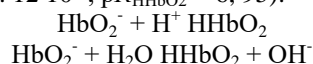


Однако различия буферной емкости данной системы по кислоте и щелочи не столь велики, как у водородкарбонатной: $B_k = 1 - 2$ ммоль/ л; $B_{щ} = 0, 5$ ммоль/ л. Поэтому фосфатная система в нейтрализации как кислых, так и основных продуктов метаболизма. В связи с малым содержанием фосфатов в плазме крови она менее мощная, чем водородкарбонатная буферная система.

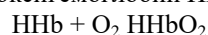
3. Буферная система оксигемоглобин-гемоглобин, на долю которой приходится около 75% буферной емкости крови, характеризующаяся равновесием между ионами гемоглобина Hb^- и самим гемоглобином HNB , являющимся очень слабой кислотой ($K_{HNB} = 6, 3 \cdot 10^{-9}$; $pK_{HNB} = 8, 2$).



а также между ионами оксигемоглобина HbO_2^- и самим оксигемоглобином $HNB O_2$, который является несколько более сильной, чем гемоглобин, кислотой ($K_{HNB O_2} = 1. 12 \cdot 10^{-7}$; $pK_{HNB O_2} = 6, 95$):

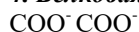


Гемоглобин HNB , присоединяя кислород, образует оксигемоглобин $HNB O_2$



и, таким образом, первые два равновесия взаимосвязаны со следующими двумя.

4. Белковая буферная система состоит из "белка-основания" и "белка-соли".





белок-основание белок-соль

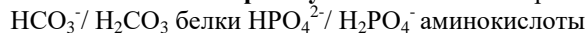
Соответствующее кислотно-основное равновесие в средах, близких к нейтральным, смещено влево и "белок-основание" преобладает.

Основную часть белков плазмы крови (90%) составляют альбумины и глобулины. Изоэлектрические точки этих белков (число катионных и анионных групп одинаково, заряд молекулы белка равен нулю) лежат в слабокислой среде при pH 4,9 - 6,3, поэтому в физиологических условиях при pH 7,4 белки находятся преимущественно в формах "белок-основание" и "белок-соль".

Буферная емкость, определяемая белками плазмы, зависит от концентрации белков, их вторичной и третичной структуры и числа свободных протон-акцепторных групп. Эта система может нейтрализовать как кислые, так и основные продукты. Однако вследствие преобладания формы "белок-основание" ее буферная емкость значительно выше по кислоте и составляет для альбуминов $B_k = 10$ ммоль/л, а для глобулинов $B_k = 3$ ммоль/л.

Буферная емкость свободных аминокислот плазмы крови незначительна как по кислоте, так и по щелочи. Это связано с тем, что почти все аминокислоты имеют значения pK_a , очень далекие от $pK_a = 7$. Поэтому при физиологическом значении pH их мощность мала. Практически только одна аминокислота - гистидин ($pK_a = 6,0$) обладает значительным буферным действием при значениях pH, близких к pH плазмы крови.

Таким образом, **мощность буферных систем плазмы крови уменьшается** в направлении



Эритроциты. Во внутренней среде эритроцитов в норме поддерживается постоянное pH, равное 7,25. Здесь также действуют водородкарбонатная и фосфатная буферные системы. Однако их мощность отличается от таковой в плазме крови. Кроме того, в эритроцитах белковая система *гемоглобин-оксигемоглобин* играет важную роль как в процессе дыхания (транспортная функция по переносу кислорода к тканям и органам и удалению из них метаболической CO_2), так и в поддержании постоянства pH внутри эритроцитов, а в результате и в крови в целом. Необходимо отметить, что эта буферная система в эритроцитах тесно связана с водородкарбонатной системой. Т. к. pH внутри эритроцитов 7,25, то соотношение концентраций соли (HCO_3^-) и кислоты (H_2CO_3) здесь несколько меньше, чем в плазме крови. И хотя буферная емкость этой системы по кислоте внутри эритроцитов несколько меньше, чем в плазме, она эффективно поддерживает постоянство pH.

Фосфатная буферная емкость играет в клетках крови гораздо более важную роль, чем в плазме крови. Прежде всего, это связано с большим содержанием в эритроцитах неорганических фосфатов. Кроме того, большое значение в поддержании постоянства pH имеют эфиры фосфорных кислот, главным образом фосфолипиды, составляющие основу мембран эритроцитов.

Фосфолипиды являются относительно слабыми кислотами. Значения pK_a диссоциации фосфатных групп находятся в пределах от 6,8 до 7,2. Поэтому при физиологическом pH 7,25 фосфолипиды мембран эритроцитов находятся как в виде неионизированных, так ионизированных форм. Иначе говоря, в виде слабой кислоты и ее соли. При этом соотношение концентраций соли и слабой кислоты составляет примерно (1,5 - 4) : 1. Следовательно, сама мембрана эритроцитов обладает буферным действием, поддерживая постоянство pH внутренней среды эритроцитов.

Таким образом, в поддержании постоянства кислотно-щелочного равновесия в крови участвует ряд буферных систем, обеспечивающих кислотно-основной гомеостаз в организме.

В современной клинической практике кислотно-щелочное равновесие (КЩР) организма обычно определяют путем исследования крови по микрометоду Аструпа и выражают в единицах BE (от лат. "би-эксцесс" - избыток оснований). При нормальном кислотно-щелочном состоянии организма BE = 0 (в аппарате Аструпа этому значению BE отвечает pH 7,4). При значениях BE от 0 до 3 КЩС организма считается нормальным, при BE = (6 - 9) - тревожным, при BE = (10 - 14) - угрожающим, а при абсолютном значении BE, превышающим 14, - критическим.

Для коррекции КЩР при BE 0 (ацидоз) чаще используют 4%-ный раствор гидрокарбоната натрия, который вводят внутривенно. Необходимый объем этого раствора в мл рассчитывают по эмпирической формуле $v = 0,5mBE$, где m - масса тела, кг.

Если состояние ацидоза возникло в результате кратковременной остановки сердца, то объем 4%-ного раствора $NaHCO_3$ (v мл), необходимый для компенсации сдвига КЩР в кислую область, рассчитывают по формуле $v = m z$, где z - продолжительность остановки сердца, мин.

Коррекция КЩР при алкалозе более сложна и требует учета многих привходящих обстоятельств. В качестве одной из временных мер целесообразно введение от 5 до 15 мл 5%-го раствора аскорбиновой кислоты.

Метод кислотно-основного титрования в одном из своих вариантов (алкалиметрия) позволяет определять количества кислот и кислотообразующих веществ (солей, составленных из катиона слабого основания и аниона сильной кислоты и т. п.) с помощью растворов щелочной известной концентрации, называемых рабочими. В другом варианте (ацидиметрия) этот метод позволяет определять количества оснований и веществ основного характера (оксидов, гидридов и нитридов металлов, органических аминов, солей, составленных из катионов сильных оснований и анионов слабых кислот и т. п.) с помощью рабочих растворов кислот.

Метод кислотно-основного титрования используется в практике клинических, судебно-экспертных и санитарно-гигиенических исследований, а также при оценке качества лекарственных препаратов.

I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Основные виды буферных систем.
2. Бикарбонатная буферная система.
3. Белковая буферная система.
4. Фосфатная буферная система.
5. Кислотно-основные буферные системы.

6. Механизм буферного действия.

7. Кислотно-щелочное равновесие.

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Кислотно-основной баланс и буферные системы крови.».

III Список используемой литературы:

Обязательная:

1. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;

2. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

1. ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ

2. МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Биохимия почек и водно-электролитный обмен.

Водно-солевой обмен

Одним из наиболее часто нарушающихся при патологии видов обмена веществ является водно-солевой. Он связан с постоянным движением воды и минеральных веществ из внешней среды организма во внутреннюю, и наоборот.

В организме взрослого человека на воду приходится 2/3 (58-- 67%) массы тела. Около половины ее объема сосредоточено в мышцах. Потребность в воде (человек ежедневно получает до 2,5--3 л жидкости) покрывается за счет поступления ее в виде питья (700--1700 мл), преформированной воды, входящей в состав пищи (800--1000 мл), и воды, образующейся в организме при обмене веществ -- 200--300 мл (при сгорании 100 г жиров, белков и углеводов образуется соответственно 107,41 и 55 г воды). Эндогенная вода в относительно большом количестве синтезируется при активации процесса окисления жиров, что наблюдается при различных, прежде всего пролонгированных стрессовых состояниях, возбуждении симпатико-адреналовой системы, разгрузочной диетотерапии (нередко используемой для лечения больных ожирением).

Благодаря постоянно происходящим обязательным водным потерям внутренний объем жидкости в организме сохраняется неизменным. К числу таких потерь относят ренальные (1,5 л) и экстраренальные, связанные с выделением жидкости через желудочно-кишечный тракт (50--300 мл), дыхательные пути и кожу (850--1200 мл). В целом объем обязательных потерь воды составляет 2,5--3 л, во многом зависит от количества выводимых из организма шлаков.

Участие воды в процессах жизнедеятельности весьма разнообразно. Вода является растворителем многих соединений, непосредственным компонентом ряда физико-химических и биохимических превращений, транспортером эндо- и экзогенных веществ. Кроме того, она выполняет механическую функцию, ослабляя трение связок, мышц, поверхности хрящей суставов (тем самым облегчая их подвижность), участвует в терморегуляции. Вода поддерживает гомеостаз, зависящий от величины осмотического давления плазмы (изоосмия) и объема жидкости (изоволемиа), функционирования механизмов регуляции кислотно-основного состояния, протекания процессов, обеспечивающих постоянство температуры (изотермию).

В организме человека вода пребывает в трех основных физико-химических состояниях, в соответствии с которыми выделяют: 1) свободную, или мобильную, воду (составляет основную часть внутриклеточной жидкости, а также крови, лимфы, интерстициальной жидкости); 2) воду, связанную гидрофильными коллоидами, и 3) конституциональную, входящую в структуру молекул белков, жиров и углеводов.

В организме взрослого человека массой 70 кг объем свободной воды и воды, связанной гидрофильными коллоидами, составляет примерно 60% массы тела, т.е. 42 л. Эта жидкость представлена внутриклеточной водой (на ее долю приходится 28 л, или 40% массы тела), составляющей внутриклеточный сектор, и внеклеточной водой (14 л, или 20% массы тела), образующей внеклеточный сектор. В состав последнего входит внутрисосудистая (интраваскулярная) жидкость. Этот внутрисосудистый сектор образован плазмой (2,8 л), на долю которой приходится 4--5% массы тела, и лимфой.

Интерстициальная вода включает в себя собственно межклеточную воду (свободную межклеточную жидкость) и организованную внеклеточную жидкость (составляющую 15--16% массы тела, или 10,5 л), т.е. воду связок, сухожилий, фасций, хрящей и т.д. Кроме того, к внеклеточному сектору относят воду, находящуюся в некоторых полостях (брюшной и плевральной полости, перикарда, суставов, желудочков мозга, камерах глаза и др.), а также в желудочно-кишечном тракте. Жидкость этих полостей не принимает активного участия в метаболических процессах.

Вода человеческого организма не застаивается в различных его отделах, а постоянно движется, непрерывно обмениваясь с другими секторами жидкости и с внешней средой. Передвижение воды во многом осуществляется благодаря выделению пищеварительных соков. Так, со слюной, с соком поджелудочной железы в кишечную трубку направляется около 8 л воды в сутки, но эта вода вследствие всасывания в более низких участках пищеварительного тракта практически не теряется.

Жизненно необходимые элементы подразделяются на макроэлементы (суточная потребность >100 мг) и микроэлементы (суточная потребность <100 мг). К макроэлементам относятся натрий (Na), калий (K), кальций (Ca), магний (Mg), хлор (Cl), фосфор (P), сера (S) и иод (I). К жизненно важным микроэлементам, необходимым лишь в следовых количествах, относятся железо (Fe), цинк (Zn), марганец (Mn), медь (Cu), кобальт (Co), хром (Cr), селен (Se) и молибден (Mo). Фтор (F) не принадлежит к этой группе, однако он необходим для поддержания в здоровом состоянии костной и зубной ткани. Вопрос относительно принадлежности к жизненно важным микроэлементам ванадия, никеля, олова, бора и кремния остается открытым. Такие элементы принято называть условно эссенциальными.

Так как многие элементы могут запасаться в организме, отклонение от суточной нормы компенсируется во времени. Кальций в форме апатита запасается в костной ткани, иод -- в составе тиреоглобулина в щитовидной железе, железо -- в составе ферритина и гемосидерина в костном мозге, селезенке и печени. Местом хранения многих микроэлементов служит печень.

Обмен минеральных веществ контролируется гормонами. Это относится, например, к потреблению H₂O, Ca²⁺, PO₄³⁻, связыванию Fe²⁺, I⁻, экскреции H₂O, Na⁺, Ca²⁺, PO₄³⁻.

Количество минеральных веществ, абсорбированных из пищи, как правило, зависит от метаболических потребностей организма и в ряде случаев от состава пищевых продуктов. В качестве примера влияния состава пищи можно рассмотреть

кальций. Всасыванию ионов Ca^{2+} способствуют молочная и лимонная кислоты, в то время как фосфат-ион, оксалат-ион и фитиновая кислота ингибируют всасывание кальция из-за комплексообразования и образования плохо растворимых солей (фитин).

Дефицит минеральных веществ -- явление не столь редкое: оно возникает по различным причинам, например, из-за однообразного питания, нарушения усвояемости, при различных заболеваниях. Недостаток кальция может наступить в период беременности, а также при рахите или остеопорозе. Хлородефицит наступает из-за большой потери ионов Cl^- при сильной рвоте.

Из-за недостаточного содержания иода в пищевых продуктах во многих районах Центральной Европы распространенным явлением стали иододефицитные состояния и зобная болезнь. Дефицит магния может возникать из-за диареи или из-за однообразного питания при алкоголизме. Недостаток в организме микроэлементов часто проявляется нарушением кроветворения, т. е. анемией.

В последней колонке перечислены функции, выполняемые в организме указанными минеральными веществами. Из данных таблицы видно, что почти все макроэлементы функционируют в организме как структурные компоненты и электролиты. Сигнальные функции выполняют иод (в составе иодтиронина) и кальций. Большинство микроэлементов являются кофакторами белков, главным образом ферментов. В количественном отношении в организме преобладают железосодержащие белки гемоглобин, миоглобин и цитохром, а также более 300 цинксодержащих белков.

Регуляция водно-солевого обмена. Роль вазопрессина, альдостерона и ренин-ангиотензиновой системы

Основными параметрами водно-солевого гомеостаза являются осмотическое давление, рН и объем внутриклеточной и внеклеточной жидкости. Изменение этих параметров может привести к изменению артериального давления, ацидозу или алкалозу, дегидратации и отекам. Основными гормонами, участвующими в регуляции водно-солевого баланса, являются АДГ, альдостерон и предсердный натрий-уретический фактор (ПНФ).

АДГ, или вазопрессин, -- пептид, содержащий 9 аминокислот, соединенных одним дисульфидным мостиком. Синтезируется в виде прогормона в гипоталамусе, затем переносится в нервные окончания задней доли гипофиза, из которых секретруется в кровотоке при соответствующей стимуляции. Перемещение по аксону связано со специфическим белком-переносчиком (нейрофизинном)

Стимулом, вызывающим секрецию АДГ, служит повышение концентрации ионов натрия и увеличение осмотического давления внеклеточной жидкости.

Наиболее важные клетки-мишени для АДГ - клетки дистальных канальцев и собирательные трубочки почек. Клетки этих протоков относительно непроницаемы для воды, и в отсутствие АДГ моча не концентрируется и может выделяться в количествах, превышающих 20 л в сутки (норма 1--1,5 л в сутки).

Для АДГ существуют два типа рецепторов - V1 и V2. Рецептор V2 обнаружен только на поверхности эпителиальных клеток почек. Связывание АДГ с V2 сопряжено с аденилатциклазной системой и стимулирует активацию протеинкиназы А (ПКА). ПКА фосфорилирует белки, которые стимулируют экспрессию гена мембранного белка -- аквапорина-2. Аквапорин 2 перемещается к апикальной мембране, встраивается в нее и образует водные каналы. Эти обеспечивают селективную проницаемость мембраны клеток для воды. Молекулы воды свободно диффундируют в клетки почечных канальцев, а затем поступают в интерстициальное пространство. В результате происходит реабсорбция воды из почечных канальцев. Рецепторы типа V1 локализованы в мембранах гладких мышц. Взаимодействие АДГ с рецептором V1 приводит к активации фосфолипазы С, которая гидролизует фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат с образованием ИФ-3. ИФ-3 вызывает высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума. Результатом действия гормона через рецепторы V1 является сокращение гладкомышечного слоя сосудов.

Дефицит АДГ, вызванный дисфункцией задней доли гипофиза, а также нарушением в системе передачи гормонального сигнала может приводить к развитию несахарного диабета. Основным проявлением несахарного диабета является полиурия, т.е. выделение большого количества мочи низкой плотности.

Альдостерон - наиболее активный минералокортикостероид синтезируется в коре надпочечников из холестерина.

Синтез и секрецию альдостерона клетками клубочковой зоны стимулируют ангиотензин II, АКТГ, простагландин E. Эти процессы также активируются при высокой концентрации K^+ и низкой концентрации Na^+ .

Гормон проникает внутрь клетки-мишени и взаимодействует со специфическим рецептором, расположенным как в цитозоле, так и в ядре.

В клетках почечных канальцев альдостерон стимулирует синтез белков, которые выполняют разные функции. Эти белки могут: а) увеличивать активность натриевых каналов в мембране клеток дистальных почечных канальцев, способствуя тем самым транспорту ионов натрия из мочи в клетки; б) являться ферментами ЦТК и, следовательно, увеличивать способность цикла Кребса генерировать молекулы АТФ, необходимые для активного транспорта ионов; в) активировать работу насоса K^+ , Na^+ -АТФазы и стимулировать синтез новых насосов. Суммарным результатом действия белков, которых индуцируется альдостероном, является увеличение реабсорбции ионов натрия в канальцах нефронов, что вызывает задержку NaCl в организме.

Главным механизмом регуляции синтеза и секреции альдостерона служит ренин-ангиотензиновая система.

Ренин -- фермент, продуцируемый юкстагломерулярными клетками почечных афферентных артериол. Локализация этих клеток делает их особенно чувствительными к изменению артериального давления. Снижение артериального давления, потеря жидкости или крови, уменьшение концентрации NaCl стимулируют высвобождение ренина.

Ангиотензиноген --2 - глобулин, образующийся в печени. Он служит субстратом для ренина. Ренин гидролизует пептидную связь в молекуле ангиотензиногена и отщепляет N-концевой декапептид (ангиотензин I).

Ангиотензин I служит субстратом для ангиотензинпревращающего фермента карбоксидипептидилпептидазы, выявленного в эндотелиальных клетках и плазме крови. От ангиотензина I отщепляются 2 терминальные аминокислоты с образованием октапептида -- ангиотензина II.

Ангиотензин II стимулирует выработку альдостерона, вызывает сужение артериол вследствие чего повышается артериальное давление и вызывает жажду. Ангиотензин II активирует синтез и секрецию альдостерона через инозитолфосфатную систему.

ПНФ -- пептид, содержащий 28 аминокислот с единственным дисульфидным мостиком. ПНФ синтезируется и хранится в виде препрогормона (состоящего из 126 аминокислотных остатков) в кардиоцитах.

Основной фактор, регулирующий секрецию ПНФ -- повышение артериального давления. Другие стимулы: увеличение осмолярности плазмы, повышение частоты сердцебиения, повышенный уровень катехоламинов в крови и глюкокортикоидов.

Основные органы-мишени ПНФ - почки, периферические артерии.

Механизм действия ПНФ имеет ряд особенностей. Рецептор ПНФ плазматической мембраны является белком, обладающим активностью гуанилатциклазы. Рецептор имеет доменное строение. Домен, связывающийся с лигандом, локализован во внеклеточном пространстве. В отсутствие ПНФ внутриклеточный домен рецептора ПНФ находится в фосфорилированном состоянии и неактивен. В результате связывания ПНФ с рецептором гуанилатциклазная активность рецептора возрастает и происходит образование циклического GMP из GTP. В результате действия ПНФ ингибируются образование и секреция ренина и альдостерона. Суммарным эффектом действия ПНФ является увеличение экскреции Na^+ и воды и понижение артериального давления.

ПНФ обычно рассматривают как физиологический антагонист ангиотензина II, поскольку под его влияния возникают не сужение просвета сосудов и (через регуляцию секреции альдостерона) задержка натрия, а наоборот, расширение сосудов и потеря соли.

I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Основные функции почек.
2. Водно-солевой обмен
3. Регуляция водно-солевого обмена.
4. Характеристика основных гормонов, регулирующих водно-солевой обмен.

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Биохимия почек и водно-электролитный обмен».

III Список используемой литературы:

Обязательная:

1. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;
2. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

1. ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
2. МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ

Тема: Клиническая биохимия: диагностика инфаркта миокарда.

При инфаркте миокарда (ИМ) в результате некроза клеток сердечной мышцы в кровеносное русло попадают содержащиеся в них ферменты и белки. По их наличию, времени появления и концентрации в плазме крови можно оценить ущерб, нанесенный сердечной мышце. Эти сведения дополняют данные ЭКГ и помогают в ранней диагностике ИМ, что позволяет своевременно избрать правильную тактику лечения.

Идеальный биохимический маркер должен обладать наивысшей специфичностью и чувствительностью в отношении некроза миокарда, в течение короткого времени после начала симптомов ИМ достигать в крови диагностически значимого уровня, этот уровень должен сохраняться в течение многих дней. В настоящее время маркера, полностью отвечающего всем этим требованиям, не существует, поэтому для диагностики ИМ рекомендуется параллельно использовать два маркера — "ранний" и "поздний". Содержание "раннего" маркера при ИМ диагностически значимо повышается в крови в первые часы заболевания, "поздний" — достигает диагностически значимого уровня только через 6—9 ч, но обладает высокой специфичностью в отношении некроза миокарда.

Ранние маркеры некроза миокарда:

1. Миоглобин
2. МВ-КФК (сердечная форма креатинфосфокиназы — КФК)
3. Сердечная форма белка, связывающего жирные кислоты (сБСЖК)

Поздние маркеры некроза миокарда:

1. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)
2. Аспаратаминотрансфераза (АсАТ)
3. Сердечные тропонины I и T

Среди множества биохимических маркеров, которые могут менять свою концентрацию в плазме крови при ИМ, наиболее кардиоспецифическими являются тропонины, МВ-фракция креатинфосфокиназы (КФК-МВ) и миоглобулин, которые и представляют наибольшую диагностическую ценность.

Тропонин — является ферментом «быстрого реагирования», поскольку попадает в периферический кровоток из зоны некроза уже в первые часы повреждения миокарда. Тропонины T и I присутствуют только в клетках миокарда, поэтому повышение их концентрации в крови является достоверным признаком ИМ и показателем его распространенности. Отрицательный тропониновый тест вначале сердечного приступа и через 12 часов позволяет исключить у больного ИМ и диагностировать нестабильную стенокардию. Даже незначительное повышение уровня тропонинов в периферической крови через 6-12 часов после болевого приступа расценивается как признак ишемии миокарда ведущей к некрозу и позволяет выявить ИМ без явных клинических симптомов и ЭКГ-признаков заболевания.

МВ-фракция креатинфосфокиназы (МВ-КФК) содержится преимущественно в клетках миокарда, но в небольшом количестве присутствует и в скелетных мышцах, поэтому активность этого фермента в крови может повышаться при повреждении не только сердечной мышцы, но и других мышечных групп. Судить о повреждении миокарда на фоне сердечного приступа позволяет нарастание активности МВ-КФК в динамике. Для диагностики ИМ в первые сутки от начала сердечного приступа ее определяют 2-3 раза каждые 8 часов. Три отрицательных результата позволяют исключить ИМ, а нарастание концентрации этого фермента в крови с высокой долей вероятности свидетельствует об ИМ. Уровень активности МВ - КФК позволяет определить величину инфаркта миокарда и тяжесть заболевания.

Миоглобин — очень ранний и чувствительный, но менее специфичный маркер ИМ, поскольку содержание этого мышечного белка в крови может увеличиваться и по другим причинам. Миоглобин при сердечном приступе появляется в крови еще до формирования очага некроза, на стадии выраженного ишемического повреждения сердечной мышцы. Повышение уровня миоглобина в 10 раз и больше указывает на некроз мышечных клеток.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) — фермент, принимающий участие в реакциях гликолиза, катализируя превращение лактата в пируват, при этом образуется NADH. ЛДГ имеет пять изо-энзимов. В сердечной мышце содержится преимущественно изоэнзим ЛДГ-1. При ИМ концентрация ЛДГ начинает превышать нормальный уровень через 14—48 ч после начала симптомов, достигает максимального значения на 3—6-е сутки заболевания и возвращается к норме на 7—14-е сутки болезни. ЛДГ-1 была обнаружена также в эритроцитах, почках, мозге, желудке, повышение концентрации этого белка в крови больных далеко не всегда связано с некрозом миокарда. Отношение ЛДГ-1/ЛДГ-2, превышающее 0,76, обладает 90% специфичностью при выявлении некроза миокарда. Это соотношение может увеличиваться и в случае отсутствия ИМ, если у больного имеются массивный гемолиз, мегалобластическая анемия, распространенное повреждение скелетных мышц, тяжелое заболевание печени. Из-за позднего повышения концентрации ЛДГ в сыворотке крови этот маркер не применяется для ранней диагностики ИМ и суждения об успехе тромболитической терапии, однако ЛДГ длительно использовалась для диагностики ИМ в поздние сроки заболевания.

Аспаратаминотрансфераза (АсАТ) — фермент, который катализирует преобразование оксалоацетата в аспарат, перенося NH₃ на первую молекулу. Вторым продуктом реакции является α-кетоглутарат. Реакция играет важную роль в высвобождении NH₃ из аминокислот, который затем перерабатывается в цикле мочевины, так как аспарат, полученный в процессе реакции, нужен для образования аргининосукцината. У больных ИМ уровень АсАТ превышает норму через 8—12 ч после начала боли, достигает максимального значения к 24—36-му часу и возвращается к норме за 3—4 дня. Большое количество этого фермента содержится в тканях печени, что сильно снижает его специфичность в отношении некроза миокарда. АсАТ неудобна как для ранней, так и для поздней диагностики ИМ, она используется только в

сочетании с более чувствительными и специфичными маркерами. Низкая специфичность в отношении некроза миокарда послужила причиной того, что использование этого маркера, как и ЛДГ, для диагностики ИМ в настоящее время также признано нецелесообразным..

Повышение АСТ, превышающее повышение АЛТ, характерно для повреждения **сердечной мышцы**; если же показатель АЛТ выше, чем АСТ, то это, как правило, свидетельствует о разрушении клеток **печени**.

Неспецифическая реакция на повреждение миокарда включает нейтрофильный **лейкоцитоз** (появляется через несколько часов после окклюзии и длится 3-7 сут, число лейкоцитов достигает 12000-15000 в мкл). **СОЭ** повышается медленнее, достигает пика в 1-ю неделю и часто остается повышенной в течение 1-2 нед.

сБСЖК по последовательности аминокислот идентичен БСЖК, содержащемуся в поперечнополосатой мышечной ткани скелетных мышц, однако представлен в скелетной мускулатуре в минимальном количестве. Максимальное количество сБСЖК находится в ткани миокарда — 0,5 мг/г. Единственная мышца, в которой имеется относительно большое количество сБСЖК, — это диафрагма (примерно 25% от содержания в ткани миокарда). Некоторое количество сБСЖК содержится в тканях аорты, и можно предположить, что содержание его повышается, в крови при расслаивающей аневризме аорты. Так как сБСЖК в основном свободно расположен в цитоплазме клеток, в случае повреждения клеточной мембраны кардиомиоцита он быстро попадает в кровоток. В крови здоровых людей циркулирует небольшое количество сБСЖК.

Исследуемое вещество	Начало увеличения активности, ч	Максимум увеличения активности, ч	Возвращение к норме, сут	Кратность увеличения
АСТ	5-6	24-48	4-7	2-20
СК	2-4	24-36	3-6	3-30
СК-МВ	2-4	12-18	2-3	До 8
ЛДГ	8-10	48-72	6-15	До 8
ЛДГ1	8-10	30-72	7-20	До 8
Миоглобин	0,5-2	6-12	0,5-1	До 20
Тропонин Т	3,5-10	12-18	7-14	До 300
Тропонин I	4-10	18-30	5-10	До 300

I Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний:

1. Биохимический механизм развития инфаркта миокарда.
2. Биохимические маркеры инфаркта миокарда, их классификация и характеристика.
3. Роль энзимодиагностики при инфаркте миокарда.

II Самостоятельная работа обучающихся:

Составить ментальную карту по теме: «Клиническая биохимия: диагностика инфаркта миокарда».

III Список используемой литературы:

Обязательная:

1. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ», МОСКВА 2004;
2. Е.С. СЕВЕРИН «БИОХИМИЯ С УПРАЖНЕНИЯМИ И ЗАДАЧАМИ», МОСКВА 2008;

Дополнительная:

1. ИНТЕРНЕТ РЕСУРСЫ
2. МАТЕРИАЛ КОНСПЕКТОВ ЗАНЯТИЯ