

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Северо-Осетинская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России)

Кафедра биологической химии

**РУКОВОДСТВО К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ (часть 1)**

основной профессиональной образовательной программы высшего образования –
программы специалитета по специальности
32.05.01 Медико-профилактическое дело,
утвержденной 31.08.2020 г.

Руководство к практическим занятиям предназначено для работы студентов 2 курса
(3,4 семестр) медико-профилактического факультета
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России
по дисциплине биологическая химия

Составители:

Заведующий кафедрой биологической химии
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России,

к.м.н. Гурина А.Е.

Доцент кафедры биологической химии
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России,

к.м.н. Каряева Э.А.

Старший преподаватель кафедры биологической химии
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России,

к.м.н. Кулаева И.О.

Старший преподаватель кафедры биологической химии
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России,

Габолаева Н.А.

Рецензенты:

Заведующий кафедрой химии и физики
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России,

д.х.н. Калагова Р.В.

Заместитель руководителя
Управления Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека
по Республике Северная Осетия – Алания

к.м.н. Каболова З.З.

РАЗДЕЛ I. «ФЕРМЕНТЫ, МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНЗИМОЛОГИИ»

ЗАНЯТИЕ № 1

Тема: ФЕРМЕНТЫ КАК БИОЛОГИЧЕСКИЕ КАТАЛИЗАТОРЫ. 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 промышленности, 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 студентов на занятии.

Студент 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.

Студент должен уметь:

1. Определять активность амилазы слюны;
2. Определять влияние различных температурных режимов на активность амилазы слюны;
3. Определять специфичность действия амилазы слюны и са- харазы 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 «апофер- мент» 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 лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

Лабораторные работы:

1. Определение активности амилазы слюны.
2. Определение влияния различных температурных режимов на активность амилазы слюны.

3. Определение специфичности действия амилазы слюны и сахаразы дрожжей.
4. Исследование влияния реакций среды на активность пепсина желудочного сока.

V. Наименование лабораторной работы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1. Определение активности амилазы слюны

Принцип работы: Амилаза слюны относится к классу гидролаз и ускоряет гидролиз полисахаридов (например, крахмала). Действие амилазы слюны на гидролитическое расщепление крахмала можно обнаружить по определению конечных продуктов этой ферментативной реакции.

Порядок проведения работы. В две пробирки вносят: в первую - 10 капель слюны, во вторую - 10 капель желудочного сока. Затем в обе пробирки приливают по 10 капель 0,5% раствора крахмала и помещают на 10 минут в водяную баню при 37°. Далее пробирки извлекают, помещают в штатив и добавляют по 3 капли раствора Люголя. При надобности проверить конец гидролиза крахмала реакцией Феллинга.

Исследуемый фермент	Объект исследования	Субстрат	Условия реакции	Результаты реакции с йодом	Результаты реакции Феллинга
амилаза	слюна	крахмал	37°-10'		

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2. Определение влияния различных температурных режимов на активность амилазы слюны

Принцип работы: В работе выявляется чувствительность фермента к температуре, при которой протекает ферментативная реакция. Для многих ферментов максимальная ферментативная скорость наблюдается при 38-40° С. При нагревании выше 70° С ферменты- белки, подвергаясь денатурации, теряют свойства биологических катализаторов. При низких температурах ферменты хорошо сохраняются, но скорость ферментативного катализа резко падает.

Порядок проведения работы. В 3 пробирки вносят по 10 капель слюны и 10 капель 0,5% раствора крахмала и помещают в водяную баню при 37° на 10 минут первую пробирку, вторую – на 10 минут в кипящую водяную баню, третью ставят на 10 минут на лед. Затем пробирки помещают в штатив и добавляют по 5 капель раствора Люголя. Результаты вносят в таблицу.

Фермент	Субстрат	Условия реакции		Результаты реакции с йодом
		Температура	Время	
1. Амилаза	Крахмал	37°	10'	
2.	//	100°	10'	
3. Амилаза	//	0°	10'	

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3. Определение специфичности амилазы слюны и сахаразы дрожжей

Принцип работы: Способность катализировать только определенные химические реакции есть важное свойство ферментов. Эта высокая специфичность объясняется участием в образовании фермент-субстратного комплекса лишь определенных функциональных групп, входящих в состав ферментов. Амилаза ускоряет гидролиз лишь полисахаридов, а сахараза расщепляет только дисахарид сахарозу. Гидролиз соответствующих субстратов специфичными ферментами определяем по обнаружению конечных продуктов гидролиза реакцией Феллинга.

Порядок выполнения работы. В 2 пробирки вносят: в первую -10 капель раствора крахмала, во вторую - 10 капель сахарозы. В обе пробирки добавляют по 5 капель амилазы слюны и помещают смеси в водяную баню при 37° С. Через 10 минут пробирки вынимают, охлаждают водой и в каждую пробирку добавляют по 5-6 капель раствора Феллинга. Пробирки нагревают и отмечают результаты. Параллельно аналогичную работу проделывают с другим ферментом - сахарозой дрожжей.

Схема протокола

Фермент	Субстрат	Условия реакции		Результаты реакции Феллинга
Амилаза	крахмал	37°	10'	
Амилаза	сахароза	//	10'	
Сахараза	крахмал	37°	10'	
Сахараза	сахароза	//	10'	

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4.

Исследование влияния реакции среды на активность пепсина желудочного сока

Принцип работы: Оптимум pH для пепсина желудочного сока определяют при взаимодействии последнего с фибрином при различных значениях pH среды.

Порядок выполнения работы. В три пробирки наливают по 5мл буферного раствора с различными значениями pH. В каждую пробирку вносят по кусочку (20-30 мг) окрашенного фибрина или яичного белка. Тщательно размешать и внести по 30мг пепсина. Инкубировать в течение 15-20 минут при 37° С, периодически помешивая смесь. Полученные результаты внести в протокол.

Фермент	Схема буф. pH'	Субстрат	Условия реакции	Раствор фибрина
Пепсин	2	Фибрин	37° 45-25'	
//	7	//	//	
//	9	//	//	

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

VI. 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 значение «многоточечного» 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 термоллабильность?
22. Зависимость ферментативной активности от pH. Чем обусловлено влияние pH среды на скорость ферментативной реакции. Укажите оптимум pH для следующих ферментов: пепсин, трипсин, амилаза.

VII. 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. Кофермент- том 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.

VIII. Хронокарта учебного занятия.

1. Программированный письменный самоконтроль - 15 минут.
 2. Разбор теоретических вопросов темы - 20 минут.
 3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ - 5 минут.
 4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов - 85 минут, (самостоятельная работа)
 5. Подведение итогов занятия - 10 минут.
- Всего - 135 минут.

IX. Самостоятельная работа студентов.

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

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
14. Дюга Г., Пенни К. химические подходы к механизму действия ферментов, М.:Мир, 1983

ЗАНЯТИЕ №2

Тема: ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ. ИХ КОФЕРМЕНТНАЯ ФУНКЦИЯ, УЧАСТИЕ В ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ.

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 PP в печени из триптофана и витамин D₃ (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 - B_p, B₂, B₆, B₁₂, PP, фолиевая кислота, пантотеновая кислота, K, биотин. В организм человека витамины могут поступать в виде предшественников - провитаминов, примерами служат для ретинола - каротиноиды, для витамина D₃ - 7-дегидрохолестерин, для витамина D₂ - эргостерин.

Суточная потребность витаминов ничтожно мала, измеряется миллиграммами и даже микрограммами. Так, взрослым в сутки необходимо 50-100 мг витамина C, 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, B₁₂- кобаламин - антианемический витамин, B₁- тиамин, антиневритный, PP (B₅) - никотиновая кислота (ниацин) - антипеллагрический витамин.

Витамины делятся на **водорастворимые и жирорастворимые**. К *водорастворимым* относятся B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂, PP, C, биотин, пантотеновая кислота, фолиевая кислота, липоевая кислота, иногда также холин, инозит и др., к *жирорастворимым* - A, D, E, K, F. В организме человека имеются витаминоподобные вещества: холин, инозит, липоевая кислота, витамин B₁₅(пангамовая кислота), 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 B₁; (тиамин, антиневритный, аневрин, анейрин) в составе тиаминдифосфата (ТДФ, ТДФ) участвует в окислительном декарбоксилировании α-кетокислот (пировиноградной кислоты (ПВК), α-кетоглутаровой кислоты), а так же в транскетолазной реакции, в неокислительном декарбоксилировании пирувата. Витамин B₂ (рибофлавин) является предшественником коферментов ФМН (флавиномононуклеотид), ФАД (флавадениндинуклеотид). В составе коферментов ФМН и ФАД участвует в окислительно-восстановительных реакциях (перенос H⁺). Соответствующие ферменты - дегидрогеназы, оксидазы имеют общее название флавиновые ферменты.

Разновидностями витамина B₆ являются пиридоксин (пиридоксол), пиридоксаль, пиридоксамин. Витамин B₆ (пиридоксин, антидерматитный) предшественник кофермента пиридоксальфосфат (ПФ). Принимает участие в реакциях трансаминирования аминокислот, декарбоксилирования аминокислот, взаимопревращении D и L -форм аминокислот.

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

Витамин C (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: *типовитаминозы* - 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 студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Классификацию витаминов;
2. Структуру витаминов (B_1 , B_2 , B_6 , PP, C), природные источники, суточную потребность, их коферментную функцию и участие в метаболических процессах.
3. Нарушения обмена веществ и патологические состояния, возникающие при недостаточности данных витаминов.

Студент должен уметь:

1. Провести качественные реакции на витамины B B_1 , B_2 ,
2. Обнаружить альдегидоксидазу в молоке.
3. Определить количество витамина C в капусте и картофеле.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы:

Классификация витаминов.

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

- B_1 (тиамин),
- B_2 (рибофлавин),
- B_6 (пиридоксин),
- PP (амид никотиновой кислоты),
- C (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 лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Реакция окисления тиамин B_1 .
2. Качественная реакция на витамин B, (рибофлавин).
3. Обнаружение альдегидоксидазы в молоке.
4. Количественное определение витамина C.

Наглядные пособия:

Таблицы

1. Витамины B_1 .
2. Авитаминоз PP.
5. Химический состав и калорийность молока.

V. Наименование лабораторной работы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Реакция окисления тиамин B_1

Принцип метода: В щелочной среде тиамин окисляется в тиохром феррицианидом калия, тиохром обладает синей флюоресценцией при ультрафиолетовом облучении.

Методика выполнения: К 1 капле 5%раствора тиамин прибавляют 5-10 капель 10% раствора едкого натра, 1-2 капли 5% раствора феррицианида калия, взбалтывают и слегка нагревают

Предполагаемые результаты: Происходит окрашивание смеси в желтый цвет в результате окисления тиамин в тиохром, который в щелочном растворе при облучении ультрафиолетом обладает интенсивной синей флюоресценцией.

Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

Качественная реакция на витамин В, (рибофлавин)

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

Методика выполнения: В пробирку наливают 10 капель раствора В₂, добавляют 5 капель концентрированной хлористоводородной кислоты и опускают зёрнышко металлического цинка.

Предполагаемые результаты: Происходит выделение пузырьков водорода, жидкость постепенно розовеет, затем обесцвечивается.

Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3. Обнаружение альдегидоксидазы в молоке

Принцип метода: По химической природе альдегидоксидазы являются флавопротеидами, способными окислять альдегиды (например, формальдегид). При добавлении к некипяченому молоку формальдегида и метиленового синего, названный фермент окисляет формальдегид в муравьиную кислоту, а освободившийся при этом водород передается на метиленовый синий, восстанавливая его в бесцветное соединение.

Методика выполнения: В 2 пронумерованные пробирки наливают по 15 капель молока. Молоко в пробирке 1 кипятят, после чего охлаждают. В каждую пробирку вносят по капле раствора формальдегида и по капле раствора метиленового синего. Содержимое пробирок перемешивают встряхиванием и добавляют в каждую пробирку по 5 капель вазелинового масла, чтобы создать анаэробные условия. Пробирки помещают в водяную баню при 37°C.

Предполагаемые результаты: Отмечают постепенное обесцвечивание метиленовой сини в пробирке 2. Пробирка 1, содержащая кипяченое молоко, является контрольной, в ней обесцвечивание метиленового синего не произошло, т. к. фермент разрушен нагреванием.

Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4. Количественное определение витамина С

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

Для расчета содержания аскорбиновой кислоты в капусте, картофеле, хвое и др. используют формулу:

$$X = \frac{0,088 * A * \Gamma * 100}{B * B}$$

где

X - содержание аскорбиновой кислоты в мг на 100 г продукта,

0,088 - содержание аскорбиновой кислоты; мг,

A - результат титрования 0,001 г раствором 2,6 - дихлорфено- линдофенола (мл)

B - объём экстракта, взятый для титрования (мл),

B - количество продукта, взятое для анализа (г),

Г - общее количество экстракта (мл),

100 - пересчет на 100 г продукта.

Методика выполнения.

а) Определение содержания витамина С в капусте.

Отвешивают 1 г капусты на весах, растирают в ступке с 2 мл

10% раствора хлористоводородной кислоты + 8 мл воды, фильтруют, берут 2 мл вытяжки, титруют 2,6 - дихлорфенолиндофенолом до розовой окраски, сохраняющейся в течение 30 сек. Вычисляют содержание аскорбиновой кислоты в 100 г капусты по формуле, указанной выше;

б) определение содержания витамина С в картофеле.

Отвешивают 5 г картофеля, растирают в ступке с 20 каплями 10% раствора хлористоводородной кислоты. Постепенно приливают дистиллированную воду - 15 мл. Полученную массу сливают в стаканчик, ополаскивают ступку водой, сливают её по стеклянной палочке в стаканчик и титруют 0,001 н раствором 2,6 - дихлорфенолиндофенола до розовой окраски. Вычисляют по формуле.

Предполагаемые результаты: В норме в капусте содержание витамина С = мг/100 мл, в картофеле - мг/100 мл

Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

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 В₁?
6. Напишите формулу витамина В₂, дайте ему другое название.
7. Какие продукты богаты витамином В₂? Назовите его суточную потребность.
8. Какова роль витамина В₂ 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 В₂ 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 В₆ авитаминоза.
17. Как иначе называется витамин В₉? Дайте еще два наименования. Опишите основные структурные компоненты его молекулы.
18. Назовите коферменты, возникающие из витамина В₉.
19. В каких пищевых продуктах много витамина В₉ (кобаламина)? Его суточная потребность?
20. Что такое внешние и внутренние факторы Касла? 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 В₁₂ приводит к развитию анемии?

Задача № 6.

Почему при гиповитаминозе С наблюдается кровоточивость мелких сосудов?

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 студентов

Суточная потребность, распространение в природе, биологическая роль витаминов:

В₁₂(кобаламин),

В₃ (пантотеновая кислота),

В₁₅ (пангамовая кислота),

Н (биотин),

В_с (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 кофермента	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. 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. 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. 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

ЗАНЯТИЕ №3.

Тема: РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. АКТИВАТОРЫ И ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ. 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 студентов на занятии.

Студент 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.

Студент 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 лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

Лабораторные работы:

1. Влияние активатора и не специфического ингибитора на активность амилазы слюны.

V. Наименование лабораторной работы.

вносят в 3 пробирки и т.д. Из 10 пробирки 1мл смеси вылить.
Таким образом, разведения будут:

Пробир.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Развед.	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120	1/10240

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Влияние активатора и неспецифического ингибитора на активность амилазы

Принцип работы: Определяется активность амилазы слюны по Вольгелмуту при добавлении к реагирующей смеси определенных компонентов (хлористый натрий, серноокислая медь).

Порядок выполнения работы: В 10 пробирок наливают по 1мл воды, затем в 1 пробирку вносят 1мл разведенной в 10 раз слюны. Тщательно перемешивают и 1мл смеси вносят во 2 пробирку, раствор перемешивают и 1мл смеси

Во все пробирки добавить по 2мл крахмала. В пробирки первого ряда добавить по 1мл H_2O . В пробирки второго ряда - по 1мл NaCl. В пробирки третьего ряда - по 1мл $CuSO_4$.

Все пробирки помещают на 30 минут в водяную баню при 38° . Затем пробирки охлаждают и прибавляют по капле р-ра Лю- голя. Результаты оформить в виде схемы-рисунков.

VI. 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?

VII. 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.

VIII. Хронокарта учебного занятия.

1. Программированный письменный самоконтроль-15 минут.
 2. Разбор теоретических вопросов темы-20 минут.
 3. Разбор вопросов, связанных с выполнением лабораторных работ - 5 минут.
 4. Выполнение лабораторных работ студентами и составление протоколов - 85 минут (самостоятельная работа).
 5. Подведение итогов занятия - 10 минут.
- Всего 135 минут.

IX. Самостоятельная работа студентов.

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.

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. 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. 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

РАЗДЕЛ II «ЛИПИДЫ, СТРУКТУРА, СВОЙСТВА, КЛАССИФИКАЦИЯ. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН. ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ А, D, E, F, K»

ЗАНЯТИЕ №1

ТЕМА: ЛИПИДЫ БИОМЕМБРАН. СТРУКТУРА, СВОЙСТВА, ФУНКЦИИ. СПОСОБЫ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ВЕЩЕСТВ. МЕХАНИЗМЫ ПОСТУПЛЕНИЯ СИГНАЛА В КЛЕТКУ

I. 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})

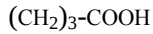
полиненасыщенные

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 (C₂₀)



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.

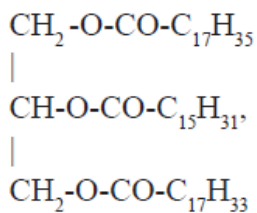
Полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая, линоленовая, арахидоновая) в организме не синтезируются, поэтому их называют незаменимыми (эссенциальными). Они:

1. входят в состав фосфолипидов клеточных мембран
2. являются субстратами для синтеза простагландинов (тромбоксаны, простациклины)
3. являются противораковыми (витамин F)

Жирные кислоты находятся в организме в основном в этерифицированном состоянии. Они входят в состав триацилглицеридов. Нейтральные жиры (триацилглицериды) выполняют в основном роль резервного метаболического топлива, так как являются самой компактной и энергоёмкой 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 триацилглицери-

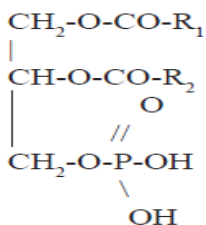
на:



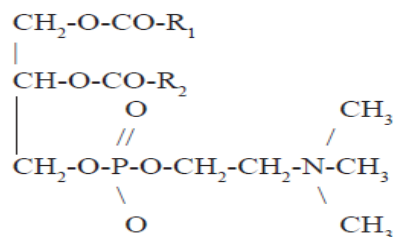
стеариноилпальмитоилолеиновый триацилглицерид.

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:



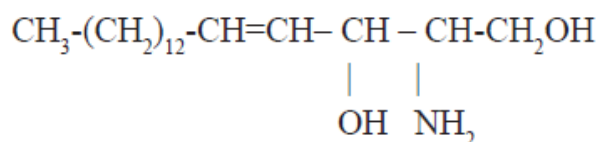
В фосфатидной кислоте к фосфорильному остатку присоединены различные полярные радикалы (этаноламин, трижды метилированный по азоту этаноламин или холин, серин и т.д.). Рассмотрим структуру фосфатидилхолина или лецитина:



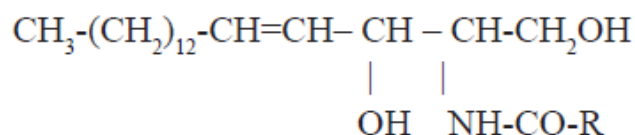
Мы видим, что в отличие от триглицеридов, фосфолипиды амфифильные, то есть имеют заряженную или полярную «головку» (холин) и неполярный хвост (жирные кислоты). Эти амфипатические свойства фосфолипидов играют важную роль в построении мембраны живой клетки.

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

Сфингозин



Предшественником всех сфинголипидов является **церамид**:



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

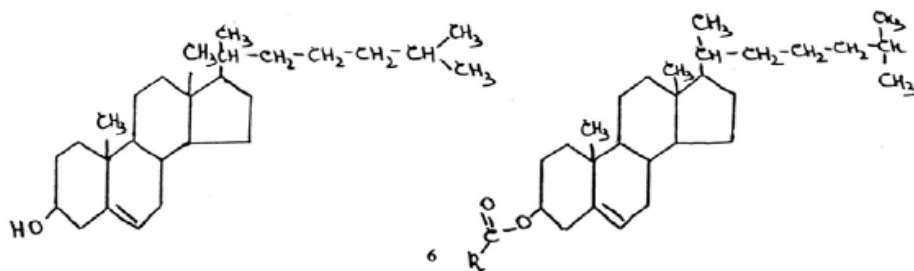
Гликолипиды также производные церамида в сочетании с различными полярными заместителями по свободной гидроксильной группе. Такими заместителями бывают обычно сахара.

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	Преимущества»» локализация организм»*	в
---------------	----------------	---------	---	---

Триацилглицерины	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_1 \\ \\ \text{HC}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_2 \\ \\ \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_3 \end{array} $	Запасание энергетического материала Термоизоляция Механическая защитная функция	Адиipoциты
Глиерофосфопипиды: X-холин этанолaмин серин имозитолбисфосфaт	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_1 \\ \\ \text{HC}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_2 \\ \\ \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{X} \\ \\ \text{OH} \end{array} $	Структурные компоненты мембран; фосфaтидилхолин, кроме того, структурный элемент липолпротеинов. компонент сурфaктaнтa, предотвращающего слипание альвеол (в этом случае R ₁ и R ₂ - пальмитиновые кислоты)	Мембраны клеток на поверхности липопротеинов Альвеолы легких
Сфммогосфолипиды сфингомиепины		Основные структурные компоненты мембран клеток нервной ткани	Миелиновые оболочки нейронов Серое вещество мозга
Гликолипиды: а) цереброзиды, если X-моносахарид б) ганглиозиды, если X-углеводы сложного состава		Компоненты мембран клеток нервной ткани. Антигенные структуры на поверхности разных типов клеток; рецепторы. Структуры, обеспечивающие взаимодействие клеток	Внешний слой клеточной мембран
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 - стерины и 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 сигналы 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 студентов на занятии:

Студент 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.

Студент 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 лабораторных работ, наглядных пособий и

средств ТСО.

Лабораторные работы:

1. Цветные реакции на холестерин. Реакция Сальковского.
2. Реакция Либермана-Бурхарда.
3. Реакция с хлорным железом.
4. Обнаружение ненасыщенности холестерина.

V.Наименование лабораторной работы

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

Цветные реакции на холестерин. Реакция Сальковского

Принцип метода: Холестерин является циклическим ненасыщенным спиртом. Как и другие спирты в присутствии водоотнимающих средств теряет молекулу воды и переходит в холесте- рилен, имеющий две двойные связи.

Порядок выполнения работы. В сухую пробирку к 7 каплям раствора холестерина в хлороформе добавляют 5 капель серной кислоты.

Предполагаемые результаты: Верхний слой постепенно окрашивается в фиолетовый цвет. При стоянии фиолетовая окраска переходит в красную.

Обсуждаются результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2 Реакция Либермана-Бурхарда

Принцип метода: Для определения холестерина используются реакция, основанная на образовании окрашенной сульфокислоты холестерина.

Порядок выполнения работы. В сухую пробирку к 5 каплям раствора холестерина в хлороформе добавляют 2 капли уксусного ангидрида и 1 каплю серной кислоты.

Предполагаемые результаты: После встряхивания раствор приобретает красно-фиолетовое окрашивание, переходящее в синее и затем в зеленое.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3 Реакция с хлорным железом

Принцип метода: Обнаружение холестерина основано на его реакции с хлорным железом.

Порядок выполнения работы. В пробирку вносят 1 каплю раствора хлорного железа и 5-8 капель серной кислоты. Содержимое пробирки перемешивают встряхиванием и добавляют 5 капель раствора холестерина в уксусной кислоте.

Предполагаемые результаты: При взбалтывании содержимого пробирки возникает красно-фиолетовое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4

Обнаружение ненасыщенности холестерина

Принцип метода: Ненасыщенная связь, имеющаяся в молекуле холестерина, может быть обнаружена по обесцвечиванию бромной воды, добавленной к хлороформенному раствору холестерина.

Порядок выполнения работы. В пробирку вносят 10-15 капель хлороформенного раствора холестерина и добавляют 2 капли бромной воды.

Предполагаемые результаты: Отмечается обесцвечивание бромной воды при встряхивании содержимого пробирки.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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?

VIII. Хронокарта учебного занятия

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

IX. Самостоятельная работа студента:

Х. Список используемой литературы

Основная:

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 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
13. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
14. Николаев А. Я. Биологическая химия

ЗАНЯТИЕ №2

Тема: ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ. МЕТАБОЛИЗМ ВИТАМИНА Д В ОРГАНИЗМЕ.

I. 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, анти- ксерофтальмический). 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 кофакторную 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-α-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 К ; - филлохинон, содержится в растениях; витамин К, - метакхинон, содержится в тканях животных. Витамин К 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 К 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 пере- кисное окисление липидов. Антиоксидантную функцию витамин Е выполняет совместно с селеном и цистеином. При гиповитаминозе Е 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: простагландины - простагландины, простациклины и тромбоксаны и лейкотриены.

II. Цель деятельности студентов на занятии.

Студент 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.

Студент 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 лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

Лабораторные работы:

1. Качественная реакция на витамин А (ретинол).
2. Качественная реакция на витамин Д (кальциферол).
3. Качественная реакция на витамин Е (токоферол).
4. Качественная реакция на искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина К (викасол).

Наглядные пособия:

Таблицы

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

V. Наименование лабораторной работы

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1 Качественная реакция на витамин А (ретинол)

Принцип метода: Раствор витамина А образует с серной кислотой эфирное соединение красно-бурого цвета.

Методика выполнения. В сухую пробирку отмеривают 3 капли рыбьего жира в хлороформе и добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты.

Предполагаемые результаты. Появляется красно-фиолетовое окрашивание, переходящее в красно-бурое.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2 Качественная реакция на витамин Д (холекальциферол)

Бромхлороформная проба

Принцип метода: Витамин Д, содержащийся в рыбьем жире, при взаимодействии с раствором брома в хлороформе приобретает зеленовато-голубую окраску.

Методика выполнения. В сухую пробирку вносят 2-3 капли рыбьего жира или 1 каплю концентрата витамина Д и 2-4 капли раствора брома в хлороформе (1:60).

Предполагаемые результаты. В присутствии витамина Д постепенно появляется зеленовато-голубое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3.

Качественная реакция на витамин Е (α-токоферол)

Реакция с хлоридом железа

Принцип метода: Раствор α-токоферола окисляется хлоридом железа в токоферилхинон и раствор окрашивается в красный цвет.

Методика выполнения. В сухую пробирку берут 5 капель

0, 1% раствора спиртового витамина Е (α-токоферол), прибавляют

0, 5 мл 1% раствора хлорида железа, перемешивают.

Предполагаемые результаты: Содержимое пробирки приобретает красный окрас

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4.

Качественная реакция на искусственно синтезированный водорастворимый аналог витамина К (викасол)

Принцип метода: Раствор викасола в щелочной среде при добавлении цистеина окрашивается в желто-оранжевый цвет.

Методика выполнения. В сухую пробирку берут 5 капель раствора викасола, добавляют 5 капель раствора цистеина и 1 каплю 10% раствора едкого натрия

Предполагаемые результаты, появляется желтое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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 поли- ненасыщенные эссенциальные жирные кислоты?

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 студентов

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 - медия»
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. 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

РАЗДЕЛ III «ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН»

ЗАНЯТИЕ №1

Тема: ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ЦЕПЬ ТРАНСПОРТА ЭЛЕКТРОНОВ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ.

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)- оксидоредуктаза 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 (Р/О) 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 *хемотронической 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 (замыкается 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 $\Delta pH = 0,25$ 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

трансмемб ранного 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 Н, через FeS-белок на КоQ, при переходе электронов с КоQH₂ через FeS- белок на цитохром с, и при транспорте электронов от цитохрома а₃ к О₂. 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 (F₀), другая - (F₁) - это фермент Н⁺ - АТФ-синтетаза. Поток протонов через сопрягающее устройство сопровождает разряд мембраны и выделение свободной энергии, обуславливает синтез АТФ из АДФ и Н₃РО₄. При этом происходит либо активирование фосфата, либо конформационные изменения белка.

Эти процессы являются общими для всех органических субстратов, именно они наработывают энергию для процессов жизнедеятельности, нарушение которых приводит к развитию патологических процессов. Поэтому очень важно для студентов знать основы биоэнергетики, процесс биологического окисления и окислительного фосфорилирования.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент 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.

Студент 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 Р/О и возможные его значения.
7. Альтернативные пути переноса электронов.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

Качественная реакция на цитохромоксидазу.

Наглядные пособия:

Таблицы

1. Пути образования ацетил-КоА.
2. Взаимосвязь липидов, углеводов и белков в процессах обмена веществ.
3. Схема дыхательной цепи.
4. Окислительное фосфорилирование.
5. Превращение НАД в НАДН⁺(Н⁺).
6. Превращение ФАД в ФАДН⁺(Н⁺).

Средства 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_2

V. Наименование лабораторной работы

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1. Качественная реакция на цитохромоксидазу

Принцип метода: Цитохромоксидаза - оксидоредуктаза, катализирующая перенос электронов непосредственно на кислород, содержит железопорфириновый комплекс (гем) и ионы меди. Цитохромоксидаза (дыхательный фермент Варбурга) прочно связана с клеточной структурой. При извлечении белков из тканей фермент остается в нерастворившемся осадке. Цитохромоксидаза способна окислять при участии кислорода воздуха некоторые соединения, в частности диметилпарафенилендиамин и а-нафтол (реактив НАДИ). При окислении двух последних соединений образуется цветной продукт - индофеноловый голубой. Мышца, где цитохромоксидаза инактивирована тепловой денатурацией окрашивания не дает.

Методика выполнения. Берут 5 г свежих скелетных мышц, освобождают от жировой ткани, измельчают ножницами и тщательно растирают в ступке в течение 10 минут с четырехкратным объемом дистиллированной воды. Мышечную кашицу фильтруют через двойной слой марли и многократно промывают твердый остаток дистиллированной водой до тех пор, пока промывные воды перестанут быть окрашенными. Почти бесцветную мышечную кашицу отжимают между листами фильтровальной бумаги. Полученная кашица содержит цитохромоксидазу, комплекс цитохромов и некоторые дегидрогеназы. Отмытую мышечную кашицу делят на 2 части. Одну часть оставляют на фильтровальной бумаге, а другую часть (контрольная проба) помещают в пробирку, заливают 1 мл дистиллированной водой, кипятят 1 минуту, затем охлаждают пробирку и осторожно сливают жидкость, а мышечную кашицу стеклянной палочкой переносят на фильтровальную бумагу. Затем на обе порции мышечной кашицы наносят по 2-3 капли реактива НАДИ, представляющего собой смесь диметилпарафенилендиамин и а-нафтол в щелочной среде.

Предполагаемые результаты: Спустя несколько минут после добавления реактива НАДИ, непрокипяченная мышца постепенно окрашивается в синий цвет в результате образования индофенолового голубого продукта окисления и конденсации а-нафтола и NN - диметилпарафенилендиамин

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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 глутатионпероксидазы?
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 CO_2 и H_2O - 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_2 в легких. |
| 4. Образование кетонных 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_2 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 С/О ₂ - оксидоредуктаза). |
| III | - комплекс | В. НАДН/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 O₂.
2. Образование эндогенной H₂O.
3. Перекачивание H⁺ в межмембранное пространство.
4. Образование электрохимического трансмембранного потенциала.
5. Все верно.

11 вопрос: Укажите компоненты А ц H⁺

1. Разность электрического потенциала (А ц H⁺) между матриксом митохондрий и межмембранным пространством - электрический компонент.
2. Величины окислительно-восстановительных потенциалов комплексов ферментов ЦТЭ.
3. Величина pH в матриксе митохондрий.
4. Разность концентрация H⁺ (Д pH) между матриксом митохондрий и межмембранным пространством - химический компонент.
5. Верно I и 4.

12 вопрос: Укажите комплексы ЦТЭ, образующие А ц H⁺: 1-I; 2-II; 3-III; 4-IV; 5-1,3,4.

13 вопрос: Трансформация А ц H⁺ в АТФ происходит:

1. I комплексе ЦТЭ.
1. II комплексе ЦТЭ.
2. III комплексе ЦТЭ.
3. IV комплексе ЦТЭ.
4. H-АТФ -синтазе.

14: 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.

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

1. Дозированный транспорт Н⁺ из межмембранного пространства через F₀ в F₁.
2. Образование на F₁ Р : за счет связывания 2Н⁺ с НРO₄²⁻ и отнятия Н₂O.
3. Фосфорилирование АДФ с помощью Р_i в АТФ на F
4. Транспорт АТФ из матрикса в межмембранное пространство.
5. Гидролиз АТФ в матриксе митохондрий, ведущий к повышению энергозаряженности (А ц Н⁺) мембраны.

16 вопрос: Коэффициент фосфорилирования отражает:

1. Количество перекаченных Н⁺.
2. Количество поглощенного O₂.
3. Количество синтезированного АТФ.
4. Отношение количества использованного Н₃РO₄ (на фосфорилирование АДФ в АТФ) к количеству поглощенного кислорода (O₂).
5. Все верно.

17 вопрос: Составьте пары между величинами Р/О 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 фосфори-

комплексы ферментов действуют ингибиторы ЦТЭ и лирования:

- | | |
|------------------------------|-------------------------|
| 1. СО, CN | А - 1-комплекс; |
| 2. Антимисин А. | Б - П-комплекс В |
| 3. Мало новая кислота. | - Ш-комплекс; Г |
| 4. Барбитураты, прогестерон. | -1V-комплекс; Д- |
| 5. Олигомицин. | Н ⁺ АТФ-аза. |

19 вопрос: Выработка

АТФ окислительным фосфорилированием снижается:

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

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

названиями веществ и типами разобщителей:

- | | |
|-----------------|--------------------------------------|
| А. Протонофоры; | Матриксная окислительная спиртовая — |
| Б. Ионифор; | А П-Г/ЛТ/ЛТЛЛ/МЛТ Т- |
| В. Детергенты. | спирт. |
| | 2. Свобольные жирные кислоты. |
| | 3. Валиномицин, грамицидин. |

22 вопрос: Указать причину

пирогенного эффекта при действии разобщителей.

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

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):

- | | |
|---|--|
| 1. НАДН+Н ⁺ + * $\frac{1}{2}$ O ₂ | НАД ⁺ + H ₂ O. |
| 2. НАДНН + O, | НАД ⁺ + H ₂ O ₂ |
| 3. SH ₂ + ФАД +. O ₂ | ФАДН ₂ + O ₂ $\longrightarrow$ H ₂ O ₂ . |
| 4. SH + НАДФН+Н ⁺ + O, | S OH + H ₂ O + НАДФ ⁺ . 2 O, + |
| 5. НАДФН+Н ⁺ + 2 O, | 2H ⁺ + НАДФ ⁺ . |

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. H₂O₂;
 3. Глутатионпероксидаза. Б. O₂;
 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. |
| Fe ²⁺ . | |
| Se ²⁺ . | |
| Вит А. | |
| Вит. Е. | |
| Стероидные гормоны. | |
| Альбумины. | |

Ответы:

- 1 вопрос: I.
- 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 Р/О ?

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 Р/ О

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. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

ЗАНЯТИЕ №2

ТЕМА: ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ. ЕГО РОЛЬ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ. АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА. АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА

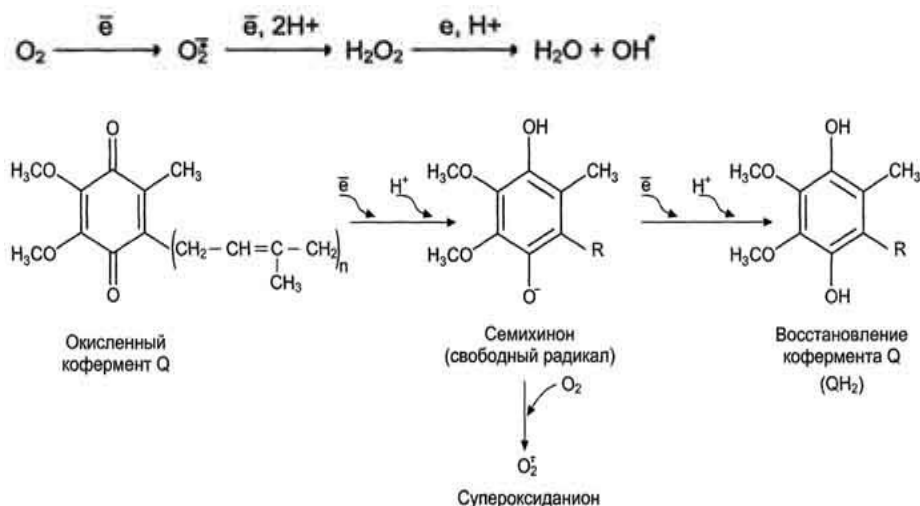
I. Научно-методическое обоснование темы:

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:

- $\text{OH}^\bullet$ - гидроксильный радикал;
- $\text{O}_2^\bullet$ - 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:



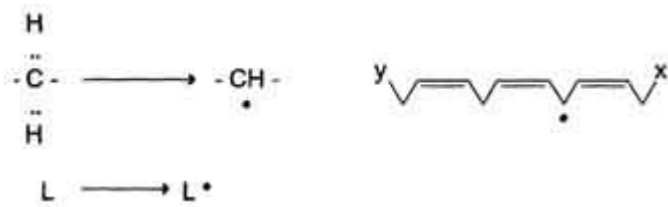
Активные формы кислорода образуются также при микросомальном окислении, фагоцитозе, катаболизме некоторых метаболитов. Активные формы кислорода при взаимодействии с большинством органических молекул отнимают от них электрон, инициируют таким образом цепные реакции окисления.

Перекисное окисление липидов

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

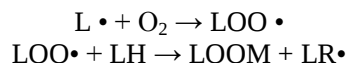
Стадии перекисного окисления липидов

1) Инициация: образование свободного радикала ($\text{L}^\bullet$)



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

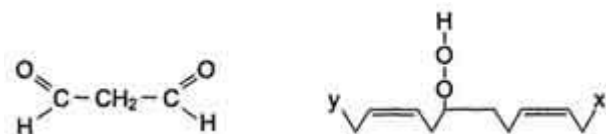
2) Развитие цепи:



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

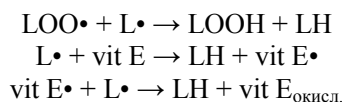
ПОЛ представляет собой свободнорадикальные цепные реакции, т.е. каждый образовавшийся радикал иницирует образование нескольких других.

3) Разрушение структуры липидов



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

4) Обрыв цепи - взаимодействие радикалов между собой:



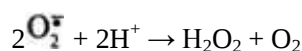
Развитие цепи может останавливаться при взаимодействии свободных радикалов между собой или при взаимодействии с различными антиоксидантами, например, витамином Е, который отдаёт электроны, превращаясь при этом в стабильную окисленную форму.

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

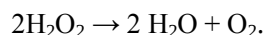
К ферментам, защищающим клетки от действия активных форм кислорода, относят супероксиддисмутазу, каталазу и глутатионпероксидазу. Наиболее активны эти ферменты в печени, надпочечниках и почках, где содержание митохондрий, цитохрома P_{450} и пероксисом особенно велико. Супероксиддисмутаза (СОД) превращает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

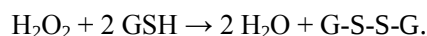
СОД - индуцируемый фермент, т.е. синтез его увеличивается, если в клетках активируется перекисное окисление.

Пероксид водорода, который может инициировать 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 студентов на занятии

Студент должен знать:

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

Студент 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 обучения.

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 перекрестного окисления липидов

6. Системы защиты клеток от активных форм кислорода (ферментативные и неферментативные звенья антиоксидантной защиты).

Лабораторная работа №1

Количественное определение каталазы методом Баха и Зубковой

Принцип метода: в основе количественного определения каталазы лежит определение количества перекиси водорода, разложенной ферментом за определенный промежуток времени.

Активность каталазы выражают с помощью каталазного числа, которым называют количество миллиграммов H_2O_2 , которое образуется из 1 мкл крови.

А – количество 0,1 н раствора $KMnO_4$, израсходованное на титрование контрольной пробы в мл;

В – количество 0,1 н раствора $KMnO_4$, израсходованное на титрование опытной пробы в мл;

1,7 – это количество в мг H_2O_2 , содержащееся в одном мл 0,1 н раствора

Ход работы: разведенную кровь (1: 1000) взбалтывают, наливают по 1 мл в две колбы, приливают по 7 мл дистиллированной воды; в опытную пробу добавляют 2 мл 1% H_2O_2 , а в контрольную – 5 мл 10% раствора H_2SO_4 . Действие каталазы в кислой среде (контрольная проба) прекращается, так как она действует при pH 7,4. Колбы оставляют при комнатной температуре на 30 мин. Затем приливают в опытную колбу 5 мл 10% раствора H_2SO_4 , а в контрольную – 2 мл 1% раствора H_2O_2 . Содержимое каждой колбы титруют 0,1 н раствором $KMnO_4$ до розовой окраски. Рассчитывают каталазное число (КЧ) по формуле :

$KЧ = (A - B) \times 1,7$. Умножая 1,7 на разность (А-В), получают количество мг H_2O_2 , которое разлагается 1 мкл исследуемой крови – каталазное число колеблется от 10 до 15 единиц.

IV. 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

V. Вопросы для самостоятельного 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. 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
13. Николаев А. Я. Биологическая химия

ЗАНЯТИЕ №3

Тема: ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА - ЦИКЛ КРЕБСА. ВЫЯВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ.

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 желу- дочно-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: а-кетоглутарата, окса- лоацетата, фумарата, сукцинила 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, переносимые 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 ФАДН₂.

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, а-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 пири- мидинов, а из а-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,

а-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 студенту необходимо знать и понимать всю важность данного процесса, его химизм и регуляцию.

II. Цель деятельности студентов на занятии.

Студент 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.

Студент 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 лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

Лабораторные работы:

Определение активности сукцинатдегидрогеназы и изучение конкурентного ингибирования.

Наглядные пособия:

Таблицы

Цикл трикарбоновых кислот.

V. Наименование лабораторной работы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Определение активности сукцинатдегидрогеназы и изучение конкурентного ингибирования

Принцип метода: Сукцинатдегидрогеназа в качестве кофермента содержит ФАД - флавинадениндинуклеотид. Активность фермента зависит от наличия в нем сульфгидрильных групп (SH) и атомов железа. Действие фермента может происходить и в анаэробных условиях, если к янтарной кислоте добавить 2,6 -дихлор- фенолиндофенол или метиленовый синий, являющийся акцептором водорода и превращающийся в восстановленную бесцветную форму, что и является показателем активности фермента. Конкурентное торможение сукцинатдегидрогеназной активности вызывает малоновая кислота, являющаяся структурным аналогом янтарной кислоты.

Методика выполнения. Мышечную ткань (свежую) около 1 г измельчают ножницами и растирают в ступке с небольшим количеством воды (2-3 мл) в течение 1 минуты. Затем мышечную кашку переносят на двойной слой марли, помещенной на воронку, промывают водой, помещают на фильтровальную бумагу и высушивают. В 3 пробирки наливают по 3 мл фосфатного буфера (рН 7,4) и помещают в них по 0,1 г мышечной кашицы. Затем в опытную пробирку добавляют 5 капель 3% раствора янтарной кислоты (для нейтрализации) и 5 капель 0,1 н раствора NaOH, а в контрольную пробирку приливают 10 капель дистиллированной воды, в третью пробирку добавляют 5 капель 3% раствора малоновой кислоты, 5 капель 3% раствора янтарной кислоты и

4 капель 0,1 н раствора NaOH. Во все пробирки добавляют по 1 мл 0,001 н раствора 2,6 - дихлорфенолиндофенола и содержимое пробирок перемешивают, пробы помещают в термостат при 37 °С на 40 минут.

Предполагаемые результаты: В опытной пробирке, жидкость почти бесцветная, сравнивают ее с контролем и с пробиркой, где находится конкурентный ингибитор сукцинатдегидрогеназы - малоновая кислота. Время обесцвечивания 2,6 - дихлор- фенолиндофенола в присутствии янтарной кислоты характеризует активность сукцинатдегидрогеназы.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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 а-оксoglutarовой 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.

II. 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 |
| 2. Распад глюкозы до пирувата. | катаболизма. |
| 3. Распад глицерола до пирувата. | Б. Общий путь катабо- |
| 4. Распад СЖК до ацетил-КоА. | лизма. |
| 5. Распад АМК до ацетил-КоА. | В. _____ Ни _____ то, _____ ни _____ друго |
6. Превращение пирувата в ацетил-КоА.
7. Распад ацетил-КоА до CO_2 и H_2O .
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 |
| 3.2-оксоглутарат | 8 |

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 CO_2 :

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⁺Н⁺ и ФАДН₂.
3. Образование 2СO₂.
4. Образование кетоновых тел.
5. Образование I макроэргического фосфата субстратным фосфорилированием.

10 вопрос: 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 |

11 вопрос: Сколько АТФ может

синтезироваться в реакциях ЦТК?

- | | |
|----------------------------------|-----------|
| 1. Оксалоацетат - цитрат | А - 3 АТФ |
| 2. Цитрат - изо цитрат | 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. Фу марат - 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-З, 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 студентов

- | | | | | |
|------------------------------|-----|---|----------|----------|
| 1. Анаболическая функция ЦТК | | | | |
| 2. Изменение | ЦТК | в | условиях | гипоксии |

Х. 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

РАЗДЕЛ IV. «ОБМЕН УГЛЕВОДОВ»

ЗАНЯТИЕ № 1

Тема: СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ УГЛЕВОДОВ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ. НАРУШЕНИЯ ДАННОГО ПРОЦЕССА. ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ.

I. Научно-методическое обоснование темы:

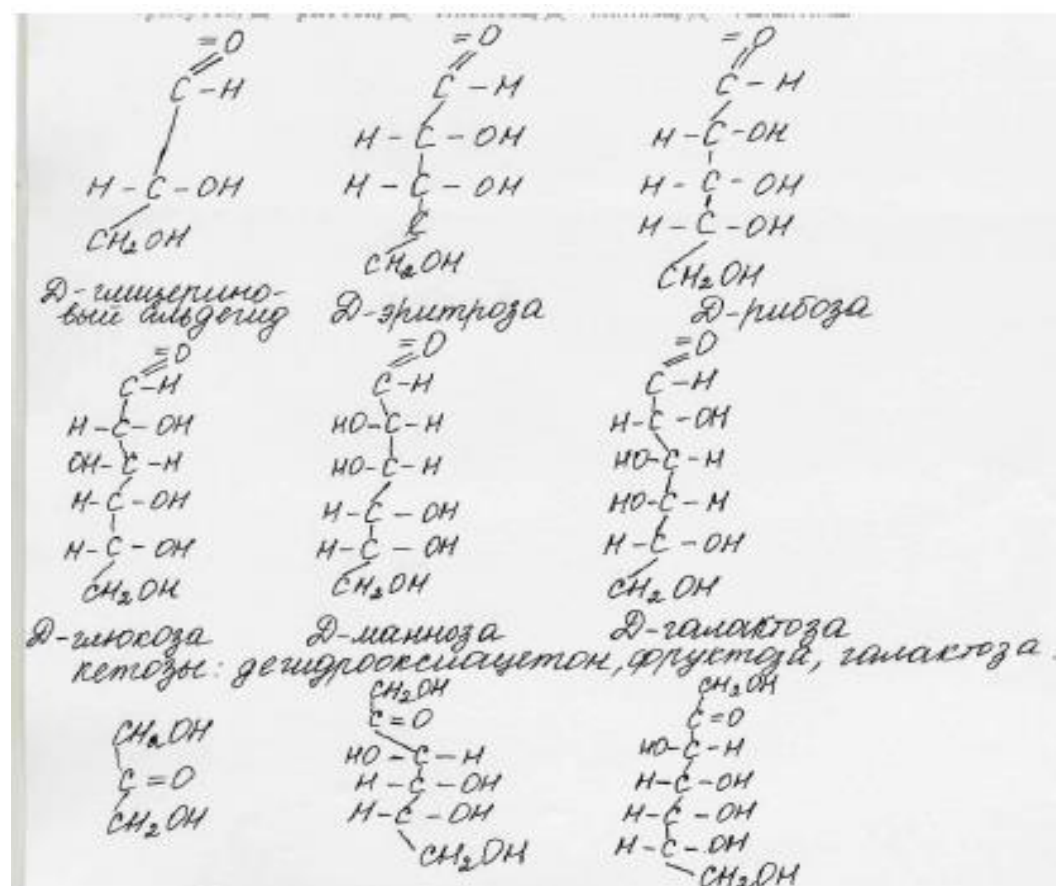
Углеводы являются полиоксиальдегидами (альдозы) или полиоксикетонами (кетозы) и их производными. Большинство углеводов имеют эмпирическую формулу $(CH_2O)_n$, но не все они удовлетворяют этому соотношению. В организме человека и высших животных углеводы выполняют прежде всего энергетическую и пластическую 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 (C₃)
 тетрозы (C₄)
 пентозы (C₅)
 гексозы (C₆)
 гептозы (C₇)

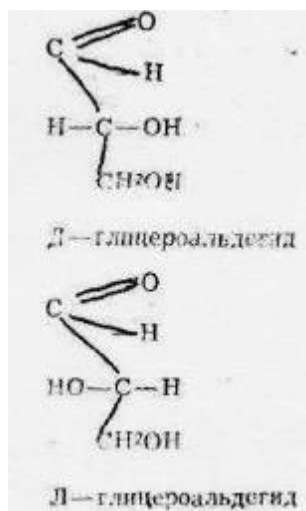
Моносахариды - это простейшие углеводы, в названии которых имеется окончание -оза.

Наиболее распространены альдозы: D-глицериновый альдегид, D-эритроза, D-рибоза, D-глюкоза, D-манноза, D-галактоза.



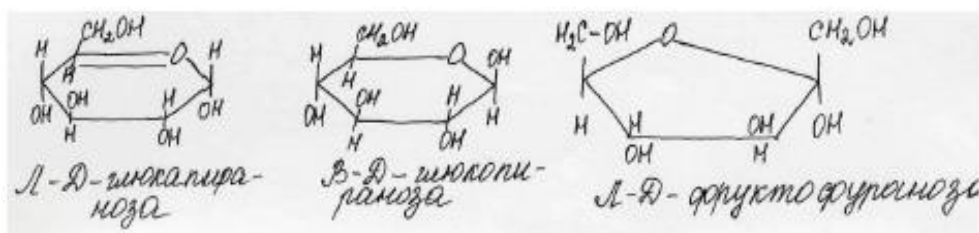
Изомерия моносахаридов обусловлена: наличием альдегидной и кетонной группы (альдозы и кетозы), присутствием центра (возникновением оптически активных стереоизомеров (D и L формы), образованием циклических структур, появлением аномерного хирального атома углерода в процессе циклизации (α и β-аномеры), 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 α- и β-глюкопираноз, а фруктоза больше в виде фуранозного цикла.



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

Более распространенные олигосахариды - дисахариды, состоящие из двух моносахаридов, соединенных гликозидной связью. Мальтоза (молочный сахар) - состоит из двух остатков α-D-глюкопираноз, соединенных α-1,4-гликозидной связью, лактоза (молочный сахар) состоит из 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 свекловичный сахар) не имеет свободного полуацетального гидроксильного атома, состоит из остатков α-D-глюкопиранозы β-D-фруктофуранозы, не обладает редуцирующими свойствами. К простым углеводам относятся полисахариды, которые делятся на гомополисахариды (состоят из одинаковых остатков моносахаридов) и нейтральные гетерополисахариды (состоящие из мономерных единиц разного типа). Наиболее распространенные гомополисахариды - крахмал (резервный полисахарид растений), 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).

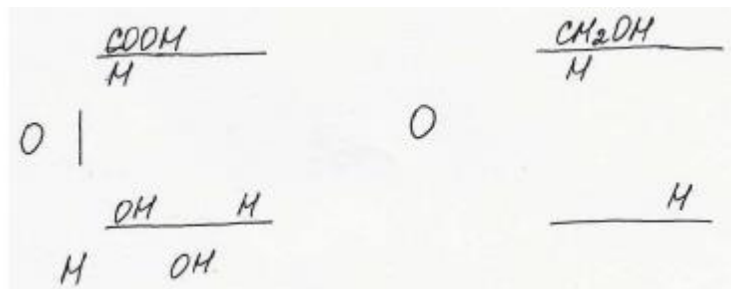
Гликоген (резервный полисахарид человека и высших животных) подобен по своей структуре амилопектину, но более разветвлен и содержится в печени и мышцах).

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

глицанбелковые комплексы - делятся на протеоглики-ны (до 95% их массы приходится на долю углеводного компонента), мукопротеины, в которых доля углеводной массы составляет несколько %. В протеогликах углеводный компонент является полисахаридом (или гликозамингликаном) содержащие уоновые кислоты, часто и серную кислоту, представляют собой длинные линейные цепи, состоящие из повторяющихся дисахаридными фрагментами. Связь с белковой молекулой как ковалентная,

и электростатическая. В состав кислых гликозаминогликанов могут входить гексозамины, уроиновые 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 (3 (1-3)). *Гепарин* состоит из глюкурона-сульфата, ацетилглюкозасульфата, 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 (3 (1-3)). *Гепарин* состоит из глюкурона-сульфата, ацетилглюкозасульфата, 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.

I. Цель деятельности студентов на занятии.

Студент должен знать:

1. Классификацию углеводов.
2. Строение моносахаридов, их свойства.
3. Производные моносахаридов - аминосахара.
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.

Студент 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 лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО.

Лабораторные работы.

Восстанавливающие свойства дисахаридов.

Гидролиз сахарозы.

Цветные реакции на крахмал и гликоген.

Действие амилазы поджелудочной железы на крахмал

Наглядные пособия:

Таблицы

V. Наименование лабораторной работы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Реакция Троммера

Принцип метода: Восстанавливающие свойства моносахаридов. Все моносахариды обладают способностью восстанавливать в щелочной среде ионы меди, висмута, серебра и др. Реакция эта обусловлена наличием в молекуле моносахаридов альдегидной группы, которая чрезвычайно легко окисляется, превращаясь в карбоксильную группу, вызывая, тем самым, восстановление металлов.

Порядок выполнения работы: В микрохимической пробирке смешивают по 2 капли исследуемой жидкости и раствора едкого натра. Прибавляют возможно малую каплю раствора сульфата меди и нагревают пробирку.

Предполагаемые результаты: Появляется желтое окрашивание. При дальнейшем нагревании возникает оранжевое, а затем красное окрашивание жидкости (образование закиси меди).

Выполняется обсуждение результатов и делается выводы.

Реакция Фелинга.

Порядок выполнения работы. Жидкость Фелинга содержит сульфат меди, едкий натр и сегнетову соль. В микрохимическую пробирку вводят 3 капли исследуемой жидкости. Добавляют каплю реактива Фелинга и нагревают.

Предполагаемые результаты: Появится желтое или оранжевое окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3.

Восстанавливающие свойства дисахаридов

Принцип работы: Дисахариды, имеющие свободный глико- зидный гидроксил (мальтоза, лактоза), дают реакции восстанов- ления металлов. Дисахарид сахароза, не имеющий свободного гликозидного гидроксила, не дает этих реакций.

Порядок выполнения работы. Берут 3 микрохимические пробирки, в первую из них наливают 3 капли раствора мальтозы, во вторую - столько же раствора лактозы, а в третью - сахарозы. С содержимым каждой пробирки проделывают реакцию Тромме- ра. Для этого добавляют в каждую пробирку по 1 капле раствора сульфата меди и по 2 капли раствора едкого натра.

Предполагаемые результаты: В первой и второй пробирках, где находились дисахариды мальтоза и лактоза, произойдет восста- новление меди (появится желтое или красное окрашивание). В тре- тьей пробирке, где налит раствор сахарозы, восстановления нет.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

Гидролиз сахарозы.

В микрохимическую пробирку вносят 3-4 капли раствора са- харозы и 2 капли серной кислоты, нагревают пробирку до кипе- ния. После 1 -2 минут нагревания пробирку охлаждают, добавляют 6 капли раствора едкого натра и 1 каплю раствора сульфата меди. Нагревают жидкость до кипения.

Освободившиеся при гидролизе моносахариды восстанавливают медь, давая желтое или красное окрашивание.

Предполагаемые результаты: Отмечается желтое или крас- ное окрашивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3.

Цветные реакции на крахмал и гликоген

Принцип работы: В качестве реактива на крахмал и глико- ген используется раствор Люголя. Он представляет собой рас- твор йода и йодистого калия в воде (напомним, что йод образует с йодистым калием легко растворимый в воде комплекс). Крахмал окрашивается раствором Люголя в синий цвет, а гликоген в крас- но-бурый.

Порядок выполнения работы. Вводят в микрохимическую пробирку 3 капли раствора крахмала, прибавляют каплю раство- ра Люголя, отмечают красно-бурое окрашивание. Сопоставляют это окрашивание с окраской, возникающей при смешивании в пробирке трех капель воды с каплей раствора Люголя.

Предполагаемые результаты: Появится красно-бурое окра- шивание.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4

Действие амилазы поджелудочной железы на крахмал

Принцип метода: метод основан на определении промежу- точных продуктов расщепления крахмала - декстринов, которые по разному окрашиваются реактивом Люголя и конечного про- дукта - глюкозы по ее способности восстанавливать реактив Фелинга.

Порядок выполнения работы: В две микрохимические про- бирки вносят по 10 капель вытяжки из поджелудочной железы. Содержимое одной пробирки кипятят над спиртовкой, охлажда- ют. Затем в обе пробирки вносят по 5 капель раствора крахма- ла и по капле раствора хлористого натрия (активатор амилазы). Пробирки помещают в водяную баню при 37°C. Через каждые 5 минут гидролизат отбирают в отдельные пробирки и реактивом Люголя проверяют появление декстринов по характерному окра- шиванию. С остатком гидролизата ставят реакцию Фелинга.

Продукты расщепле- ния крахмала	Результат	
	Окрашивание реактивом Люголя	Реакция Фелинга

Амилодекстрины	Синее	Осадок + CH_2O красного цвета
Эритродекстрины	Красное	
Ахродекстрины	Не окрашиваются	
Мальтодекстрины	Не окрашиваются	
Глюкоза	окрашиваются	

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 амилазных ферментов и их специфичность.
8. Механизм транспорта органических веществ через полу-проницаемые 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.

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.

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. Можаяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

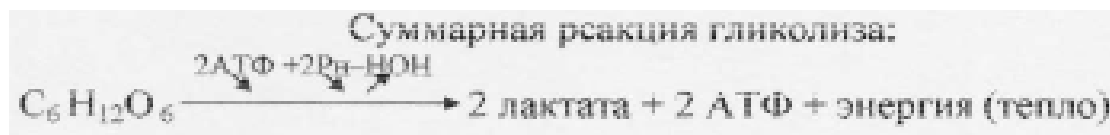
1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология,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

ЗАНЯТИЕ №2

Тема: КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ, ГЛИКОЛИЗ, ГЛИКОГЕНОЛИЗ

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.

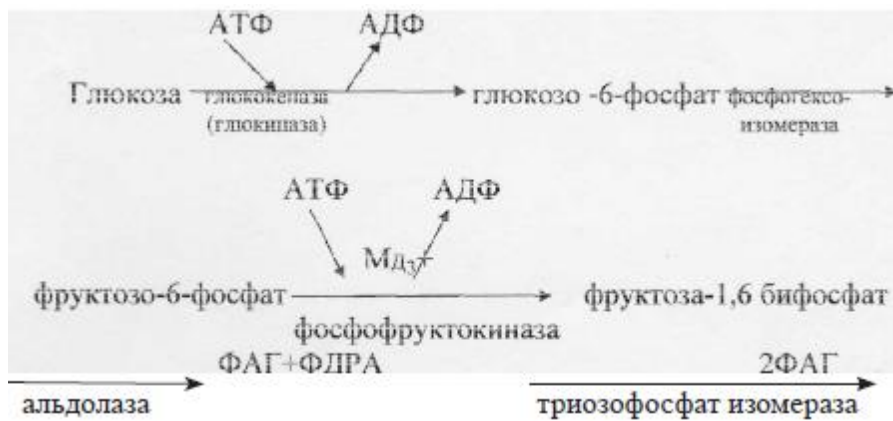


Реакции гликолиза протекают в две стадии:

1. Подготовительная.
2. Окислительная.

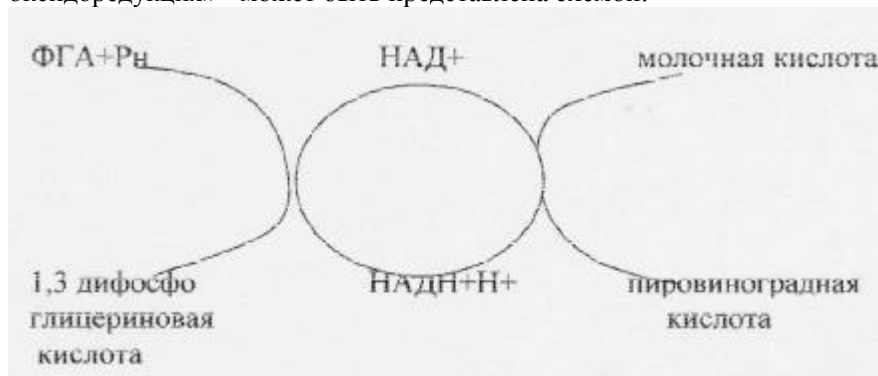
Подготовительная стадия включает в себя:

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:



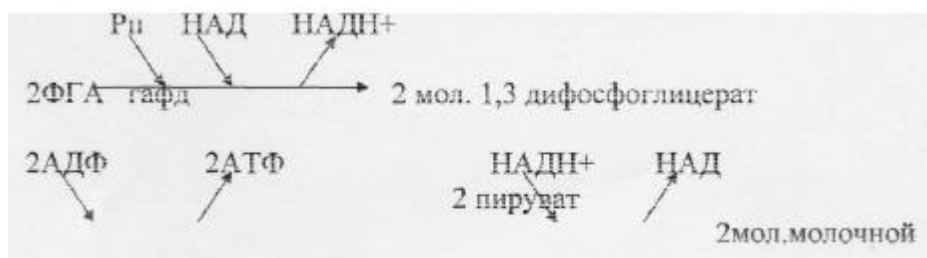
Окислительная стадия гликолиза начинается с НАД-зависимой глицеральдегидфосфат-дегидрогеназной реакции, в которой ФГА окисляется до 1,3-дифосфоглицериновой кислоты с одновременным образованием НАДН+(Н+), восстанавливающим в лактатдегидрогеназной реакции пируват в лактат.

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



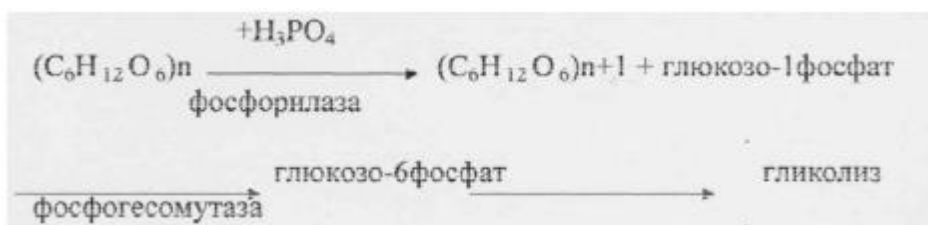
Окисление ФГА сопровождается фосфорилированием, пере-распределением энергии и образованием макроэргической связи с последующим синтезом 2 АТФ путем первого субстратного фосфорилирования. Внутримолекулярное окисление фосфоглицерата (енозная реакция), ведет к возникновению макроэргической связи и второму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

Восстановление пирувата в лактат - конечный продукт гликолиза.



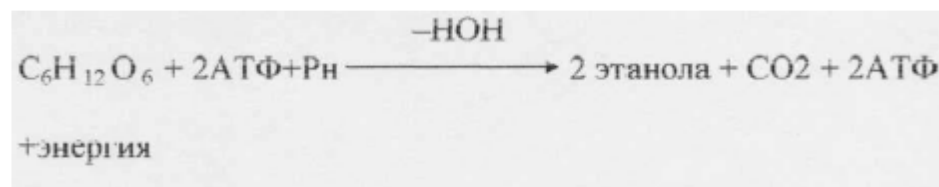
Лактат из мышечной клетки диффундирует в кровь, из которой его поглощают сердечная мышца и печень. Сердечная мышца окисляет лактат в пируват и расщепляет дальше через ЦТК, извлекая энергию для сократительной функции. Печень может не только подвергать молочную кислоту окислительному распаду, но и превращать 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 обескровливаемых 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 глюкозы, 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 студентов на занятии.

Студент должен знать:

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

Студент должен уметь:

1. Открывать конечные продукты гликолиза.
2. Интерпретировать соответствующие результаты и выводы.

III. Содержание обучения.

Основные вопросы:

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

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Качественная реакция на молочную кислоту (реакция Уф-фельмана).

V. Наименование лабораторной работы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Качественная реакция на молочную кислоту (реакция Уффельмана)

Принцип метода: Молочная кислота в присутствии фенолята железа (реактив Уффельмана), окрашенного в фиолетовый цвет, образует лактат желто-зеленого цвета.

Порядок выполнения работы: Мышцы измельчают ножницами и растирают их в ступке с небольшим количеством кварцевого песка в течение 3 минут, прибавив 5 капель воды до получения однородной массы. Затем приливают 3 мл воды, перемешивают и фильтруют через смоченную водой вату. 15 капель фильтрата добавляют по каплям к реактиву Уффельмана.

Предполагаемые результаты: В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска жидкости переходит в желто-зеленую, т.к. образуется лактат.

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Экзэргонические и эндэргонические реакции.
2. 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 оксидоредукция.
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 онтогенезе.
3. Динамика изменения содержания лактата крови раннего постнатального периода.

VIII. Хронокарта учебного занятия

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

IX. Самостоятельная работа студента:

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. 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
13. Николаев А. Я. Биологическая химия

ЗАНЯТИЕ №3

Тема: АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ

I. Научно-методическое обоснование темы:

Окисление глюкозы в аэробных условиях является основным для энергообразования в организме и протекает прямым дихо-томическим (дихотомия - расщепление глюкозы на 2 триозы) путем, который начинает функционировать с 3-4 месяца постна- тального 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 $\text{НАДН}^+(\text{H}^+)$ поступает в митохондрию (а не вос-станавливает 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 пирувата в ацетил CoA, катализируемого в митохондриях мультиферментным пируватдегидрогеназным комплексом, аналогичным - а-кетоглутаратдегидрогеназному комплексу в ЦЛК.

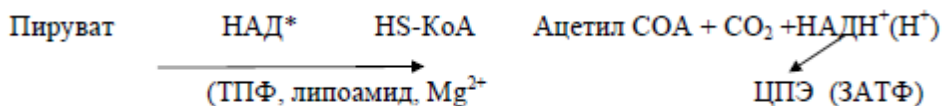
Внутри митохондрий, куда пируват транспортируется из цитоплазмы специальным переносчиком по механизму симпорта с протоном, происходит его окислительное декарбоксилирование, катализируемое тремя ферментами:

Пируватдекарбоксилирующей дегидрогеназой

Дигидролипоилтрансацилазой

Дигидролипоилдегидрогеназой

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



3 - этап - цитратный цикл, в котором молекула ацетил CoA окисляется до двух молекул CO_2 , а освободившийся водород, источниками которого являются субстраты ЦЛК (изоцитрат, α-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 $^+(\text{H}^+)$, отдающий H^+ в митохондриях, либо через малатаспартатный челночный механизм, что генерирует 6 АТФ, либо глицерофосфатный и тогда образуется только 4 АТФ.

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 $^+(\text{H}^+)$, окисление которых в ЦПЭ служит источником энергии для 6 АТФ.

3 этап - Окисление ацетил CoA в ЦЛК образует 2 АТФ субстратным фосфорилированием и восстановленные коферменты (6 НАДН $^+(\text{H}^+)$, и 2 ФАДН $_2$) для синтеза еще 22 АТФ в ЦПЭ. Следовательно, при полном аэробном окислении глюкозы до CO_2 и H_2O образуется

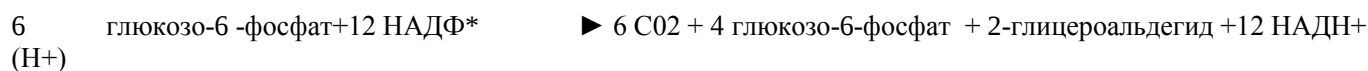
$8+6+24=38\text{ АТФ}$

$6+6+24=36\text{ АТФ}$

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 CO_2 и пентозо-фосфатов. Особенностью пентозо-фосфатного 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 гидролизруется до 6-фосфоглюконовой кислоты.

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

Возможные пути использования продуктов окислительной части:

НАДН $^+(\text{H}^+)$ 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-оксoglутарата.

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

Как источник H^+ для стероидогенеза.

Рибозо-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 $^+(\text{H}^+)$ и рибозо-5-фосфат, то весь процесс заканчивается окислительной фазой. Когда используется НАДН $^+(\text{H}^+)$, а рибозо-5-фосфат нет, включается неокислительная фаза, в которой важнейшую роль играют ферменты - ТПФ-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 CO_2 и H_2O с одновременным генерированием энергии. НАДФН $^{+}$ (Н $^{+}$) используется для синтеза холестерина и жирных кислот.

II. Цель деятельности студентов на занятии:

Студент должен знать:

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

Студент 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 декорбоксилирование пировиноградной кислоты.
4. Судьба ацетил CoA и энергетика аэробного окисления глюкозы.
5. Локализация и последовательность реакций пентозофосфатного пути окисления глюкозы.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Количественное определение пировиноградной кислоты в моче.

V. Наименование лабораторной работы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Количественное определение пировиноградной кислоты в моче

Принцип метода: Пировиноградная кислота (ПВК) взаимодействует с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде, образует 2,4-динитрофенилгидразоны ПВК желто-оранжевого цвета, интенсивность окрашивания которых пропорциональна концентрации ПВК.

Порядок выполнения работы: Контрольная и опытные пробы ставятся одновременно. Берут 2 пробирки, в две контрольные наливают по 1 мл воды, в опытную - 1 мл мочи. Затем во все пробирки приливают по 1 мл 2,5% спиртового раствора КОН, перемешивают все пробирки одновременно 1 минуту, приливают по 0,5 мл 0,1% раствора 2,4-динитрофенилгидразина, перемешивают и оставляют стоять на 15 минут при комнатной температуре. Фотометрируют на ФЭК против контроля в кюветах на 5 мм с синим светофильтром. Расчет проводят по готовому калибровочному графику, найденную величину умножают на суточный диурез и получают ПВК в суточной моче.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

VI. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний:

1. Метаболически активная форма витамина В₆ и ее участие в аэробном окислении глюкозы.
2. Роль дегидрогеназ в окислении субстратов.
3. Реакция взаимопревращения пентоз.
4. Механизмы окисления цитоплазматического кофермента НАДН $^{+}$ (Н $^{+}$)

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 декорбоксилирование ПВК, характеристика ферментов и коферментов мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса.
5. Энергетический выход аэробного дихотомического пути окисления глюкозы.
6. Аэробный распад глюкозы, его локализация, тканевая специфичность, последовательность реакций окислительной и неокислительной фаз.
7. Значение аэробного 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.

VIII. Хронокарта учебного занятия

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

IX. Самостоятельная работа студента:

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.Тасоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

Дополнительная:

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

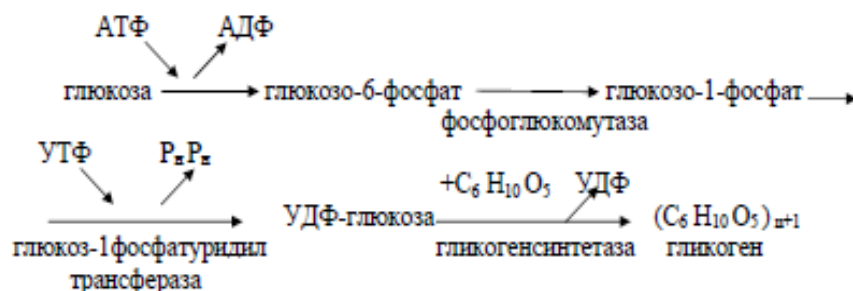
ЗАНЯТИЕ №4

Тема: РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ САХАРА В КРОВИ

I. Научно-методическое обоснование темы:

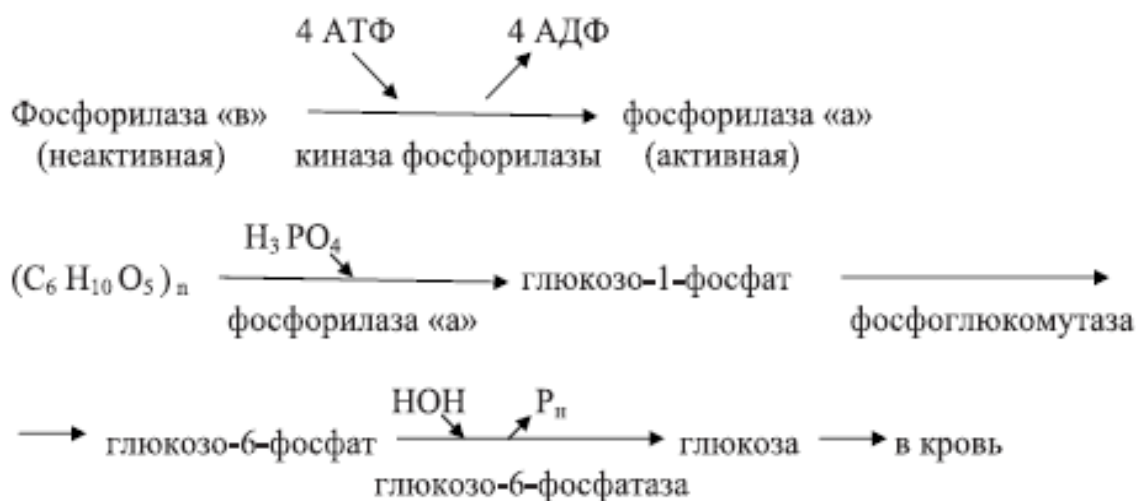
Интегральным показателем баланса обмена углеводов в ор-ганизме человека и животных является концентрация глюкозы в крови. Этот показатель стабилен и составляет 4,2-5,3 ммоль/л. Концентрация же сахара (глюкоза и другие редуцирующие ве-щества несколько больше - 4,4-6,7 ммоль/л или 80-120 мг/100 мл. Поддержание уровня глюкозы в пределах нормы важно потому, что клетки ЦНС, мозгового слоя надпочечников и крови исполь-зуют 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 ко-торой происходят процессы мобилизации гликогена и глюконе- огенеза.

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 глюкокиназы). Определенную роль в стимуляции катаболизма глюкозы инсулином пентозофосфатным путем окисления играет активация глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной 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 глицерол-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 НАДФН⁺(Н⁺), необходимого для редуказных реакций. 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). Пониженные 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 студентов на занятии:

Студент 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.

Студент 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.

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

Лабораторные работы:

Определение сахара крови глюкозооксидазным методом.

V. Наименование лабораторной работы.

Лабораторная работа №1

Определение сахара крови глюкозооксидазным методом.

Принцип метода: глюкозооксидаза окисляет D-глюкозу до глюкуроновой кислоты с образованием перекиси водорода; последняя под действием пероксидазы реагирует с 4 – аминоантипирином и феолом с образованием соединения красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации глюкозы в анализируемом образце и измеряется фотометрически при длине волны 510 (470-540) нм.

Порядок выполнения работы: компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице:

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка крови	0,01	-	-
Калибровочный раствор глюкозы	-	0,01	-
Вода дистиллированная	-	-	0,01
Рабочий раствор	1,00	1,00	1,00

Содержимое пробирок тщательно перемещать и инкубировать в течение 15 мин при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ или в течение 30 мин при комнатной температуре. Через 5-10 мин после начала инкубации пробирки интенсивно встряхнуть. После окончания инкубации измерить величину оптической плотности калибровочной и опытных проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 510 (470-540) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм. Окраска устойчива в течение одного часа после окончания инкубации. Концентрацию глюкозы можно рассчитать по формуле:

$$C = E_0/E_K \times 10,$$

где C – концентрация глюкозы в опытной пробе, ммоль/л

E_0 – оптическая плотность опытной пробы, ед.опт. плотн.

E_K – оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт. плотн.

10 – концентрация глюкозы в калибровочном растворе, ммоль/л

Нормальное содержание глюкозы в сыворотке крови человека, определяемое данным методом, колеблется в пределах 3,9-6,1 ммоль/л.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

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 гликогенсинтетазы 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.

VIII. Хронокарта учебного занятия

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

IX. Самостоятельная работа студента:

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. 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