

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

Кафедра «Биологической химии»

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ

**по дисциплине «Биологическая химия»
для студентов фармацевтического факультета
курс 3 семестр V**

г. Владикавказ, 2017

Календарно-тематический план лекций

Курс 3 семестр V

№	Наименование темы
1.	Обмен белков и аминокислот. Ферментативный гидролиз белков в ЖКТ. Катаболизм аминокислот (дезаминирование, декарбоксилирование, трансметилование). Тетрагидрофолиевая кислота, синтез и использование одноуглеродных групп.
2.	Пути накопления и обезвреживания аммиака в организме человека. Специфические пути катаболизма аминокислот
3.	Обмен нуклеотидов. Синтез и катаболизм пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Использование ингибиторов синтеза как лекарственных препаратов
4.	Регуляция обмена веществ. Гормоны. Классификация. Белково-пептидные гормоны. Регуляция обмена воды и минеральных солей. Патогенез сахарного диабета.
5.	Регуляция обмена веществ. Гормоны. Стероидные гормоны. Простагландины, их биологическая роль. Применение гормонов и их синтетических аналогов в медицине.
6.	Биохимия крови. Основные функции крови. Свертывающая и противосвертывающая системы крови.
7.	Биохимия печени. Роль печени в обмене веществ. Катаболизм гема, образование желчных пигментов. Нарушение обмена билирубина.
8.	Биохимия межклеточного матрикса и соединительной ткани.
9.	Фармацевтическая биохимия. Биотрансформация лекарственных веществ в организме. Механизмы обезвреживания ксенобиотиков.

Календарно-тематический план лабораторного практикума

Курс 3 семестр V

№	Наименование темы
1.	Обмен белков и аминокислот. Ферментативный гидролиз белков в ЖКТ. Катаболизм аминокислот (дезаминирование, декарбоксилирование, трансметилование). Тетрагидрофолиевая кислота, синтез и использование одноуглеродных групп.
2.	Обмен фенилаланина и тирозина в разных тканях. Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Заменимые аминокислоты. Аминокислоты и их производные как лекарственные вещества.
3.	Пути накопления и обезвреживания аммиака в организме человека. Специфические пути катаболизма аминокислот
4.	Обмен нуклеотидов: катаболизм нуклеиновых кислот, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Определение мочевой кислоты методом «сухой химии».
5.	Модуль №1. по разделу «Обмен белков и аминокислот. Обмен нуклеотидов»
6.	Регуляция и интеграция обмена веществ в организме. Основные механизмы регуляции метаболизма живых систем. Гормоны. Классификация гормонов. Молекулярные механизмы регуляции обмена веществ и функции белково-

	пептидных гормонов. Механизмы регуляции, обеспечиваемые отдельными гормонами или их группами. Строение, биосинтез и регуляция секреции инсулина, глюкагона, адреналина. Молекулярный механизм действия и роль этих гормонов в регуляции обмена углеводов, липидов, аминокислот. Патогенез сахарного диабета. Препараты инсулина, их получение. Генно-инженерный метод синтеза инсулина. Роль гормонов в регуляции обмена кальция и фосфатов (паратгормон, кальцитонин и кальцитриол). Строение, биосинтез и механизм действия кальцитриола. Причины и проявления рахита, гипо-и гиперпаратирозидизма. Реакция на адреналин с хлорным железом.
7.	Регуляция и интеграция обмена веществ в организме. Регуляция водно-солевого обмена. Строение и функции альдостерона и вазопрессина. Система ренин-ангиотензин=альдостерон. Биохимические механизмы возникновения почечной гипертензии, отеков, дегидратации. Гормоны коры надпочечников – глюкокортикостероиды и минералокортикостероиды (кортизон, кортикостерон и альдостерон). Гормоны половых желез. Андрогены, эстрогены, их биологическая роль. Важнейшие представители гормоноидов. Простагландины, их биологическая роль. Применение гормонов и их синтетических аналогов в медицине. Обнаружение 17-кетостероидов в моче. Качественная реакция на фолликулин.
8.	Модуль №2. по разделу «Регуляция и интеграция обмена веществ в организме»
9.	Биохимия крови. Кровь – жидкая ткань. Особенности состава крови. Главные функции крови. Гемоглобин. Биосинтез гема, локализ, регуляция этого процесса. Транспорт кислорода кровью, кооперативный механизм функционирования молекул гемоглобина человека. Гемоглобинопатия. Транспорт диоксида углерода кровью. Белки сыворотки крови, их функции. Гемостаз. Молекулярные механизмы свертывания крови. Противосвертывающая система. Активаторы плазминогена и протеолитические ферменты как метаболические лекарственные средства. Клиническое значение биохимического анализа крови. Бензидиновая проба на кровь. Определение билирубина.
10.	Биохимия печени. Роль печени в обмене веществ. Синтез белков плазмы крови в печени. Обезвреживающая функция печени: реакции окисления, восстановления и конъюгации. Определение мочевины в сыворотке крови.
11.	Биохимия печени. Катаболизм гема, образование желчных пигментов (билирубина), его обезвреживание в печени. «Прямой» и «непрямой» билирубин. Нарушение обмена билирубина. Диагностическое значение определения билирубина в крови и моче. Обезвреживание в печени продуктов гниения аминокислот, поступающих из кишечника. Биохимические методы диагностики заболевания печени. Количественное определение холестерина в сыворотке крови энзиматическим калориметрическим методом.
12.	Модуль № 3. по разделу «Биохимия крови. Биохимия печени»
13.	Биохимия межклеточного матрикса и соединительной ткани. Коллаген – особенности аминокислотного состава, первичной и пространственной структуры. Роль аскорбиновой кислоты в гидроксировании пролина и лизина. Проявления недостаточности витамина С. Особенности биосинтеза и созревания коллагена. Строения и функций эластина. Гликозаминогликаны и протеоглики. Строение и функции. Роль глюкуроновой кислоты в организации межклеточного матрикса. Адгезивные белки межклеточного матрикса: фибронектин и ламинин,

	их строение и функции. Роль этих белков в межклеточных взаимодействиях и развитии опухолей, структурная организация межклеточного матрикса. Изменения соединительной ткани при старении, коллагенозах. Роль коллагеназы при заживлении ран. Проба с цетилтриметиламмонийбромидом (ЦТАБ) на гликозаминогликаны.
14.	Биохимия мышц. Особенности состава мышечной ткани. Важнейшие белки миофибрилл: миозин, актин, тропамиозин, тропонин. Молекулярные механизмы мышечного сокращения. Роль градиента одновалентных ионов и ионов кальция в регуляции мышечного сокращения. Саркоплазматические белки: миоглобин, его строение и функции, экстрактивные вещества мышц. Особенности энергетического обмена в мышцах; роль креатинфосфата. Биохимические изменения при дистрофиях и денервации мышц. Определение активности АЛТ и АСТ.
15.	Биохимия нервной системы. Особенности химического состава нервной ткани. Миелиновые мембраны: особенности состава и структуры. Энергетический обмен нервной ткани. Обмен пирувата и полиневриты. Биохимия возникновения и проведения нервного импульса. Молекулярные механизмы синаптической передачи. Медиаторы: ацетилхолин, катехоламины, серотонин, гамма-аминомасляная кислота, глутаминовая кислота, глицин, гистамин. Нарушение обмена биогенных аминов при психических заболеваниях. Предшественники катехоламина и ингибиторы моноаминоксидазы в печени при депрессивных состояниях. Молекулярные механизмы памяти. Белки – «молекула памяти». Физиологические пептиды мозга. Определение активности холинэстеразы в сыворотке крови
16.	Модуль № 4. по разделу «Биохимия межклеточного матрикса и соединительной ткани. Биохимия мышц. Биохимия нервной системы»
17.	Фармацевтическая биохимия. Биохимия и фармация. Биохимические методы стандартизации контроля качества лекарств и биорегуляторов (гормонов, ферментов и т.д). основные принципы разработки и конструирования систем для биотестирования гормонов. Применение ферментов в медицине и фармацевтической промышленности. Ферментативный анализ биологических субстратов. Ферментативный анализ биологических субстратов. Ферменты как аналитические реагенты. Преимущества иммобилизованных ферментов. Биохимические основы генно-инженерной технологии, ее применение для синтеза инсулина, интерферонов и др. лекарственных средств. Обнаружение пенициллина реакцией с гидроксимином.
18.	Фармацевтическая биохимия. Биохимические аспекты повышения биодоступности лекарственных препаратов. Липосомы как носители лекарств. Биотрансформация лекарственных веществ в организме. Основные закономерности метаболизма биогенных и синтетических лекарственных средств. Локализация метаболических превращений лекарств в организме. Структурная организация и функциональная роль ЭПР печени в биотрансформации лекарств.. Характеристика реакций конъюгации. Биохимические основы индивидуальной вариабельности метаболизма лекарств. Иммуитет как функция химического гомеостаза. Методы исследования биотрансформации лекарств в организме. Качественные реакции на тетрациклин и кортизол. Обнаружение пиридоксальной кислоты в моче.
19.	Модуль № 5. по разделу «Фармацевтическая биохимия»

ЗАНЯТИЕ №1.

ТЕМА: Обмен белков и аминокислот. Ферментативный гидролиз белков в ЖКТ. Катаболизм аминокислот (дезаминирование, декарбоксилирование, трансметилование). Тетрагидрофолиевая кислота, синтез и использование одноуглеродных групп.

Цели обучения.

I. Дидактические:

Студент должен знать.

1. Биологическое значение белков.
2. Физиологические нормы белка: качественные и количественные;
3. Показатели интенсивности белкового обмена.
4. Состав желудочного сока здорового человека, протеолитические ферменты;
5. Роль HCl в процессах переваривания белков.
6. Механизмы активации протеолитических ферментов, специфичность действия.
7. Патологические изменения кислотности желудочного сока. Патологические компоненты желудочного сока, их диагностическое значение.
8. Состав кишечного сока. Ферменты поджелудочной железы, активация, специфичность действия. Ферменты кишечника.
9. Конечные продукты ферментативного гидролиза и механизмы абсорбции аминокислот. Роль пристеночного пищеварения.
10. Гниение белков в толстом кишечнике, обезвреживание продуктов гниения в печени.
11. Пути использования аминокислот клетками.
12. Общие пути катаболизма.
13. Трансаминирование, ферменты, катализирующие этот процесс.
14. Локализация процесса и его этапы.
15. Основные кетокислоты, используемые в трансаминировании.
16. Биологическое значение трансаминирования.
17. Диагностическое значение определения трансаминаз при патологии сердца и печени. Роль коэффициента Де Ритиса.
18. Процесс декарбоксилирования, ферменты, локализация процесса.
19. Продукты декарбоксилирования, биогенные амины, их биологическая роль.
10. Синтез гистамина, характеристика ферментов.
11. Рецепторы, чувствительные к гистамину, биологические эффекты.
12. Пути разрушения гистамина.
13. ДОФ-амин, ГАМК, синтез, биологическое действие, пути утилизации.

Студент должен уметь.

1. Объяснить действие панкреатина на фибрин.
2. Изобразить в виде схемы процесс ферментативного гидролиза пищевых белков.
3. Указать роль HCl в процессе активации ферментов желудочного сока.
4. Определить активность пепсина исследуемого желудочного сока.

5. Обнаружить в исследуемом желудочном соке патологические компоненты (молочную кислоту, кровь) и интерпретировать полученные результаты.

6. Определить оптимальные условия среды и температуры, при которых осуществляется протеолиз под действием трипсина.

7. Написать процесс обезвреживания токсических веществ (индола) формулами.

6. Написать полуреакции трансаминирования (схему пиридоксалевого катализа).

7. Указать соответствующие ферменты.

8. Воспроизвести переаминирование в пробирке, интерпретировать полученные результаты.

9. Написать кофермент трансаминаз.

10. Объяснить биологическое значение трансаминирования.

11. Объяснить диагностическое значение трансаминирования.

12. Объяснить диагностическое значение коэффициента Де Ритиса.

13. Используя свои знания, уметь объяснить биологические эффекты гистамина, ДОФ-амина, ГАМК.

14. Написать пути разрушения гистамина и других биогенных аминов.

15. Объяснить использование ГАМК и L-ДОФА в медицинской практике.

Студент должен владеть.

1. Методами постановки реакций количественного определения пепсина желудочного сока.

2. Методами постановки реакций обнаружения некоторых патологических компонентов желудочного сока (молочная кислота, кровь).

3. Методами постановки реакций трансаминирования.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

1. Характеристика пищевых белков: количественная и качественная.

2. Азотистый баланс - критерии интенсивности белкового обмена.

3. Переваривание белков под влиянием желудочного сока. Характеристика протеолитических ферментов желудочного сока. Особенности катализа под влиянием ферментов желудочного сока.

4. Определение активности пепсина желудочного сока.

5. Роль HCl в переваривании белков в желудке.

6. Патологические компоненты желудочного сока, методы обнаружения.

7. Переваривание белков в различных отделах тонкого кишечника.

8. Характеристика протеиназ: трипсина, химотрипсина, активация их.

9. Экзопептидазы, характеристика, роль в переваривании пептидов. Значение пристеночного пищеварения.

10. Механизмы всасывания аминокислот; значение γ -лутамилтранспептидазы

11. Гниение белков (аминокислот) в толстом кишечнике; обезвреживание продуктов гниения в печени.

12. Трансаминирование - основная реакция аминокислотного обмена.

13. Аминотрансферазы, кофермент (Вит.В₆), специфичность аминотрансфераз. Схема фосфопиридоксалевого катализа.
14. Аминотрансферазы сыворотки крови, диагностическое значение, определение активности последних.
15. Декарбоксилирование, биогенные амины, их роль в организме.
16. Пути утилизации биогенных аминов.
17. Тетрагидрофолиевая кислота, синтез и использование одноуглеродных групп.
18. Особенности обмена фенилаланина и тирозина. Врожденные энзимопатии при обмене указанных аминокислот (фенилкетонурия, алкаптонурия).
19. Трансметилирование. Ферменты, участвующие в этом процессе. Роль метилирования в метаболизме аминокислот.
20. Синтез креатина и креатинина. Метионин как донор метильных групп в этом процессе.

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

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

Наглядные пособия:

Таблицы

Оснащения занятия

1. Реактивы, штатив с пробирками, пипетки

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Назвать источники белков.
2. Дать количественную и качественную характеристику нормы белков.
3. Критерии, определяющие полноценность потребляемых белков.
4. Перечислить и написать незаменимые аминокислоты.
5. Охарактеризовать понятие «резервные белки».
6. Азотистый баланс, его варианты - как критерии интенсивности белкового обмена.
7. Характеристика протеолитических ферментов, условия и механизмы их

активации.

8. Роль HCl в пищеварении.
9. Пристеночное пищеварение.
10. Механизмы всасывания аминокислоты.
11. Гниение белков в толстом кишечнике. Обезвреживание токсических

веществ в печени.

1. Использование аминокислот клетками тканей.
2. Назвать общие пути катаболизма.
3. Трансаминирование, ферменты процесса.
4. Локализация процесса трансаминирования.
5. Назвать наиболее активные трансаминазы.
6. Структурная организация трансаминаз.
7. Полуреакции фосфопиридоксалевого катализа.
8. Биологическое значение трансаминирования.
9. Коэффициент Де Ритиса, клинико-диагностическое значение.
10. Синтез гистамина, рецепторы гистамина.

11. Биологические эффекты гистамина.

12. Пути разрушения гистамина и выделения конечных продуктов.

13. Синтез ДОФА-мина, ГАМК, биологическое действие.

14. Пути утилизации ГАМК.

15. Серотонин, синтез, биологическое действие.

16. Пути окисления серотонина.

17. Какова биологическая роль фенилаланина и тирозина?

18. Написать специальный путь катаболизма фенилаланина и тирозина до фумарата и ацетоацетата.

19. Написать специальный путь катаболизма до дофамина.

20. Дальнейшая судьба дофамина. Синтез катехоламинов.

21. Как используется клеткой фумарат, ацетоацетат?

22. Превращения тирозина в щитовидной железе.

23. Назовите энзимопатии в специальных путях катаболизма фенилаланина и тирозина.

24. Биологическая роль метионина, его активной формы SAM.

25. Понятие о трансметилировании, ферменты процесса. Источники метильных групп.

10. Написать синтез креатинина, указать реакции трансметилирования в этом процессе.

11. Какова роль Витамина B₁₂, фолиевой кислоты?

12. Назовите конечные продукты превращения гомоцистеина.

13. Превращения цистеина. Как используется активная серная кислота (ФАФС).

Актуальность темы занятия

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

Количественная норма белков может быть представлена:

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

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

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

Об интенсивности белкового обмена судят по азотистому балансу. У взрослого здорового человека при нормальном питании сохраняется азотистое равновесие-первый вариант; второй - положительный азотистый баланс: потребляемого азота больше теряемого(растущий организм, потребление анаболиков, при беременности, выздоравливающий больной, заболеваниях печени и почек). Третий вариант - отрицательный азотистый баланс: азот вводимый меньше азота, теряемого (старение, белковое голодание, хронические заболевания, ожоги, онкопатология).

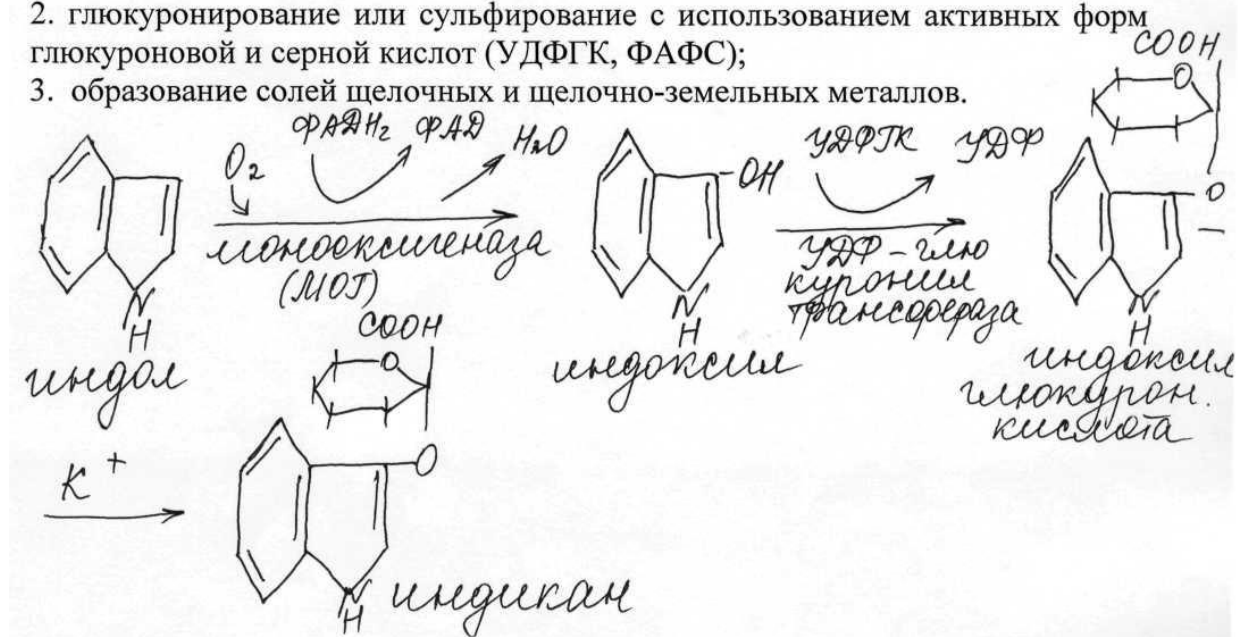
Пищевые белки в желудочно-кишечном тракте подвергаются ферментативному гидролизу комплексом протеолитических ферментов, которые относятся к III классу (гидролаз), подклассу пептидаз, подподклассу эндо- и экзопептидаз. Протеолитические ферменты обладают относительной субстратной специфичностью и к собственным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

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

Пепсин катализирует гидролиз пептидных связей, образованных остатками ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин) связь лей-глу. Из пепсиногена образуется другой пепсиноподобный фермент - гастриксин (Мг- 31500 Да), оптимум рН (3,5 - 4,0). В нормальном желудочном соке соотношение пепсин/гастриксин 4:1. Реннин содержится в желудочном соке грудных детей, оптимум рН - 4,5. В присутствии ионов кальция реннин переводит водорастворимый казеиноген в нерастворимый казеин. Конечными продуктами ферментативного гидролиза белков в желудке являются полипептиды и небольшое количество нерасщепленных белков.

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

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



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

При патологии желудка нарушение секреторной функции желудка ведёт к патологии пищеварения и морфологическим изменениям самой слизистой (язвы,

гастриты, полипы). В желудочном соке появляются патологические компоненты, органические кислоты (ПВК, молочная кислота), кровь.

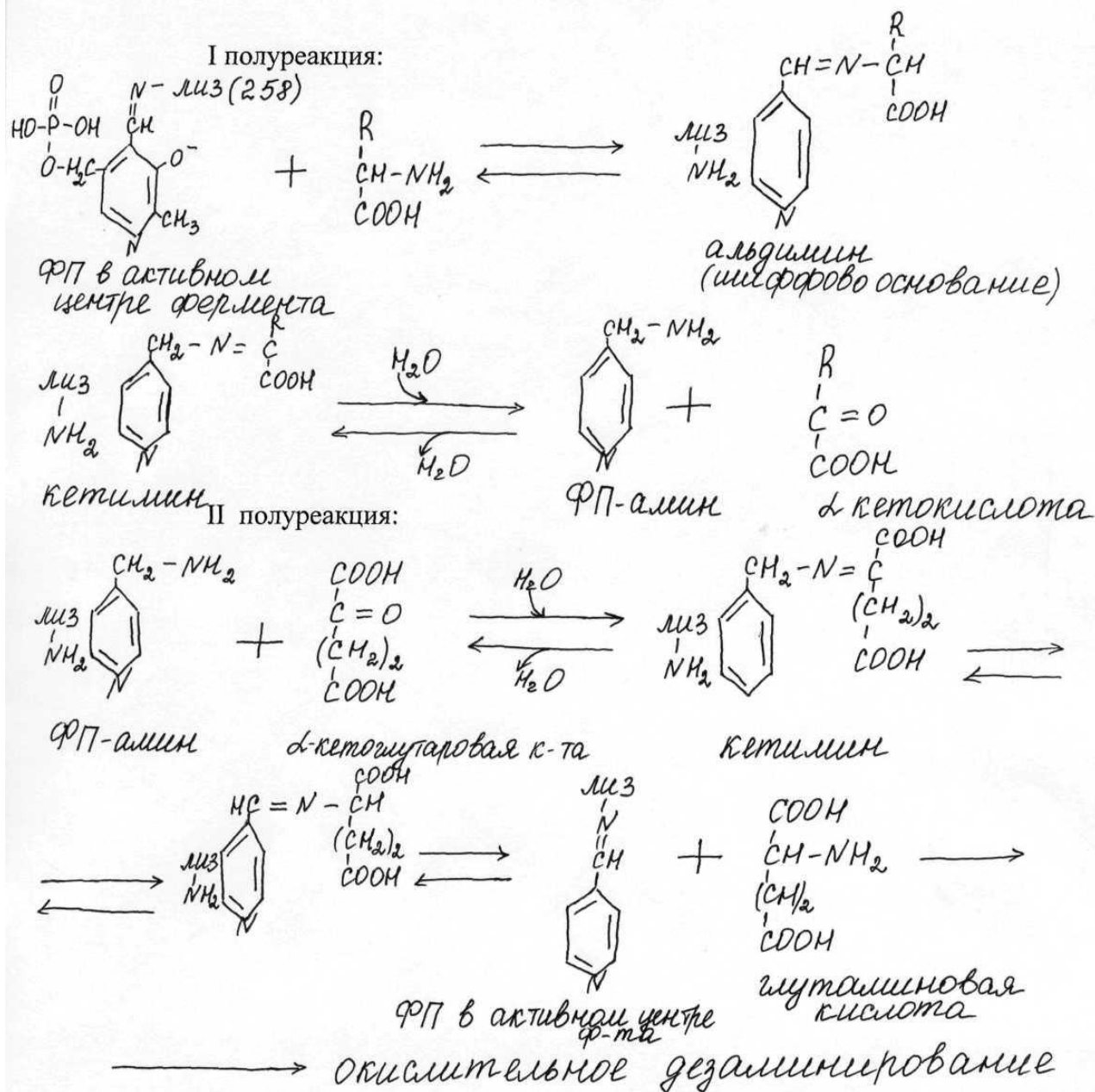
Образовавшиеся в ходе катаболизма аминокислоты с током крови попадают в клетки, где прежде всего включаются в процессы синтеза сложных соединений белковой и небелковой природы.

Основные пути потребления аминокислот в клетке:

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

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

Трансаминирование (переаминирование) реакции межмолекулярного переноса аминогруппы от α -аминокислоты (донор) на α -кетокислоту с образованием новой аминокислоты и кетокислоты без промежуточного образования аммиака. Основными кетокислотами, участвующими в реакции переаминирования, являются пируват, ЩУК, α -кетоглутарат. Катализируют этот процесс и определяют специфичность ферменты - аминотрансферазы (трансаминазы), которые локализованы в цитоплазме и митохондриях клеток. Реакции трансаминирования обратимы. Коферментом трансаминаз является метаболитическая форма Витамин В₆ (пиридоксальфосфат), который ковалентно присоединяется к активному центру фермента. Поскольку трансаминазы сложные ферменты, то процесс протекает в виде 2-х полуреакций, по ходу которых образуется аминопроизводное витамина В₆ (фосфопиридоксамин) - временный акцептор NH₂ и шиффовы основания. Схема фосфопиридоксалевого катализа.



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

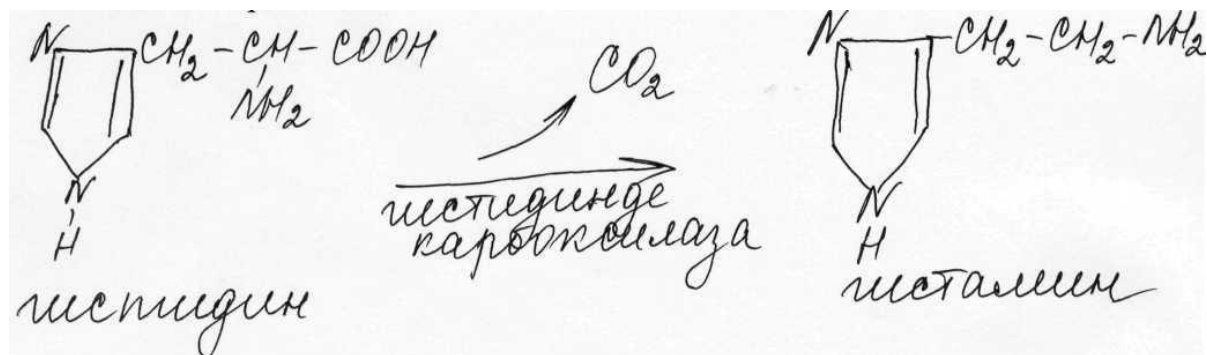
Реакции трансаминирования играют большую роль в обмене аминокислот:

1. Путём трансаминирования образуются заменимые аминокислоты.
2. Трансаминирование собирает весь пул NH_2 в виде глу, который идёт на процесс окислительного дезаминирования.
3. Осуществляется перераспределение аминного азота в органах и тканях.

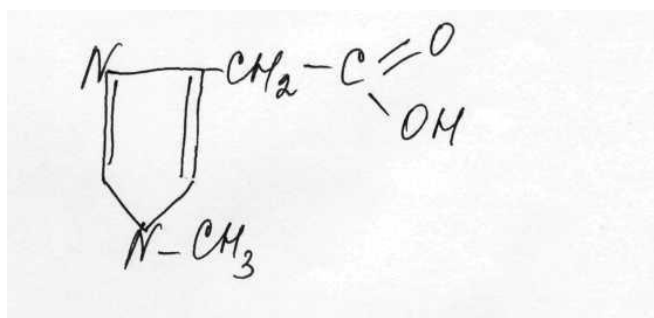
Для лабораторной практики особое значение имеют две аминотрансферазы - АЛАТ и АСАТ. Их активность в клетке значительно выше, чем в сыворотке крови. Появляются они в сыворотке при повреждении тканей. При повреждении сердечной мышцы преимущественно повышается активность сывороточного АСАТ, а при повреждении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

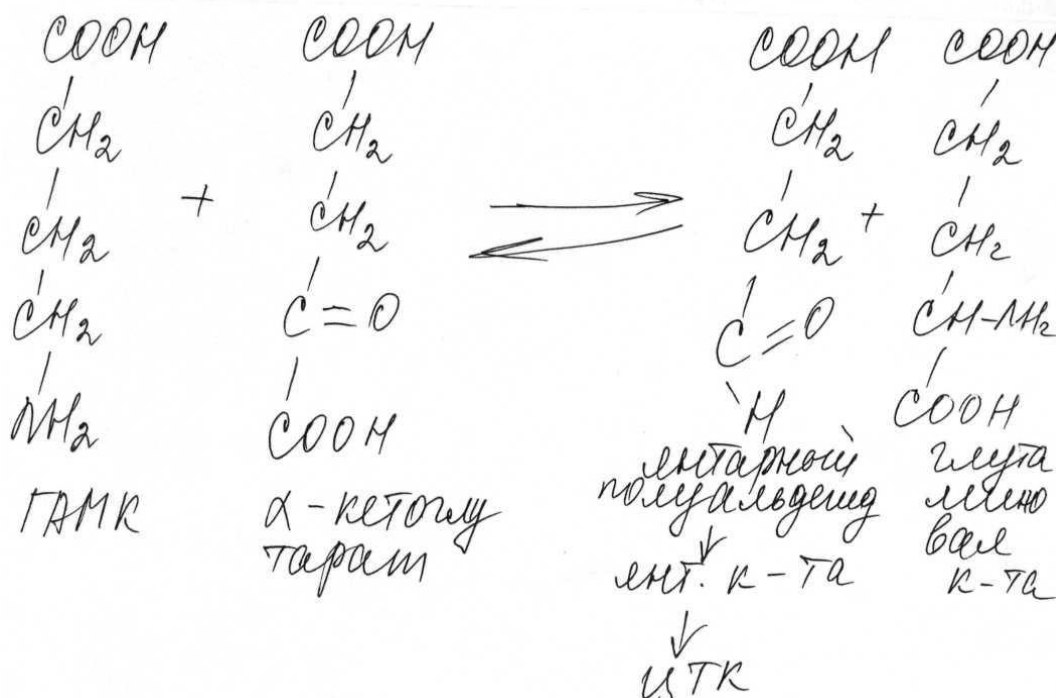
Другой важный путь катаболизма - **декарбоксилирование** - процесс отщепления карбоксильной группы в виде CO_2 . Катализируются реакции декарбоксилирования декарбоксилазами с коферментом (фосфопиридоксаль).

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



Депонируются гистамины в тучных клетках, лейкоцитах крови. Биологические эффекты гистамина реализует через гистаминовые рецепторы H_1 и H_2 . Гистамин считают медиатором воспаления, поскольку он повышает проницаемость сосудов, увеличивает кровенаполнение, повышает экссудацию и диapedез лейкоцитов, способствует активации защитных сил в организме, понижает артериальное давление. Через H_2 рецепторы гистамин стимулирует секрецию HCl в желудке, через H_1 - рецепторы стимулирует сокращение гладкой мускулатуры бронхов и кишечника, участвует в сенсibilизации организма. Повышение концентрации гистамина опасно, поэтому он разрушается под действием специфической гистаминазы (ДАО). Сначала гистамин метилируется, а затем дезаминируется и окисляется до 1-метилимидазол-4-ацетата, который выводится с мочой:





ДОФ-амин - важный амин, продукт декарбоксилирования ДОФА. Активность фермента обнаруживается в почках, печени, надпочечниках, синаптических образованиях, стриопаллидарной системе. Указанный амин -предшественник катехоламинов; тормозной медиатор крупных проводящих путей, нейроны которых находятся в черной субстанции. Участвует в регуляции координации тонких двигательных актов. При нарушении его синтеза развивается болезнь Паркинсона.

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

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

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

8. Каковы механизмы абсорбции аминокислот, роль γ -глутамилтранспептидазы в этом процессе.
9. Напишите структуру УДФГК и ФАФС, их участие в процессах обезвреживания токсических веществ.
10. Напишите процесс обезвреживания индола, фенола и др.
11. Написать (конкретно) реакции, воспроизведённого в пробирке процесса трансаминирования (фосфопиридоксальный катализ).
12. Указать ферменты процесса, источники их в эксперименте (АлАТ).
13. Каково клиническое значение определения АлАТ и АсАТ в сыворотке крови при патологии миокарда и печени?
14. Какова их активность в норме и как изменяется активность при патологии сердечной мышцы и печени? Коэффициент Де Ритиса, его значение в норме и при патологии.
15. Биологическое значение трансаминирования.
16. Декарбоксилирование, ферменты, локализация процесса.
17. Синтез гистамина, его депо.
18. Факторы, способствующие секреции гистамина.
19. Рецепторы гистамина, его биологические эффекты.
20. Разрушение гистамина, роль ДАО.
21. Образование серотонина, его биологические эффекты, пути утилизации.
22. ДОФА-амин, ГАМК, синтез, биологические эффекты, пути утилизации.
23. Распад ГАМК. ГАМК - шунт.

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Количественное определение активности пепсина желудочного сока.

Принцип метода: В основе метода лежит способность пепсина в желудочном соке створаживать белок молока - казеиноген. Створаживание молочно-ацетатной смеси при pH 4,9 и при $t\ 25^{\circ}\text{C}$ пепсином происходит строго параллельно его способности переваривать белки. За единицу активности пепсина принимают то его количество, которое при указанных условиях створаживает 5 мл молочно-ацетатной смеси за 60 секунд (это условная единица соответствует 0,01 мл кристаллического пепсина). Желудочный сок в норме в 1 мл содержит 40 - 60 ед. пепсина.

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

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

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

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

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

Кровь обнаруживается бензидиновой пробой. Реакция обусловлена способностью гемоглобина катализировать окисление бензидина перекисью водорода. Бензидин, окисляясь, приобретает синюю окраску.

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

2. *Обнаружение крови:* к 5 каплям 1% раствора бензидина приливают 5 капель 3% раствора H_2O и 5 капель патологического желудочного сока. При попадании крови в желудочный сок в желудочном соке появляется синее окрашивание (окисленный бензидин).

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3.

Переваривание фибрина панкреатином.

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

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

Результаты опыта занести в таблицу.

Фермент	Субстрат	Условия реакции		Результаты реакции	Выводы
		t $^{\circ}C$	pH среды		
Трипсин	фибрин	+37	8		
Трипсин	фибрин	+100	8		
Трипсин	фибрин	+37	5		

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4.

Переаминирование

Принцип метода: Перенос NH_2 с аминокислоты аланина на кетокислоту (α-кетоглутарат) ускоряется ферментами - трансаминазами. При этом образуется пируват и глутаминовая кислота. Образовавшаяся при этом пировиноградная кислота обнаруживается при обработке раствором

динитрофенилгидрозина (образуются фенилгидрозоны). Экстракт динитрофенилгидрозина пировиноградной кислоты окрашивается при добавлении спиртового раствора едкого калия в красный цвет.

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

Предполагаемые результаты:

Выполняются обсуждение результатов и делаются выводы.

Самостоятельная работа студентов

1. Биологическая ценность белков.
2. Роль печени в обезвреживании токсических продуктов гниения белков.
3. Современные представления о механизмах транспорта аминокислот через клеточные мембраны.
4. Распад биогенных аминов.
5. Биогенные амины, их роль в деятельности ЦНС.
6. Механизм секреции гистамина, его роль в биологических реакциях.

Задания на внеаудиторную работу.

Литература.

Обязательная

1. «БИОХИМИЯ» Учебник для вузов /под ред.Е.С.Северина.- М.: ГЭОТАР-МЕД, 2012.-784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998.- 740 с.
3. Биохимия. С упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина– М: «Гэотар-мед», 2008.- 380 с.
4. В.П. Комов, В.Н. Шведова «Биохимия», - М., «Дрофа», - 2004 г., - 620 с.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека – М.:Наука 1980
7. Уайт А и соавт. Основы биохимии – М.:Мир 1979

Дополнительная

1. В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович «Биологическая химия» под ред. А.Д. Тагановича- Москва, Минск, - 2008, - 687 с.
2. Ю.К. Василенко «Биологическая химия», - М., «МЕДпресс-инфо», - 2011, - 432 с.

ЗАНЯТИЕ №2.

ТЕМА. Обмен фенилаланина и тирозина в разных тканях. Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Заменяемые аминокислоты. Аминокислоты и их производные как лекарственные вещества.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

1. Процессы катаболизма, осуществляемые по специфическому радикалу
2. Процессы трансметилирования, источники метильных групп, основные реакции трансметилирования. Синтез креатинина.
3. Продукты трансметилирования.
4. Гидроксилирования, ферменты.
5. Специфические пути катаболизма фенилаланина и тирозина.
6. Энзимопатии связанные с дефектами определённых ферментов специфических путей катаболизма фенилаланина и тирозина.

Студент должен уметь:

1. Написать реакции синтеза креатинина.
2. Объяснить значение этого процесса, роль метионина в этом процессе.
3. Объяснить значение фолиевой кислоты и витамина В₁₂ в процессе трансметилирования.
4. Уметь определять креатинин в моче, интерпретировать полученные данные.
5. Написать специфические пути катаболизма фенилаланина и тирозина, указать основные ключевые ферменты процесса.
6. Назвать энзимопатии, связанные с дефектом ключевых ферментов специфических путей катаболизма фенилаланина и тирозина.
7. Уметь определить гомогентизиновую кислоту в исследуемой моче, объяснить полученные данные.

Студент должен владеть.

1. Методами постановки реакций определения креатинина в моче по Фолину.
2. Методами постановки качественной реакции на гомогентизиновую кислоту.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

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

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

5. Количественное определение активности пепсина желудочного сока.
6. Действие панкреатина на фибрин.
7. Обнаружение некоторых патологических компонентов желудочного сока (молочная кислота, кровь).
8. Трансаминирование.

Наглядные пособия:

Таблицы

Оснащения занятия

2. Реактивы, штатив с пробирками, пипетки

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Понятие о заменимых и незаменимых аминокислотах.
2. Понятие о гликогенных и кетогенных аминокислотах.
3. Какие аминокислоты используются в качестве производных лекарственных средств?
4. Какова биологическая роль фенилаланина и тирозина?
5. Написать специальный путь катаболизма фенилаланина и тирозина до фумарата и ацетоацетата.
6. Написать специальный путь катаболизма до дофамина.
7. Дальнейшая судьба дофамина. Синтез катехоламинов.
8. Как используется клеткой фумарат, ацетоацетат?
9. Превращения тирозина в щитовидной железе.
10. Назовите энзимопатии в специальных путях катаболизма фенилаланина и тирозина.
11. Биологическая роль метионина, его активной формы SAM.
12. Понятие о трансметиличровании, ферменты процесса. Источники

метильных групп.

10. Написать синтез креатинина, указать реакции трансметилирования в этом процессе.

11. Какова роль Витамина В₁₂, фолиевой кислоты?

12. Назовите конечные продукты превращения гомоцистеина.

13. Превращения цистеина. Как используется активная серная кислота (ФАФС).

Актуальность темы занятия

Аминокислоты классифицируют по необходимости для организма:

- заменимые аминокислоты - Ала, Асп, Асн, Глу, Глн, Про, Гли, Сер - синтезируются в необходимых количествах в организме

- незаменимые аминокислоты - Вал, Лей, Иле, Мет, Фен, Три, Лиз, Тре - не могут синтезироваться в организме и должны поступать с пищей;

- частично заменимые аминокислоты - Гис, Арг - синтезируются очень медленно, в количествах, не покрывающих потребности организма, особенно в детском возрасте;

- условно заменимые аминокислоты - Цис, Тир - синтезируются из незаменимых аминокислот Мет и Фен соответственно.

К гликогенным аминокислотам относятся те аминокислоты, при катаболизме которых образуются непосредственные предшественники глюкозы, вовлекаемые в процесс глюконеогенеза — пируват, оксалоацетат, фосфоеноилпируват (таких аминокислот 14), либо в жиры (кетогенные, одна аминокислота), либо и в углеводы, и в жиры (гликогенные и кетогенные, 5 аминокислот).

Наиболее важным процессом при превращении аминокислот является удаление аминогруппы и замещение ее кислородом с образованием кетокислот, которые затем используются как источники энергии. Аминный азот, освободившийся при окислительном дезаминировании, вовлекается в орнитиновый цикл для последующего образования мочевины. Образовавшиеся при окислительном дезаминировании кетокислоты подвергаются дальнейшему окислению в цикле трикарбоновых кислот или используются для образования других веществ. По способности образовывать ацетоуксусную кислоту и глюкозу одна группа аминокислот относится к гликогенным (все заменимые кислоты), а другая — к кетогенным (лейцин, лизин, триптофан). Ряд аминокислот (метионин, цистин, изолейцин, фенилаланин, тирозин) по способу своего превращения может относиться как к той, так и к другой группе.

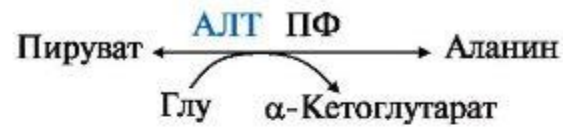
БИОСИНТЕЗ ЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ

Углеродный скелет восьми заменимых аминокислот (Ала, Асп, Асн, Сер, Гли, Про, Глу, Глн) и цистеина может синтезироваться из глюкозы (рис. 9.15).

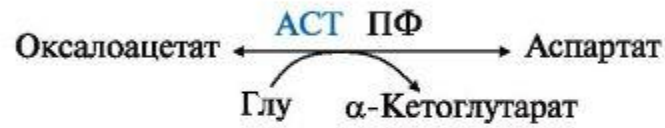
α-Аминогруппа вводится в соответствующие α-кетокислоты с помощью реакции трансаминирования. Универсальным донором α-аминогруппы является глутамат.

Непосредственно путем трансаминирования метаболитов ОПК с глутаматом синтезируются:

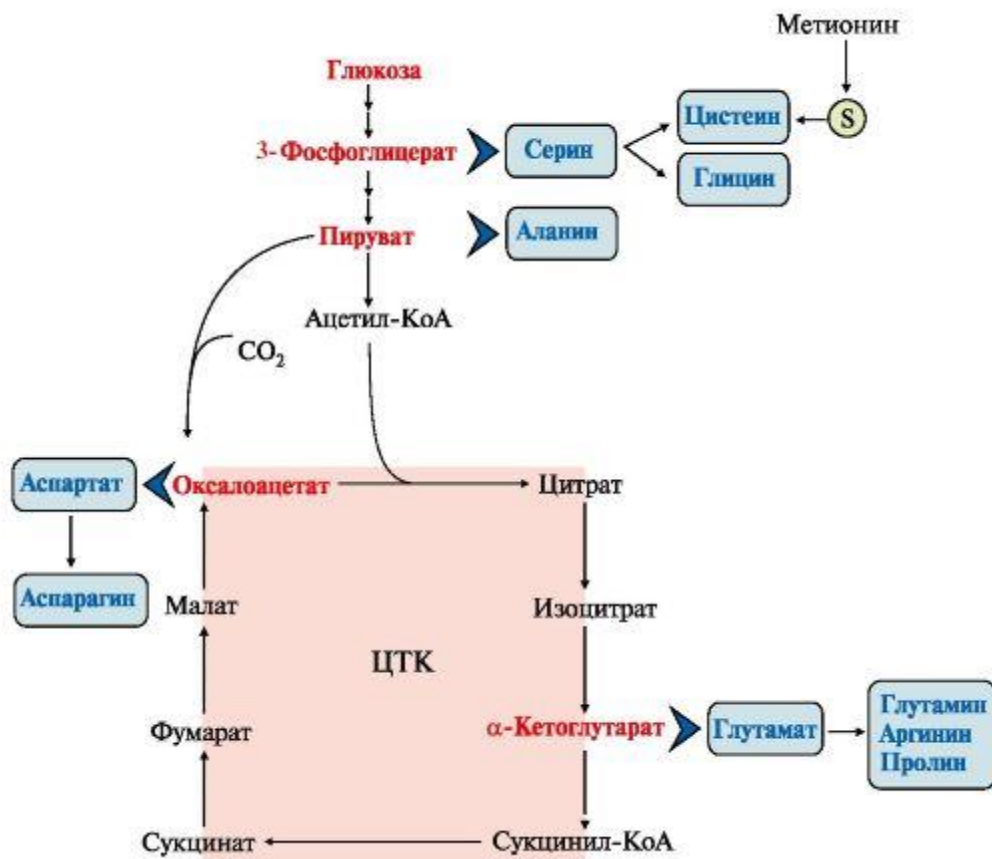
- Аланин:



- Аспартат:



- Глутамат:



- **Глутамин** синтезируется из глутамата под действием глутаминсинтетазы:

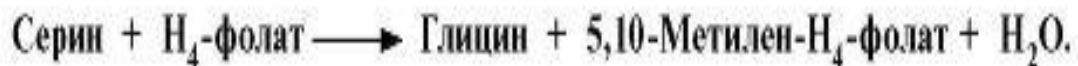


- **Аспарагин** синтезируется из аспартата и глутамина под действием аспарагинсинтетазы:



Серин образуется из 3-фосфоглицерата — промежуточного продукта гликолиза.

Глицин синтезируется из серина ферментом сериноксиметилтрансферазой:



Пролин синтезируется из глутамата:



В ходе катаболизма аминокислот происходит отщепление аминокислотной группы и выделение аммиака. Другим продуктом дезаминирования аминокислот служит их безазотистый остаток в виде α -кетокислот. Катаболизм аминокислот происходит практически постоянно. За сутки в норме в организме человека распадается примерно 100 г аминокислот, и такое же количество должно поступать в составе белков пищи.

Большая часть безазотистых остатков аминокислот превращается в пируват либо непосредственно (Ала, Сер), либо в результате более сложного пути, превращаясь вначале в один из метаболитов ЦТК. Затем в реакциях цитратного цикла происходит образование оксалоацетата, который превращается в фосфоенолпируват. Из фосфоенолпирувата под действием пируваткиназы образуется пируват. Пируват подвергается окислительному декарбоксилированию и превращается в ацетил-КоА, который окисляется в ЦТК до CO_2 и H_2O с выделением энергии. Такой путь проходят преимущественно аминокислоты пищи.

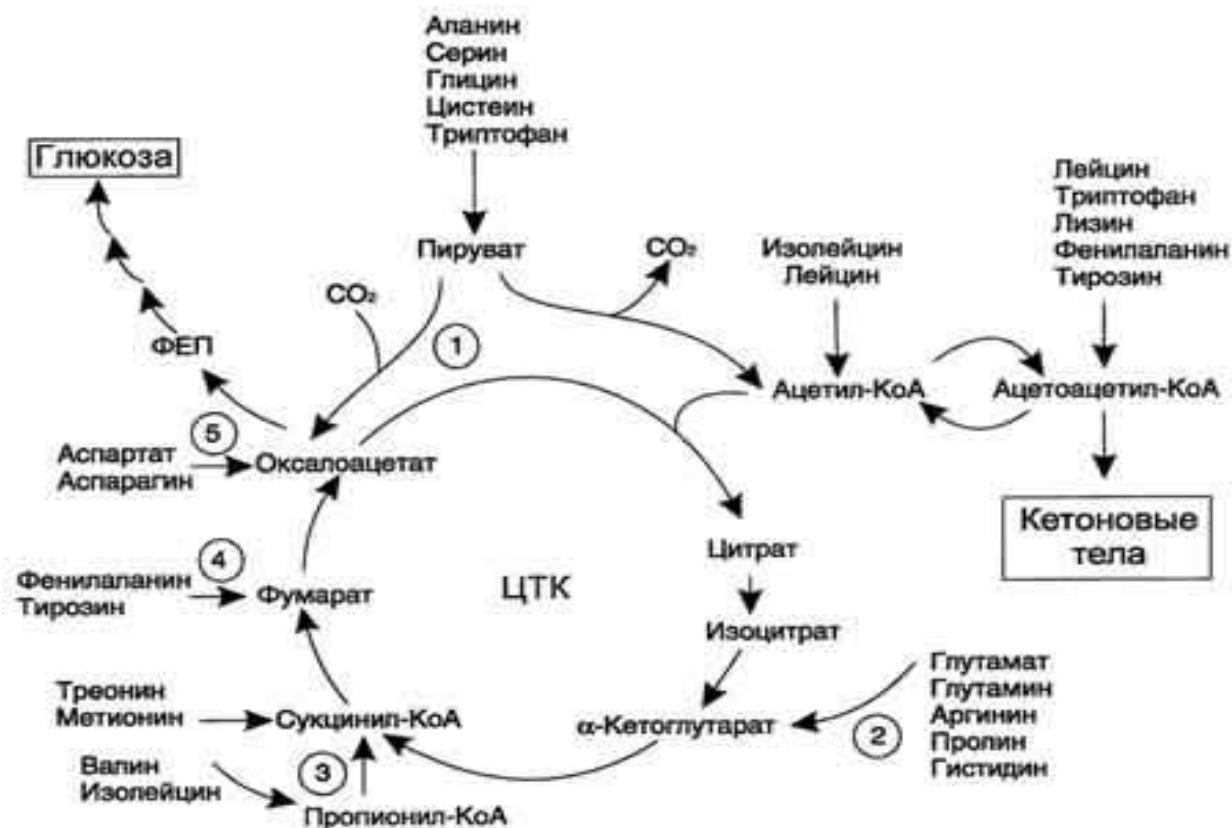
При недостатке глюкозы в организме фосфоенолпируват включается в глюконеогенез. Это происходит при голодании, длительной физической работе при сахарном диабете и других тяжёлых хронических заболеваниях, сопровождающихся распадом собственных белков организма. Скорость глюконеогенеза из аминокислот регулируется гормонами. Так, под действием глюкагона увеличивается активность регуляторных ферментов процесса, а кортизол индуцирует синтез ферментов

глюконеогенеза в печени. Активация глюконеогенеза из аминокислот происходит и при преимущественно белковом питании.

Гликогенные и кетонные аминокислоты

Катаболизм всех аминокислот сводится к образованию шести веществ, вступающих в общий путь катаболизма: пируват, ацетил-КоА, α -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат

Аминокислоты, которые превращаются в пируват и промежуточные продукты ЦТК (α -КГ, сукцинил-КоА, фумарат) и образуют в конечном итоге оксалоацетат,



могут использоваться в процессе глюконеогенеза.

Такие аминокислоты относят к группе гликогенных аминокислот.

Некоторые аминокислоты в процессе катаболизма превращаются в ацетоацетат (Лиз, Лей) или ацетил-КоА (Лей) и могут использоваться в синтезе кетоновых тел. Такие аминокислоты называют кетогенными. Ряд аминокислот используется и для синтеза глюкозы, и для синтеза кетоновых тел, так как в процессе их катаболизма образуются 2 продукта - определённый метаболит цитратного цикла и ацетоацетат (Три, Фен, Тир) или ацетил-КоА (Иле). Такие аминокислоты называют смешанными, или гликокетогенными

Гликогенные аминокислоты

Аланин
Аспарагин
Аспартат

Гликокетогенные аминокислоты

Тирозин
Изолейцин
Фенилаланин

Кетогенные аминокислоты

Лейцин
Лизин

Глицин

Триптофан

Глутамат

Глутамин

Пролин

Серии

Цистеин

Аргинин

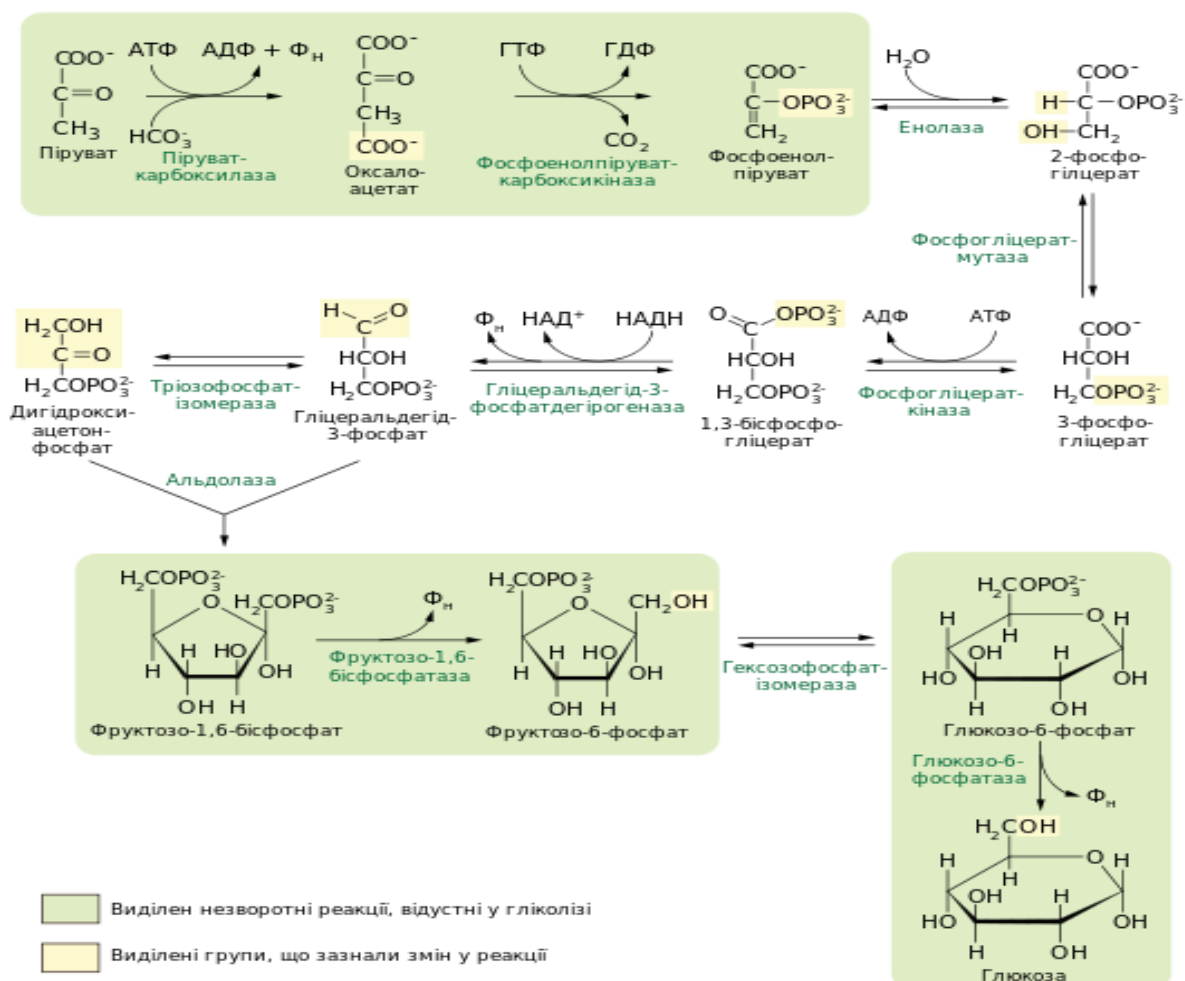
Гистидин

Валин

Метионин

Треонин

Анаплеротические реакции.



Процессы деградации аминокислот могут осуществляться по специфическим путям катаболизма. Существует около двадцати наборов ферментов, катаболизирующих превращения аминокислот по специфическому радикалу. Установлено, что углеродные скелеты, как минимум 12 аминокислот могут

превращаться в углеводы, так называемые «гликогенные» аминокислоты (аланин, аргинин, глицин, серин, метионин, треонин и др.), в жиры, кетоновые тела, «кетогенные» аминокислоты (лейцин), смешанные аминокислоты, способные превращаться в глюкозу и кетоновые тела (лизин, изолейцин, тирозин и др.). В процессы синтеза углеводов и липидов включаются аминокислоты в виде метаболитов общих путей катаболизма: ацетила КоА, α -кетоглутарата, оксалоацетата. К указанным метаболитам аминокислоты приходят через процессы трансаминирования, декарбоксилирования, дезаминирования. Окисление углеводородных скелетов аминокислот осуществляется НАД, НАДФ, ФАД, ФМН зависимыми оксидоредуктазами, но аминокислоты могут включаться и в реакции гидроксилирования, осуществляемые гидроксилазами, монооксигеназами, а разрыв ароматических колец-специальными диоксигеназами. Особый интерес представляет процесс введения в структуру метильной группы (трансметилирование, метилирование). Последние катализируются ферментами трансметилазами, а переносчиками CH_3 групп служат активные формы фолиевой кислоты (ТГФК).

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

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

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

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

Процесс метилирования протекает в несколько реакций:

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

1. Образование S-аденозилметионина (S-AM) из метионина:

метионин + АТФ + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ S-аденозилметионин + $\text{PP}_n + \text{P}_n$

2. S-AM отдаёт CH_3 на метилирование субстратов (ферменты - метилтрансферазы) при этом образуются метилированные производные SK субстрата и освобождается аденозилгомоцистеин (8-АГ):

субстрат + S-AM $\rightarrow$ субстрат- CH_3 + S-АГ

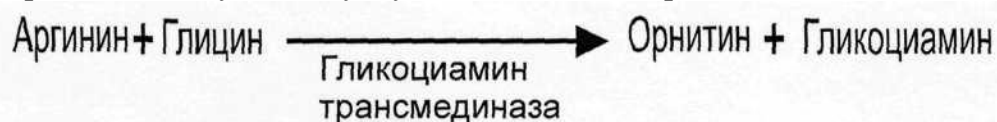
метилтрансферазы

3. S-АГ распадается на аденозил + гомоцистеин

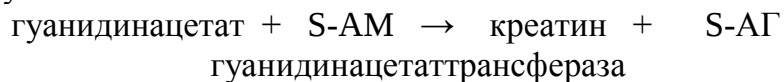
S-АГ $\rightarrow$ аденозил + гомоцистеин

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

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



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



3) Затем креатин с током крови разносится к другим органам, но больше его поглощают миоциты. В мышцах, особенно сердечной, креатин подвергается фосфорилированию, используя АТФ, с образованием дополнительного аккумулятора энергии в виде креатинфосфата. Катализирует процесс креатинфосфокиназа. Этот же фермент подвергает креатинфосфат дефосфорилированию с высвобождением энергии и образованием азотсодержащего шлака креатинина. Последний выводится с мочой. У взрослого человека за сутки выводится 4,4-17,6 ммоль/сут. Креатин выделяется с мочой в норме только у детей.

Аминокислоты, используемые как производные лекарственных средств.

Метионин, незаменимая кислота, содержит мобильную метильную группу, которая может передаваться на другие соединения. Благодаря этому она участвует в синтезе холина, фосфолипидов, обмене витаминов В₁₂ и фолиевой кислоты. В реакциях биосинтеза белка метионин является иницирующей аминокислотой. Он участвует в процессах обезвреживания токсинов в печени.

Метионин («ациметион») и его активные производные (как вещество «адеметионин» в составе препарата «Гептрал») используют для профилактики и лечения различных заболеваний печени как липотропный фактор, препятствующий накоплению жира, при токсических поражениях печени, при атеросклерозе и в качестве антидепрессанта для улучшения синтеза нейромедиаторов.

Глутаминовая кислота – является предшественником γ -аминомасляной кислоты (ГАМК), являющейся тормозным медиатором нервной системы (препараты «Аминалон», «Пикамилон»). ГАМК также играет значительную роль в регуляции тонуса мозговых сосудов кровообращения головного мозга. Сам глутамат является нейромедиаторной аминокислотой, стимулирующей передачу возбуждения в синапсах ЦНС. Кроме этого, глутамат участвует в обезвреживании аммиака, синтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, играет ведущую роль в обмене других аминокислот. Потребность организма в глутаминовой кислоте выше всех остальных аминокислот.

Глицин является медиатором ЦНС тормозного действия. Улучшает метаболизм в тканях мозга. Оказывает успокаивающее действие. Нормализует сон, уменьшает повышенную раздражительность, депрессивные состояния.

Цистеин участвует в метаболизме хрусталика глаза. Зачастую нарушения хрусталика связаны с недостатком цистеина, поэтому цистеин применяют на начальных стадиях катаракты.

Комплексный препарат глутаминовой кислоты, цистеина и глицина «Вицеин» используют в виде глазных капель.

Гистидин – условно незаменимая аминокислота. Используется при лечении гепатитов, язв желудка и двенадцатиперстной кишки.

Тетрагидрофолиевая кислота, синтез и использование одноуглеродных групп.

Доказано, что коферментные функции ТГФК непосредственно связаны с переносом одноуглеродных групп, первичными источниками которых в организме являются:

β-углеродный атом серина,
α-углеродный атом глицина,
углерод метальных групп метионина,
холина,
2-й углеродный атом индольного кольца триптофана,
2-й углеродный атом имидазольного кольца гистидина,
формальдегид,
муравьиная кислота,
метанол.

К настоящему времени открыто шесть одноуглеродных групп, включающихся в разнообразные биохимические превращения в составе ТГФК: формильная (-CHO), метильная (-CH₃), метиленовая (-CH₂-), метенильная (-CH=), оксиметильная (-CH₂OH) и формиминовая (-CH=NH).

Выяснено, что присоединение этих фрагментов к ТГФК является ферментативной реакцией ковалентного связывания их с 5 или 10 атомом азота (или с обоими атомами вместе).

Имеются данные, что производные ТГФК участвуют в переносе одноуглеродных фрагментов при биосинтезе метионина и тимина (перенос метильной группы), серина (перенос оксиметильной группы), образовании пуриновых нуклеотидов (перенос формильной группы) и т.д. Недостаточность фолиевой кислоты у человека возникает редко. Гиповитаминоз фолиевой кислоты приводит к нарушению обмена одноуглеродных фрагментов. Такое же нарушение наблюдается и при недостаточности витамина В₁₂, использование которого связано с обменом фолиевой кислоты. Первое проявление дефицита фолиевой кислоты - мегалобластная (макроцитарная) анемия. Она характеризуется уменьшением количества эритроцитов, снижением содержания в них гемоглобина, что вызывает увеличение размера эритроцитов. Причина этих симптомов - нарушение синтеза ДНК и РНК из-за недостатка их предшественников - тимидиловой кислоты и пуриновых нуклеотидов вследствие дефицита производных Н⁴-фолатов. Клетки кроветворной ткани быстро делятся, поэтому они в первую очередь реагируют на нарушение синтеза нуклеиновых кислот снижением скорости эритропоэза. Мегалобластная анемия возникает чаще всего в результате недостаточности фолиевой кислоты и/или витамина В₁₂.

Гомоцистин может накапливаться в крови и тканях, выделяться с мочой, вызывая **гомоцистинурию**. Возможной причиной является наследственное нарушение обмена гомоцистеина либо гиповитаминоз фолиевой кислоты, а также витаминов В₁₂ и В₆.

Недостаточность фолиевой кислоты и витамина В₁₂. Антивитамины фолиевой кислоты. Механизм действия сульфаниламидных препаратов.

Недостаточность фолиевой кислоты у человека возникает редко. Гиповитаминоз фолиевой кислоты приводит к нарушению обмена одноуглеродных фрагментов. Такое же нарушение наблюдается и при недостаточности витамина В₁₂, использование которого связано с обменом фолиевой кислоты. Первое проявление дефицита фолиевой кислоты - мегалобластная (макроцитарная) анемия. Она характеризуется уменьшением количества эритроцитов, снижением содержания в них

гемоглобина, что вызывает увеличение размера эритроцитов. Причина этих симптомов - нарушение синтеза ДНК и РНК из-за недостатка их предшественников - тимидиловой кислоты и пуриновых нуклеотидов вследствие дефицита производных Н4-фолатов. Клетки кроветворной ткани быстро делятся, поэтому они в первую очередь реагируют на нарушение синтеза нуклеиновых кислот снижением скорости эритропоэза. Мегалобластная анемия возникает чаще всего в результате недостаточности фолиевой кислоты и/или витамина В₁₂.

В медицинской практике (в частности, в онкологии) нашли применение некоторые синтетические аналоги (антагонисты) фолиевой кислоты. Так, метотрексат, вызывает выраженное иммуносупрессивное действие даже в относительно низких дозах, не обладающих заметной гематологической токсичностью. Благодаря этому метотрексат шире, чем другие цитостатики с иммуносупрессивной активностью, применяется в качестве иммуносупрессивного препарата. Аминоптерин является наиболее активным цитостатиком-антагонистом фолиевой кислоты; отличается высокой токсичностью, вследствие чего показан лишь при тяжёлых формах псориаза.

Все современные сульфаниламидные препараты сходны между собой по спектру и механизму противомикробного действия. К ним весьма чувствительны стрептококки, стафилококки, пневмококки, гонококки, менингококки, кишечная, дизентерийная, дифтерийная и сибиреязвенная палочки, а также холерные вибрионы, бруцеллы и хламидии (возбудители трахомы и др.).

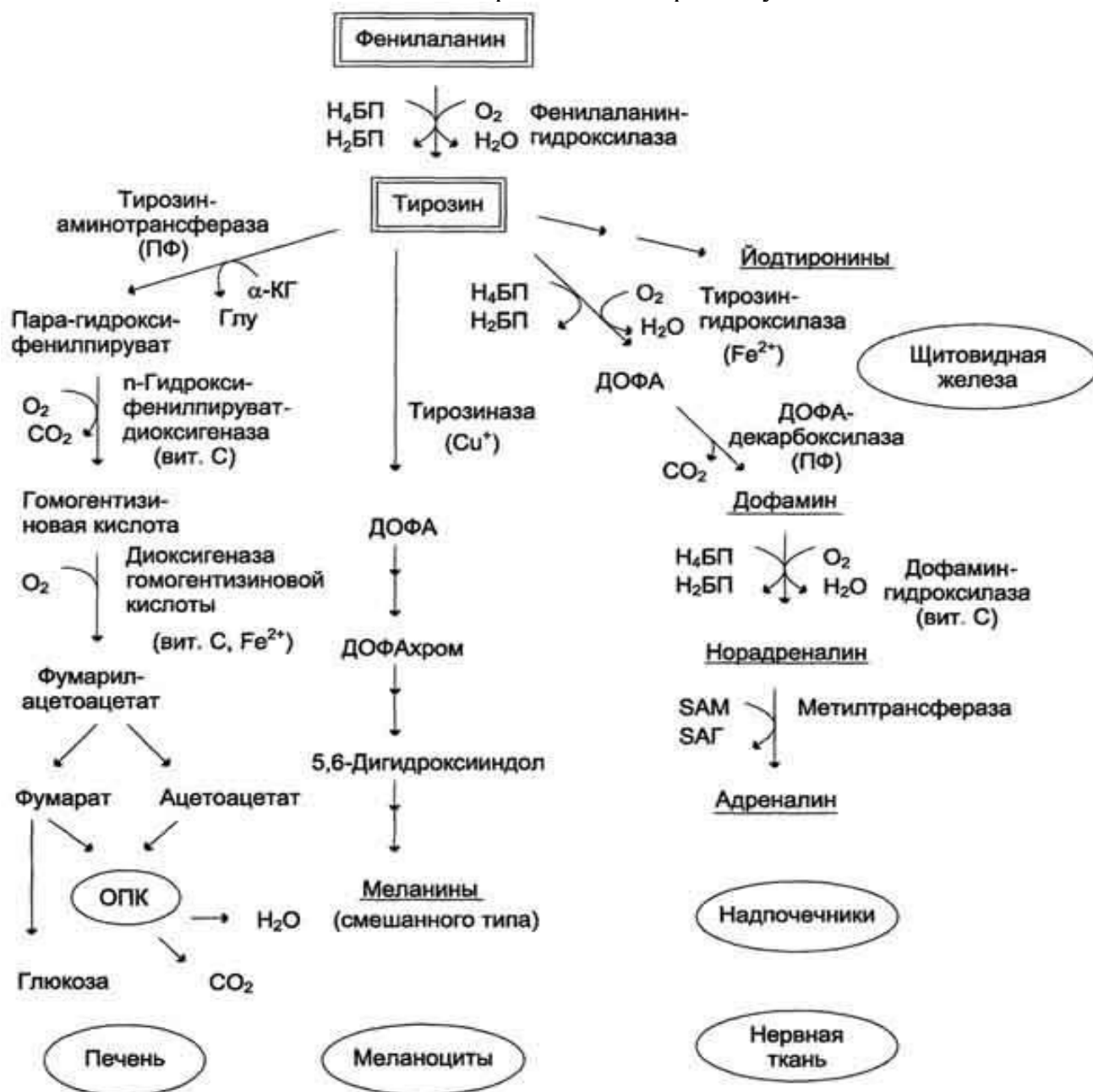
На микроорганизмы сульфаниламиды оказывают бактериостатическое влияние. Механизм бактериостатического действия сульфаниламидов заключается в том, что эти вещества, имея структурное сходство с пара-аминобензойной кислотой (ПАБК), оказываются ее конкурентными антагонистами. ПАБК необходима микроорганизмам для синтеза фолиевой кислоты, которая превращается в фолиниевую кислоту, участвующую в синтезе нуклеиновых кислот. Синтез нуклеиновых кислот, как известно, является основным фактором, обеспечивающим развитие и размножение любых клеток, в том числе микроорганизмов. Замещая ПАБК в процессе синтеза фолиевой кислоты, сульфаниламиды нарушают образование этой кислоты и таким образом препятствуют образованию нуклеиновых кислот, что сопровождается задержкой развития и размножения микроорганизмов.

Для развития клеток организма человека также необходима фолиевая кислота. Однако в отличие от микроорганизмов клетки человека сами не синтезируют фолиевую кислоту, а поглощают ее из крови, в которую эта кислота всасывается из кишечника. Этим объясняется тот факт, что клетки человека практически нечувствительны к действию сульфаниламидов в отличие от микроорганизмов.

Особенностями механизма действия сульфаниламидов объясняется также и то, что в средах с высоким содержанием ПАБК (кровь, гной) антибактериальная активность сульфаниламидов заметно снижается. Аналогичное явление наблюдается в случае применения сульфаниламидов совместно с лекарственными веществами, при распаде которых в организме выделяется ПАБК (например, с новокаином). Действие сульфаниламидов ослабляется также при совместном применении с фолиевой кислотой или с веществами, участвующими в ее синтезе (например, с метионином).

Обмен фенилаланина и тирозина. Все пути превращения в норме. Фенилаланин - незаменимая аминокислота, так как в клетках животных не синтезируется её бензольное кольцо. Тирозин - условно заменимая аминокислота, поскольку образуется из фенилаланина. Содержание этих аминокислот в пищевых белках (в том числе и растительных) достаточно велико. Фенилаланин и тирозин

используются для синтеза многих биологически активных соединений. В разных тканях метаболизм этих аминокислот происходит по-разному.



Метаболизм фенилаланина

Основное количество фенилаланина расходуется по 2 путям:

- включается в белки;
- превращается в тирозин.

Превращение фенилаланина в тирозин прежде всего необходимо для удаления избытка фенилаланина, так как высокие концентрации его токсичны для клеток. Образование тирозина не имеет большого значения, так как недостатка этой аминокислоты в клетках практически не бывает. Основной путь метаболизма фенилаланина начинается с его гидроксилирования, в результате чего образуется тирозин. Эта реакция катализируется специфической монооксигеназой - фенилаланингидроксилазой, кофактором которой служит тетрагидробиоптерин (H_4BP). Активность фермента зависит также от наличия Fe^{2+} . Реакция необратима. H_4BP в результате реакции окисляется в дигидробиоптерин (H_2BP). Регенерация

последнего происходит при участии дигидроптеридинредуктазы с использованием $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Обмен тирозина значительно сложнее, чем обмен фенилаланина. Кроме использования в синтезе белков, тирозин в разных тканях выступает предшественником таких соединений, как катехоламины, тироксин, меланины, и катаболизируется до CO_2 и H_2O .

Катаболизм тирозина в печени

1. В печени происходит катаболизм тирозина до конечных продуктов. Специфический путь катаболизма включает несколько ферментативных реакций, завершающихся образованием фумарата и ацетоацетата. Трансаминирование тирозина с ос-кетоглутаратом катализирует **тирозинаминотрансфераза** (кофермент ПФ) - индуцируемый фермент печени млекопитающих. В результате образуется п-гидроксифенилпируват.

2. В реакции окисления п-гидроксифенилпирувата в гомогентизиновую кислоту происходит декарбоксилирование, гидроксилирование ароматического кольца и миграция боковой цепи. Реакцию катализирует фермент **п-гидроксифенилпируватдиоксигеназа**, кофакторами которого выступают витамин С и Fe^{2+} .

3. Превращение гомогентизиновой кислоты в фумарилацетоацетат сопровождается расщеплением ароматического кольца. Эта реакция катализируется **диоксигеназой гомогентизиновой кислоты**, в качестве кофермента содержащей Fe^{2+} .

Обмен фенилаланина и тирозина связан со значительным количеством реакций гидроксирования, которые катализируют оксигеназы. Ферменты оксигеназы (гидроксилазы) используют молекулу O_2 и кофермент-донор водорода (чаще - $\text{H}_4\text{БП}$). Для катализа оксигеназам необходимы кофакторы - Fe^{2+} или гем (для некоторых - Cu^+), а для многих ещё и витамин С. Оксигеназы делят на 2 группы:

- **Моноксигеназы** - один атом O_2 присоединяют к продукту реакции, другой используют для образования H_2O ;
- **Диоксигеназы** - оба атома O_2 используют для образования продукта реакции.

Почти все процессы расщепления ароматических колец в биологических системах катализируются диоксигеназами, подклассом ферментов, открытым японским биохимиком Осами Хайяши. В результате разрыва бензольного кольца образуется малеилацетоацетат, который в процессе цис- и транс-изомеризации превращается в фумарилацетоацетат.

4. Гидролиз фумарилацетоацетата при действии **фумарилацетоацетатгидролазы** приводит к образованию фумарата и ацетоацетата. Фумарат может окисляться до CO_2 и H_2O или использоваться для глюконеогенеза. Ацетоацетат - кетонное тело, окисляемое до конечных продуктов с выделением энергии.

Превращение тирозина в меланоцитах. В пигментных клетках (меланоцитах) тирозин выступает предшественником тёмных пигментов - меланинов. Среди них преобладают 2 типа: эумеланины и феомеланины. Эумеланины (чёрного и коричневого цвета) - нерастворимые высокомолекулярные гетерополимеры 5,6-дигидроксииндола и некоторых его предшественников. Феомеланины - жёлтые или красновато-коричневые полимеры, растворимые в разбавленных щелочах. Находятся они, в основном, в составе волос. Меланины присутствуют в сетчатке глаз. Цвет кожи зависит от распределения меланоцитов и количества в них разных типов меланинов.

Превращение тирозина в щитовидной железе В щитовидной железе синтезируются и выделяются гормоны йодтиронины: тироксин (тетрайодтиронин) и трийодтиронин. Эти гормоны представляют собой йодированные остатки тирозина, которые попадают в клетки щитовидной железы через базальную мембрану

Превращения тирозина в надпочечниках и нервной ткани (синтез катехоламинов) В мозговом веществе надпочечников и нервной ткани тирозин является предшественником катехоламинов (дофамина, норадреналина и адреналина). При образовании катехоламинов, которое происходит в нервной ткани и надпочечниках, и меланина в меланоцитах промежуточным продуктом служит диоксифенилаланин (ДОФА). Однако гидроксилирование тирозина в клетках различных типов катализируется различными ферментами:

- **Тирозиназа** в меланоцитах является Cu^+ -зависимым ферментом (см. выше).
- **Тирозингидроксилаза** в надпочечниках и катехоламинергических нейронах не нуждается в ионах меди. Это - Fe^{2+} -зависимый фермент, аналогично фенилаланингидроксилазе в качестве кофермента использующий $\text{H}_4\text{БП}$.
- Физиологическая роль тирозингидроксилазы чрезвычайно велика, так как этот фермент является регуляторным и определяет скорость синтеза катехоламинов.
- **Активность тирозингидроксилазы** значительно изменяется в результате:
- Аллостерической регуляции (ингибитор - норадреналин);
- Фосфорилирования/дефосфорилирования: в результате фосфорилирования с участием протеинкиназы А снижаются K_m для кофермента $\text{H}_4\text{БП}$ и сродство фермента к норадреналину, в результате чего происходит активация тирозингидроксилазы.
- **Количество фермента** регулируется на уровне транскрипции.
- **ДОФА-декарбоксилаза** (кофермент - ПФ) катализирует образование дофамина, который при участии **дофамингидроксилазы** (монооксигеназы) превращается в норадреналин. Для функционирования фермента необходимы ионы Cu^+ , витамин С и тетрагидробиоптерин.
- В мозговом веществе надпочечников **фенилэтаноламин-N-метилтрансфераза** катализирует метилирование норадреналина, в результате чего образуется адреналин. Источником метальной группы служит SAM.

Дофамин и норадреналин служат медиаторами в синаптической передаче нервных импульсов, а адреналин - гормон широкого спектра действия, регулирующий энергетический обмен. Одна из функций катехоламинов - регуляция деятельности ССС.

Специфические пути распада фенилаланина и тирозина.

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

Затем тирозин подвергается трансаминированию с образованием п-гидроксифенилпируват. Это п-оксокислота превращается в гомогентизиновую кислоту с помощью диоксигеназной ферментативной системы. Ароматическое кольцо гомогентизиновой кислоты расщепляется ферментом гомогентизатоксидазой и через ряд реакций образуются конечные продукты - фумарат и ацетоацетат. Но тирозин может подвергаться гидроксилированию в диоксифенилаланин (ДОФА), который может быть началом синтеза катехоламинов в мозговом слое надпочечников и нервной ткани, а в коже, радужке глаза, волосах при участии тирозиназы образуется

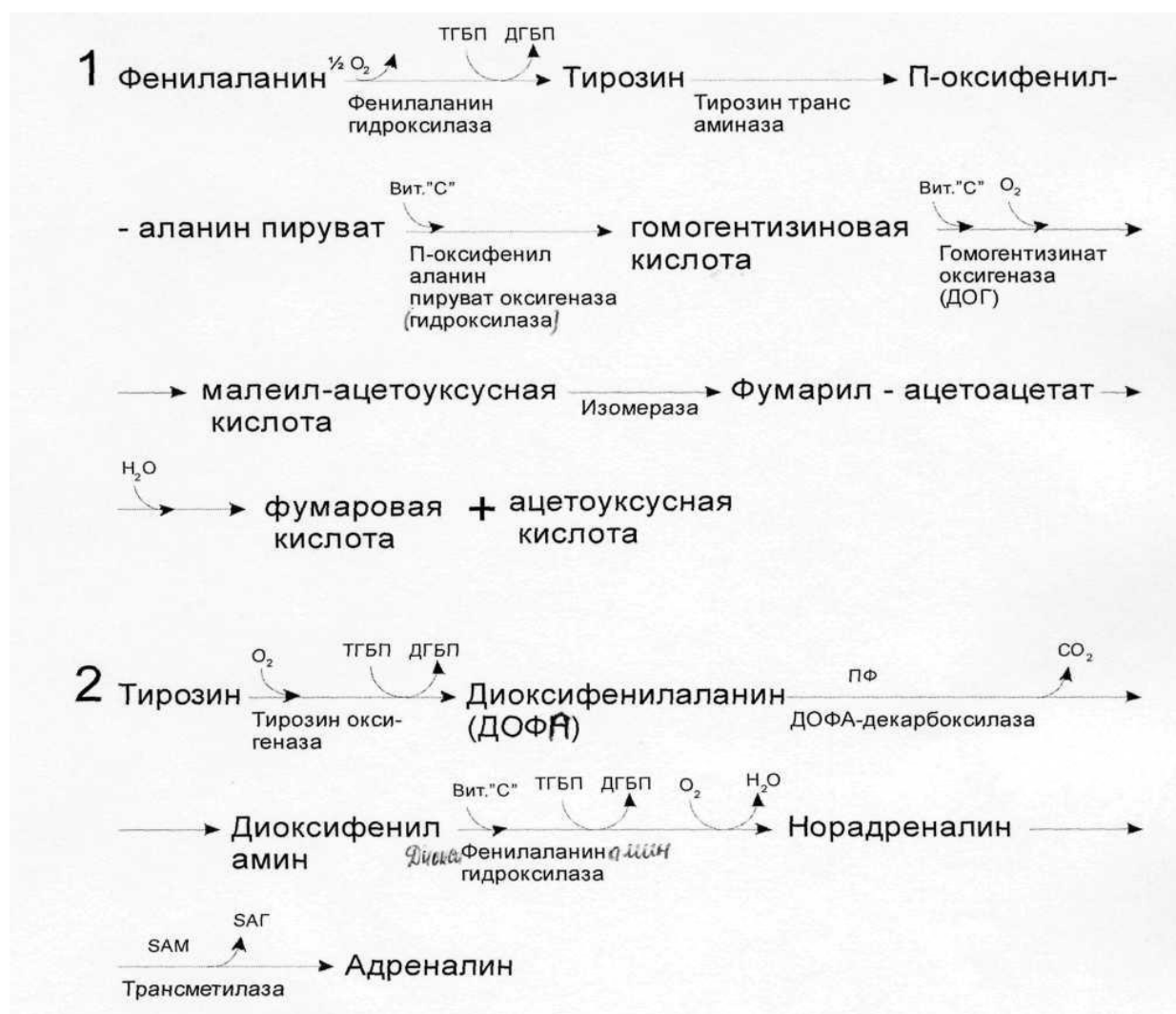
через дофахром пигмент меланин, в щитовидной железе тирозиновые остатки тиреоглобулина, подвергаясь йодированию используются в синтезе T_4, T_3 .

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

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

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

При дефекте тирозиназы не синтезируется пигмент меланин, развивается альбинизм.



Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Назовите метаболиты, образующиеся из тирозина.

2. Какова судьба фумарата и ацетоацетата?
3. Причины возникновения фенилкетонурии.
4. Причины развития алкаптонурии.
5. Напишите активную форму метионина, покажите его использование в процессе синтеза креатинина.
6. Напишите реакции синтеза креатина
7. Объясните роль ТГФК и вит В₁₂.
8. Схема образования цистеина и его дальнейшее превращение.

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Определение креатина в моче по Фолину.

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

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

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

Качественная реакция гомогентизиновую кислоту.

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

Методика выполнения: В две пробирки вносят в первую - 1 каплю мочи здорового человека; во вторую - каплю мочи больного алькаптонурией. В каждую пробирку добавляют по 5 капель воды и по 2 капли раствора фосфата калия и молибденового реактива. Содержимое пробирок смешивают встряхиванием и отмечают результаты.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

Самостоятельная работа студентов

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

Задание для внеаудиторной самостоятельной работы

Список используемой литературы

Обязательная

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

Дополнительная

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

ЗАНЯТИЕ №3.

ТЕМА: Пути накопления и обезвреживания аммиака в организме человека. Специфические пути катаболизма аминокислот

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

1. Дидактические:

Студент должен знать:

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

Студент должен уметь:

1. Написать реакции окислительного прямого дезаминирования и трансдезаминирования.
2. Дезаминирование.
3. Изобразить схематично пути нейтрализации аммиака.
4. Написать реакции амидирования.

5. Написать уравнения реакций синтеза мочевины, нуждающихся в энергии АТФ.

6. Объяснить источники атомов азота молекулы мочевины.

7. Описать наследственные патологии - энзимопатии в цикле синтеза мочевины.

8. Определить содержание мочевины в исследуемой моче, рассчитать суточное выделение мочевины, интерпретировать полученные результаты.

Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

2. Обучающие:

Основные вопросы:

1. Источники и пути образования аммиака.

а). Деаминация аминокислот;

б). Гидролитическое деаминация пуриновых оснований.

2. Пути обезвреживания аммиака:

а) амидирование аминокислот;

б) восстановительное аминирование;

в) синтез мочевины;

г) глюкозо-аланиновый путь;

д) образование аммонийных солей;

е) синтез креатинина.

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

4. Мочевинообразование (орнитиновый цикл) - основной путь детоксикации аммиака. Значение мочевины в метаболических процессах.

5. Функциональная взаимосвязь ЦТК и цикла мочевинообразования.

6. Гиперазотемия, причины.

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Определение мочевины в исследуемой моче.

Наглядные пособия: *таблицы*

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.

2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.

3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.

4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.

5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.

6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

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

Актуальность темы занятия

Дезаминирование - один из общих путей катаболизма, при котором от аминокислоты отщепляется аминогруппа в виде NH_3 . В организме человека и животных основным видом дезаминирования является окислительное. Окислительное дезаминирование может быть прямым и косвенным.

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

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

Косвенное дезаминирование (трансдезаминирование) идет в два этапа:

1. Трансаминирование - аминные группы принимаются кетоглутаратом, образуя глутаминовую кислоту; катализируют реакцию соответствующие трансаминазы.

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

Аммиак (NH_3) – продукт обмена большинства соединений, содержащих амин- и амидогруппы. Главным путём образования аммиака служит окислительное дезаминирование.

Аммиак – очень токсичное вещество, особенно для нервной системы.

Токсичность проявляется: а) В снижении активности ЦТК, поскольку аммиак способен к реакции восстановительного аминирования α -кетоглутарата с образованием глутаминовой кислоты. В результате α -кетоглутарат отвлекается от ЦТК, что может привести к снижению образования оксалоацетата, накоплению ацетил-КоА, кетонемии и ацидозу. Кроме того, ослабляется поток протонов и

электронов в дыхательную цепь, снижается продукция АТФ. Это приводит к нарушению функции мозга и развитию комы.

б) Аммиак протонируется, образуется NH_4^+ , обладающий основными свойствами и может произойти сдвиг рН в щелочную сторону (алкалоз).

в) Реакции восстановительного аминирования α -кетоглутарата приводят к образованию глутаминовой кислоты, а затем глутамина. Накопление глутамина в клетках ЦНС приводит к отёку мозга.

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

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

Свободный NH_3 образуется при:

1. Окислительном дезаминировании аминокислот
2. Трансдезаминировании аминокислот
3. Дезаминировании амидов (глутамина и аспарагина).
4. Дезаминировании биогенных аминов.
5. Распада пуриновых и пиримидиновых оснований.
6. Распаде аминосахаров и азотсодержащих липидов.
7. Синтезе гема.
8. В процессе гниения аминокислот на уровне толстого кишечника и поступлении NH_3 из кишечника в портальную вену.

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

При физиологических значениях рН молекула NH_3 легко превращается в ион аммония NH_4^+ , который не способен проникать через биологические мембраны и задерживается в клетке. Накопление NH_4^+ вызывает торможение заключительных этапов цикла трикарбоновых кислот и снижение продукции АТФ. Поэтому в организме существует ряд механизмов связывания (обезвреживания) аммиака.

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

1. Амидирование - связывание аммиака с дикарбоновыми кислотами (аспаратом и глутаматом) с образованием соответствующих амидов глутамина и аспарагина (транспортные формы аммиака). В частности глутамин является донором амидной группы азотсодержащих оснований (пуриновых и пиримидиновых), глюкозамина, триптофана, основным источником амидной группы для конечного обезвреживания NH_3 в почках в виде аммонийных солей, а в печени - образования мочевины.

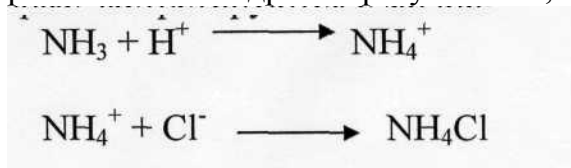
2) Восстановительного аминирования α -кетоглутарата и оксалоацетата с образованием заменимых аминокислот. Этот процесс особенно активен в мышцах и в печени.

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

1. Образование аммонийных солей (в почках).

2. Синтез мочевины в печени.

3. Синтез креатина и креатинина в печени и мышцах. Образовавшийся глутамин в почках с участием фермента глутаминазы высвобождает NH_3 , который протонируется в NH_4^+ (ион аммония). Ионы аммония присоединяя анионы Cl^- , фосфорной кислоты и др. и образуют соли, которые экстретируются с мочой.



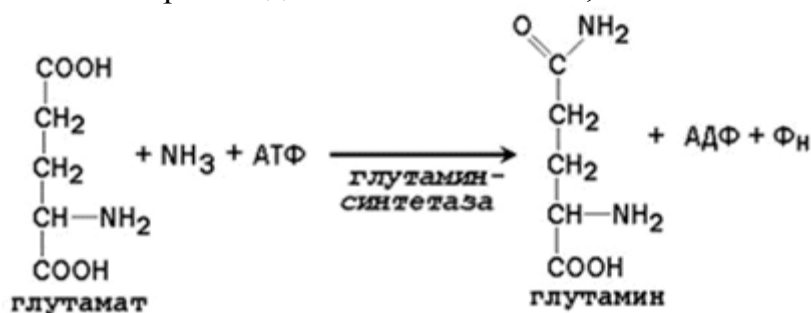
За сутки удаляется с мочой до 1-2 г солей. Очень важно, что при этом сберегаются ионы Na, K, Mg, и др.

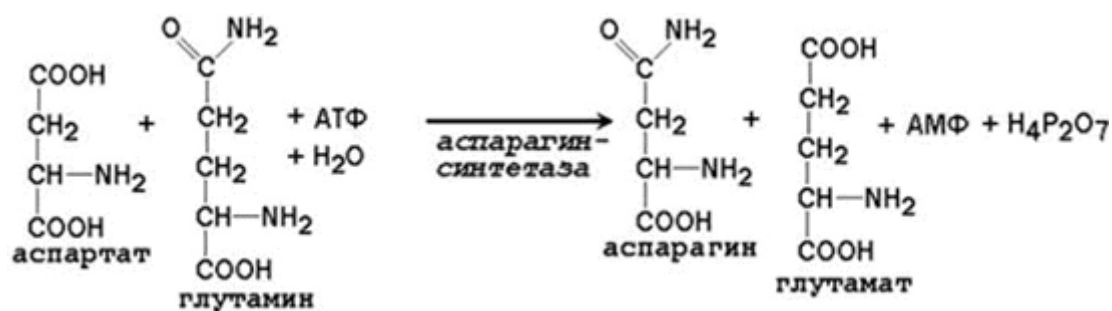
Образование аммиака в организме и его обезвреживание.



Образование транспортных форм аммиака в тканях. Аммиак, образующийся в тканях, сначала превращается в нетоксичное соединение и в таком виде переносится кровью к печени или почкам. Такими транспортными формами являются аминокислоты глутамин, аспарагин и аланин.

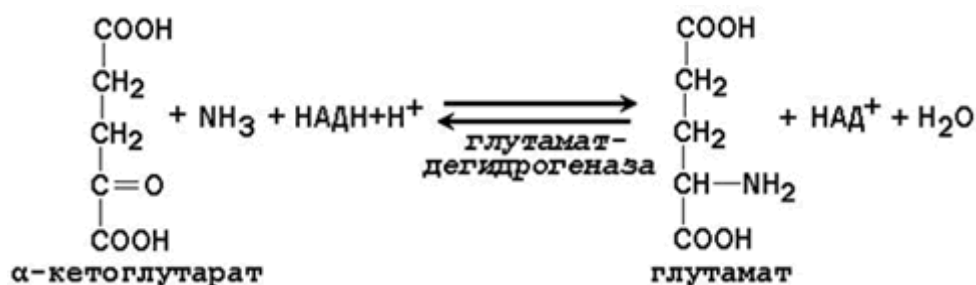
Образование **глутамина и аспарагина** из глутамата и аспартата соответственно происходит во многих тканях, включая головной мозг:



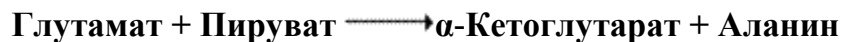


Глутамин - нейтральное нетоксичное соединение, способное легко проходить через клеточные мембраны. В виде этой аминокислоты аммиак транспортируется в крови. В крови здоровых людей содержание глутамина существенно превышает содержание других аминокислот. Глутамин, помимо участия в синтезе белка, служит источником азота в биосинтезе гистидина, глюкозамина, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. С кровью глутамин поступает в печень и почки. Здесь он под действием фермента глутаминазы превращается в глутамат и аммиак. При участии аспарагиназы также происходит образование аммиака из аспарагина.

Аланин является транспортной формой аммиака, которая образуется преимущественно в мышцах. При интенсивной физической нагрузке источниками аммиака служат реакции дезаминирования аминокислот и аденозинмонофосфата (АМФ). Сначала аммиак превращается в аминогруппу глутамата в реакции **восстановительного аминирования** (см. параграф 2.1.2), катализируемой глутаматдегидрогеназой:



Образовавшийся глутамат переносит затем свою α-аминогруппу на пируват, всегда имеющийся в достаточном количестве, поскольку это продукт протекающего в мышцах гликолиза. Реакция катализируется аланинаминотрансферазой.



Аланин (нейтральная аминокислота, не несущая суммарного заряда при значениях pH, близких к 7) выходит из клеток и доставляется кровью к печени. Здесь он под действием аланинаминотрансферазы передаёт свою аминогруппу α-кетоглутарату, в результате чего образуется глутамат.



Далее в реакции, катализируемой глутаматдегидрогеназой, глутамат дезаминируется с образованием α-кетоглутарата и аммиака, который в печени превращается в мочевины.

Экскреция аммиака с мочой. Клетки почек поглощают из циркулирующей крови глутамин. Фермент глутаминаза в почках катализирует гидролиз глутамина с образованием глутамата и аммиака.



Образующийся глутамат может в дальнейшем подвергаться дезаминированию при участии глутаматдегидрогеназы. Таким образом, из одной молекулы глутамина всего может образоваться две молекулы аммиака.

Аспарагин аналогичным образом подвергается гидролизу при участии аспарагиназы, присутствующей в клетках канальцев почек.

Аммиак секретируется в просвет почечных канальцев и выводится в виде солей минеральных и органических кислот, например:



Образование солей аммония в почечных канальцах является важным механизмом регуляции кислотно-основного состояния организма. Оно резко возрастает при метаболическом ацидозе - накоплении в организме кислот и снижается при потере кислот организмом (алкалозе).

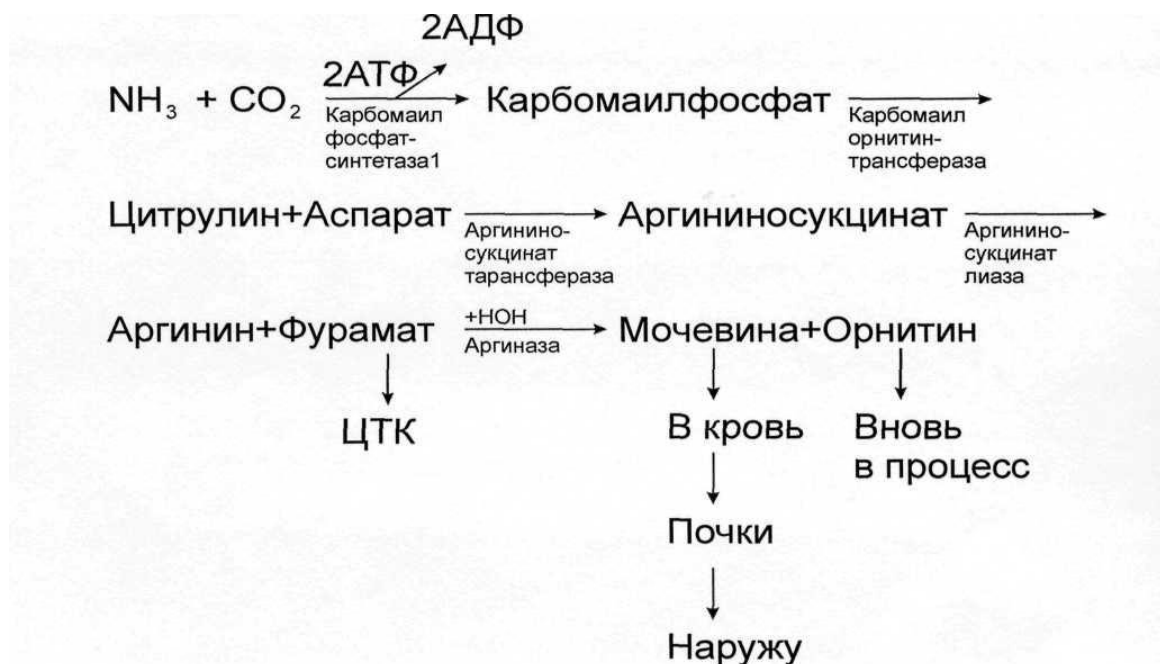
Биосинтез мочевины (урогенез) – основной путь обезвреживания аммиака. Мочевина синтезируется в орнитиновом цикле, протекающем в клетках печени. Эту последовательность реакций открыли Х.Кребс и К.Хензелейт в 1932 г. Циклический процесс, именуемый **орнитиновым циклом**, протекает от начальной реакции и до конечного результата в печени (гепатоците). Ферменты процесса локализуются в митохондриях и в цитозоле. Транспортируется аммиак к гепатоциту в виде аланина и глутамина, а так же свободного NH_3 .

На первом этапе синтеза мочевины образуется активная форма NH_3 , на что расходуется энергия АТФ. Карбомаилфосфат (активная форма) взаимодействует с орнитином, образует цитрулин, катализирует процесс фермент - орнитинкарбомаилтрансфераза.

Дальнейшие реакции протекают в цитоплазме. Цитрулин при участии аргининосукцинатсинтетазы взаимодействует с аспартатом, образуя аргининосукцинат, при этом затрачивается АТФ. Аргининосукцинат ферментом аргининосукцинатлиазой расщепляется на аргинин и фумарат. Аргинин аргиназой расщепляется на орнитин и мочевины. Орнитин вновь включается в уреогенез, мочевины простой диффузией по градиенту концентрации выходит из клеток в кровь и выделяется с мочой (около 30г/сут). Фумарат через малатдегидрогеназную реакцию в ЦТК окисляется до оксалоацетата с образованием 1 молекулы $\text{НАДН}^+(\text{H}^+)$, продуцирующей 3 АТФ. Образовавшийся оксалоацетат включается в трансаминирование с глутаматом, образуя аспартат, который и включается в цикл, путь анаплероза. Два азота мочевины имеют следующее происхождение: один азот поступает из кишечника и периферических тканей и включается через

карбамоилфосфат. Другой азот поступает в цикл мочевины через аспарат. Лимитирующими реакциями синтеза мочевины являются:

- 1) карбамоилфосфатсинтетазная;
- 2) орнитинкарбамоилтрансферазная;
- 3) аргиназная.



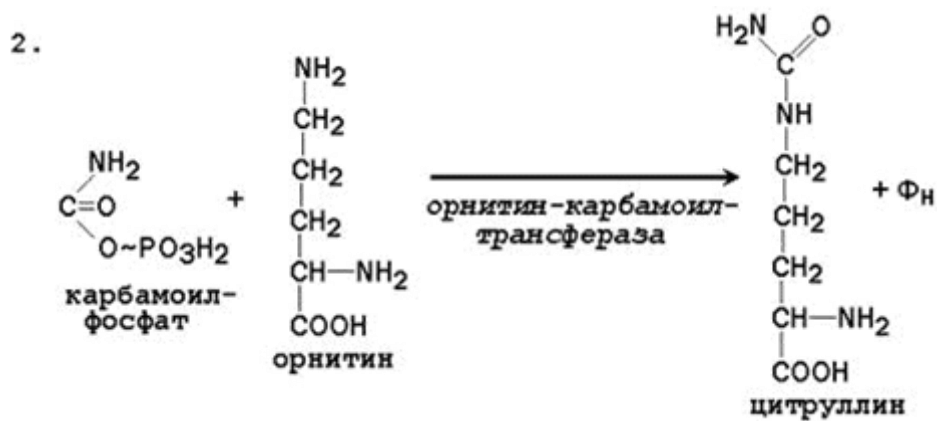
Врожденная недостаточность одного из ферментов уреогенеза приводит к развитию гиперазотемии. К гиперазотемии могут привести также: печеночная недостаточность, почечная патология, патологически активные процессы тканевого катаболизма (опухоли, травмы и др.), патология кишечника.

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

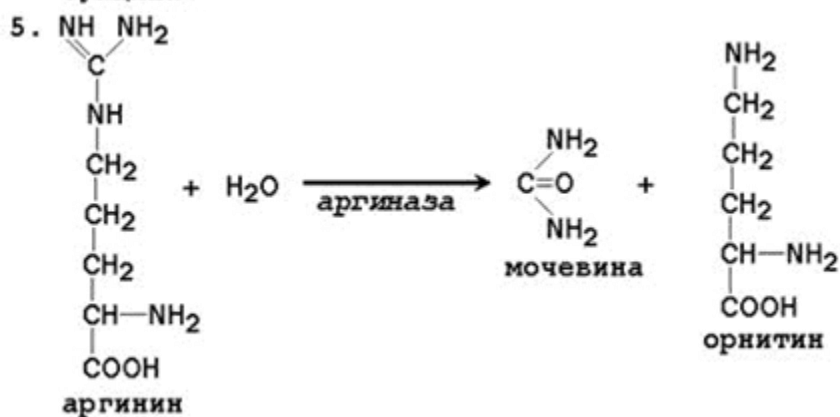
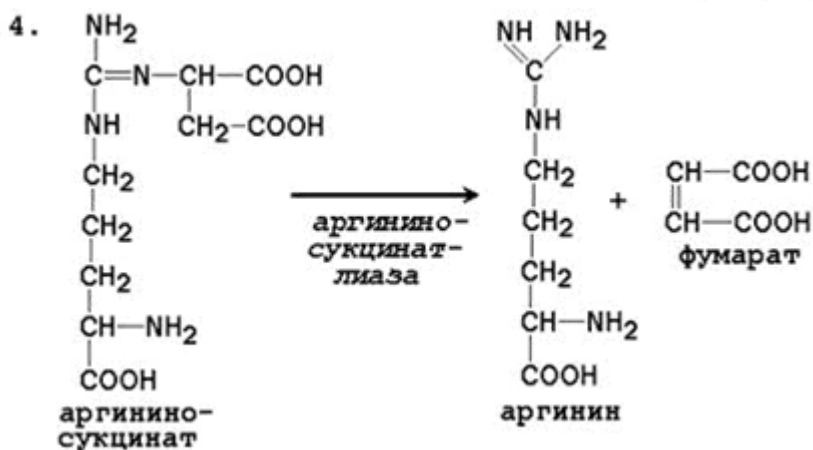
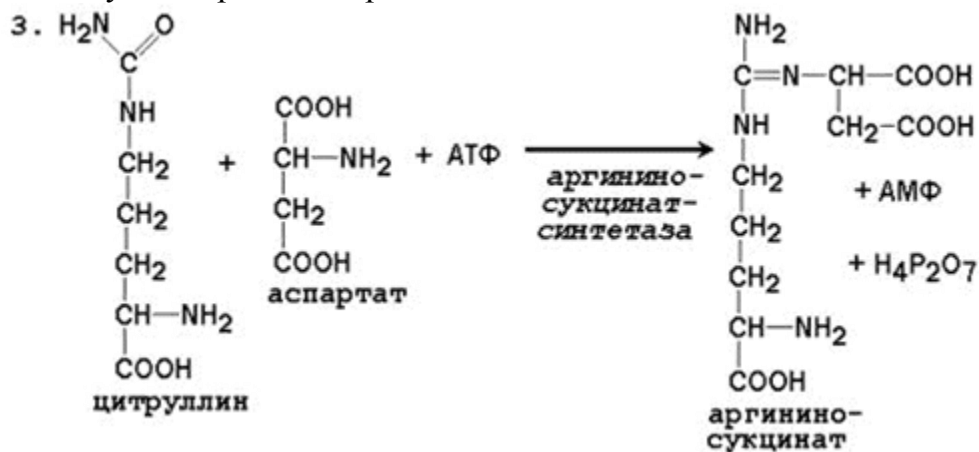
Согласно современным представлениям, цикл мочевины включает последовательность пяти реакций.

Две начальные реакции биосинтеза мочевины происходят в митохондриях клеток печени.

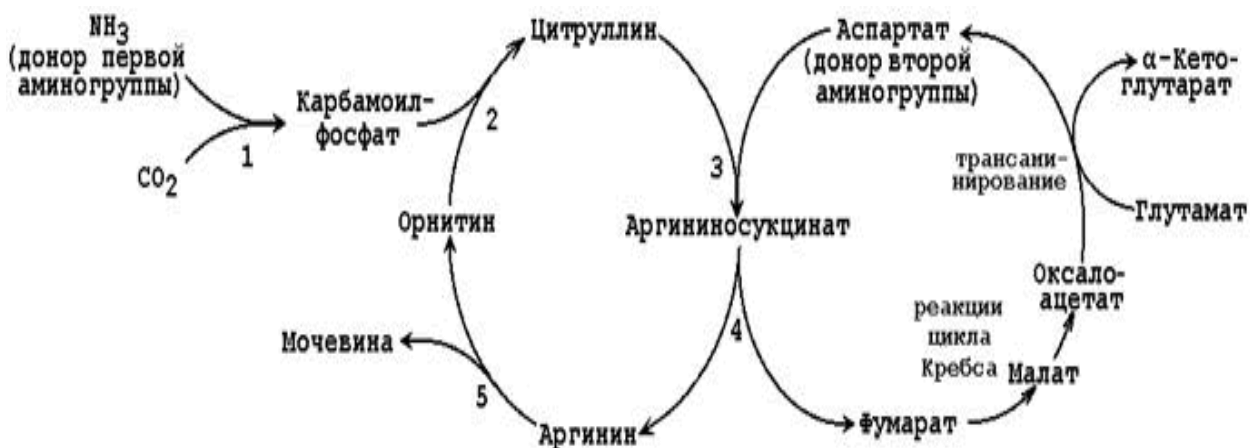




Последующие реакции протекают в цитоплазме клеток печени.



Общая схема орнитинового цикла его связь с превращениями фумаровой и аспарагиновой кислот.

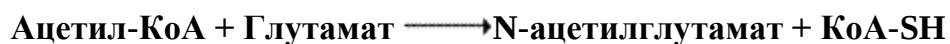


Цифрами обозначены ферменты, катализирующие реакции орнитинового цикла: 1 – карбамоилфосфатсинтетаза; 2 – орнитин-карбамоилтрансфераза; 3 – аргининосукцинатсинтетаза; 4 – аргининосукцинатлиаза; 5 – аргиназа.

Орнитиновый цикл находится в тесной **взаимосвязи с циклом трикарбоновых кислот**:

1. пусковые реакции цикла мочевины, как и реакции ЦТК, протекают в митохондриальном матриксе;
2. поступление CO_2 и АТФ, необходимых для образования мочевины, обеспечивается работой ЦТК;
3. в цикле мочевины образуется фумарат, который является одним из субстратов ЦТК. Фумарат гидратируется в малат, который в свою очередь окисляется в оксалоацетат. Оксалоацетат может подвергаться трансаминированию в аспартат; эта аминокислота участвует в образовании аргининосукцината.

Регуляция активности ферментов цикла осуществляется главным образом на уровне карбамоилфосфатсинтетазы, которая малоактивна в отсутствие своего аллостерического активатора - **N-ацетил-глутамата**. Концентрация последнего зависит от концентрации его предшественников (ацетил-КоА и глутамата), а также аргинина, который является аллостерическим активатором N-ацетилглутаматсинтазы:



Концентрация ферментов орнитинового цикла зависит от содержания белка в пищевом рационе. При переходе на диету, богатую белком, в печени повышается синтез ферментов орнитинового цикла. При возвращении к сбалансированному рациону концентрация ферментов снижается. В условиях голодания, когда усиливается распад тканевых белков и использование аминокислот как энергетических субстратов, возрастает продукция аммиака, концентрация ферментов орнитинового цикла увеличивается.

Нарушения орнитинового цикла. Известны метаболические нарушения, обусловленные частичным блокированием каждого из 5 ферментов, катализирующих в печени реакции синтеза мочевины, а также N-ацетилглутаматсинтазы. Эти генетические дефекты, очевидно, являются частичными. Полное блокирование какой-либо из стадий цикла мочевины в печени, по-видимому, несовместимо с жизнью, потому что другого эффективного пути удаления аммиака не существует.

Общим признаком всех нарушений синтеза мочевины является повышенное содержание NH_4^+ в крови (**гипераммониемия**). Наиболее тяжёлые клинические проявления наблюдаются при дефекте фермента карбамоилфосфатсинтетазы. Клиническими симптомами, общими для всех нарушений цикла мочевины, являются рвота, нарушение координации движений, раздражительность, сонливость и умственная отсталость. Если заболевание не диагностируется, то быстро наступает гибель. У детей старшего возраста проявлениями заболевания служат повышенная возбудимость, увеличение размеров печени и отвращение к пище с высоким содержанием белка.

Лабораторная диагностика заболеваний включает определение содержания аммиака и метаболитов орнитинового цикла в крови, моче и спинномозговой жидкости; в сложных случаях прибегают к биопсии печени.

Значительное улучшение наблюдается при ограничении белка в диете, при этом могут быть предотвращены многие нарушения мозговой деятельности. Малобелковая диета приводит к снижению содержания аммиака в крови и к улучшению клинической картины при мягких формах этих наследственных нарушений. Пищу следует принимать часто, небольшими порциями, для того чтобы избежать резкого повышения уровня аммиака в крови.

Клинико-диагностическое значение определения мочевины в крови и моче. В крови здорового человека содержание мочевины составляет 3,33 – 8,32 ммоль/л. За сутки с мочой выводится 20 – 35 г мочевины.

Изменения содержания мочевины в крови при заболеваниях зависят от соотношения процессов её образования в печени и выведения почками. Повышение содержания мочевины в крови (**гиперазотемия**) отмечается при почечной недостаточности, снижение – при недостаточности печени, при диете с низким содержанием белков.

Повышение экскреции мочевины с мочой наблюдается при употреблении пищи с высоким содержанием белков, при заболеваниях, сопровождающихся усилением катаболизма белков в тканях, при приёме некоторых лекарств (например, салицилатов). Снижение экскреции мочевины с мочой характерно для заболеваний и токсических поражений печени, заболеваний почек, сопровождающихся нарушением их фильтрационной способности.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

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

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Определение мочевины в моче

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

Методика выполнения: Пипетки и пробирки должны быть обязательно сухими. В пробирку наливают микропипеткой 0,2 мл мочи, добавляют 1,2 мл 2%-ного раствора парадиметиламинобензальдегида и тщательно перемешивают. Через 15 минут пробу фотометрируют в сухих кюветах шириной 3 мм с синим светофильтром против воды. По калибровочному графику определяют концентрацию мочевины в 100 мл мочи. Рассчитывают мочевины в г/сут. Коэффициент пересчёта в единицы СИ (ммоль/сут.) равен 16,65. В N за сутки выделяется 20-30 грамм или 333-583 ммоль/л, мочевины.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

Самостоятельная работа студентов

1. Возможные варианты изменения концентрации мочевины в моче и крови.
2. нарушения синтеза мочевины (энзимопатии).

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

Список используемой литературы

Обязательный:

1. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
2. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
3. Северин Е.С, Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
4. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

1. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
2. Страйер. Руководство по биохимии.
3. Ленинджер. Биохимия.
4. Вельтищев. Обмен веществ у детей.
5. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

ЗАНЯТИЕ №4

ТЕМА: Обмен нуклеопротеидов: катаболизм нуклеиновых кислот, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Определение мочевой кислоты методом «сухой химии».

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

1. Структурную организацию нуклеотидов.
2. Мономеры, используемые на синтез ДНК, РНК.
3. Основной синтез мононуклеотидов (АМФ, ГМФ).
4. «Запасные пути» синтеза нуклеотидов. Ферменты этих процессов.
5. Ферментативный гидролиз экзогенных нуклеотидов в ЖКТ, конечные продукты, их судьба.
6. Катаболизм нуклеотидов на уровне клетки.
7. Конечный продукт катаболизма пуриновых нуклеотидов, его физико-химические свойства, концентрация в крови в норме.
8. Роль процессов «реутилизации» пуриновых нуклеотидов в сохранении малых концентраций мочевой кислоты.
9. Патобиохимические основы развития подагры и синдрома Леша-Нихана.
10. Основные принципы лечения подагры.
11. Синтез УМФ.
12. Особенности синтеза ТМФ.
13. Роль ТГФК в синтезе ТМФ.
14. «Запасные пути» синтеза пиримидиновых нуклеотидов.
15. Распад пиримидиновых нуклеотидов.
16. Конечные продукты катаболизма пиримидиновых нуклеотидов, их судьба.

Студент должен уметь:

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

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

1. Гидролитическое расщепление нуклеопротеидов в ЖКТ, ферменты этого процесса.
2. Синтез и распад пуриновых нуклеотидов на тканевом уровне.
3. Синтез и распад пиримидиновых нуклеотидов в тканях. Роль оротовой кислоты в этом процессе.
4. Конечные продукты метаболизма нуклеотидов, их судьба.
5. Молекулярная патология (подагра, синдром Леша-Нихана, оротатацидурия).

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Обнаружение мочевой кислоты в моче.
2. Мурексидная реакция.

Наглядные пособия: *таблицы*

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Азотистые основания пуринового и пиримидинового ряда, входящие в структуру мононуклеотидов.
2. Структурная организация ДНК.
3. Структурная организация РНК.
4. Гидролитическое расщепление пищевых нуклеотидов, ферменты.
5. Конечные продукты гидролиза, их судьба.
6. Распад АМФ в клетке, ферменты, локализация процесса.
7. Конечный продукт тканевого распада пуриновых нуклеотидов, его физико-химические свойства, концентрация в крови в норме.
8. Причины гиперурикемии и соответственно развитие подагры и синдрома Леша - Нихана.
9. Написать основной путь синтеза пуриновых нуклеотидов.
10. «Запасные пути синтеза» пуриновых нуклеотидов.
11. Регуляция процессов синтеза и катаболизма пуриновых нуклеотидов.
12. Написать синтез УМФ, ферменты, локализация процесса.
13. Синтез ТМФ, особенности синтеза, роль ТГФК.
14. Регуляция ферментов синтеза пиримидиновых нуклеотидов.

15. Что такое оротацидурия?
16. Написать пути катаболизма пиримидиновых нуклеотидов.
17. Конечные продукты катаболизма пиримидиновых нуклеопротеидов, их судьба.

Актуальность темы занятия

Нуклеопротеины – это сложные белки, небелковым компонентом которых являются нуклеиновые кислоты – ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) или РНК (рибонуклеиновая кислота). В живом организме нуклеиновые кислоты находятся в диссоциированном состоянии. В составе белковых компонентов очень много положительно заряженных аминокислот – аргинина и лизина, поэтому их можно отнести к поликатионам (гистоны). Белковые компоненты подвергаются обмену, как простые белки.

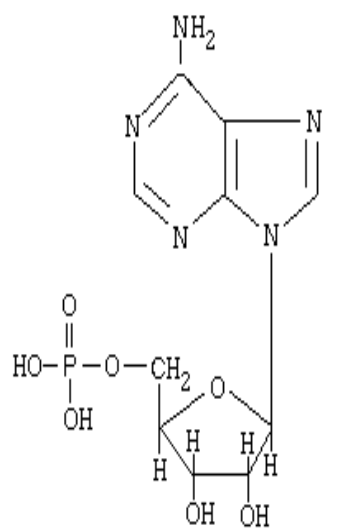
Обмен нуклеиновых кислот

Молекулы нуклеиновых кислот заряжены отрицательно, поэтому они образуют с положительно заряженными белковыми компонентами ионные связи.

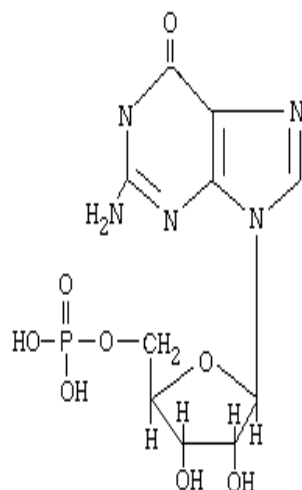
Нуклеиновые кислоты – линейные (реже – циклические) гетерополимеры, их мономерами являются моонуклеотиды. Моонуклеотид состоит из трех частей: 1) азотистого основания (у всех нуклеиновых кислот), пентозы (рибозы у РНК или дезоксирибозы у ДНК) - вместе они составляют нуклеозид, и остатка фосфорной кислоты. Номенклатура различных моонуклеотидов представлена в таблице, а их строение - на рисунках.

НОМЕНКЛАТУРА НУКЛЕОТИДОВ

Азотистое основание	Нуклеозид	Нуклеотид
Аденин	Аденозин	аденозинмонофосфат(АМФ)
Гуанин	Гуанозин	гуанозинмонофосфат(ГМФ)
Урацил	Уридин	уридинмонофосфат (УМФ)
Тимин	Тимидин	тимидинмонофосфат (ТМФ)
Цитозин	Цитидин	цитидинмонофосфат (ЦМФ)

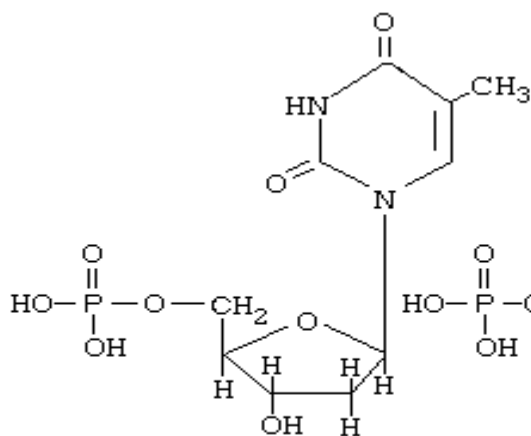


аденозинмонофосфат (АМФ)

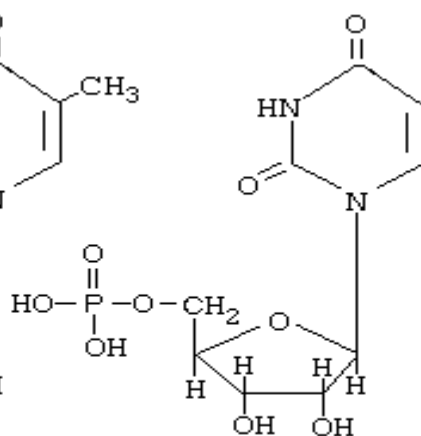


гуанозинмонофосфат (ГМФ)

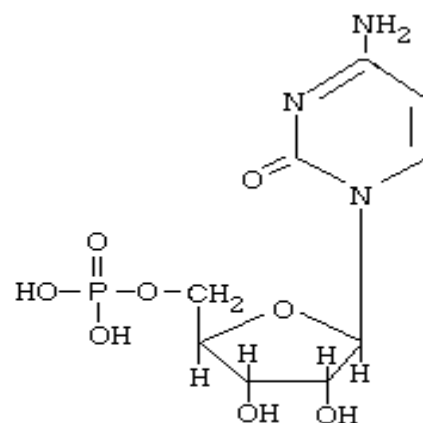
ГМФ встречается только в ДНК, а УМФ - только в РНК. Если в составе мононуклеотида имеется дезоксирибоза, то в начало его названия добавляется приставка “дезокси-“.



тимидинмонофосфат
(встречается только в ДНК)



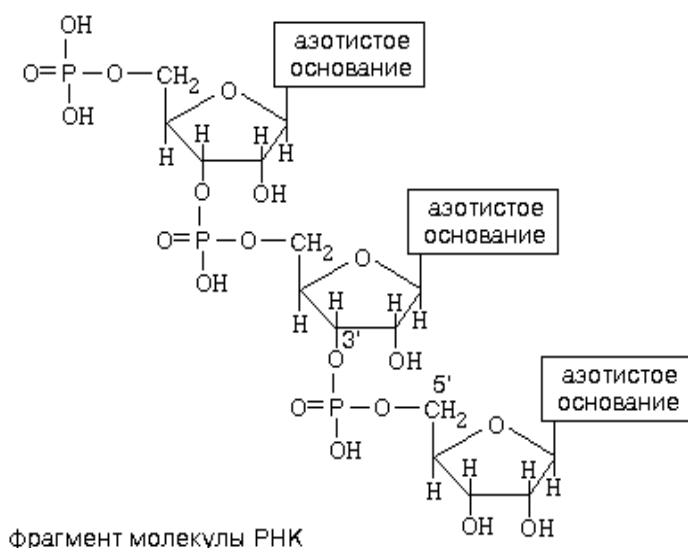
уридинмонофосфат
(встречается только в РНК)



цитидинмонофосфат

В составе нуклеиновых кислот мононуклеотиды связаны 3',5'-фосфодиэфирными связями между рибозами (дезоксирибозами) соседних мононуклеотидов через остаток фосфорной кислоты (смотрите рисунок «фрагмент молекулы РНК»). Поэтому, если молекула нуклеиновой кислоты не является циклической, концы ее различны.

Один из них обозначается как 3'-конец, а другой – 5'-конец. Начальным считается 5'-конец.



Молекулярная масса нуклеиновых кислот сильно варьирует, но в целом очень большая, особенно у ДНК. В ядре клетки человеческого организма содержится 46 молекул ДНК, в составе каждой из них – 3,5 миллиарда пар мононуклеотидов. В митохондриях есть циклическая ДНК, ее молекула содержит 16 тысяч пар мононуклеотидов. Сначала была расшифрована структура митохондриальной ДНК. В ней закодирована информация о строении 13-ти полипептидных цепей, 2-х рибосомальных РНК и 22-х транспортных РНК. Поскольку митохондриальная ДНК не связана с белковыми компонентами, она сильнее подвержена мутациям, по сравнению с ядерной. Известно много митохондриальных генетических заболеваний, связанных с ее мутациями, проявляющихся нарушениями тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. В отличие от ядерной РНК, наследование таких нарушений идет только по материнской линии.

Общее количество белков, закодированных в человеческой ДНК, не превышает 100 тысяч. В настоящее время геном человека полностью расшифрован.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ.

1. ДНК: хранение генетической информации.

2. У РНК функции более многообразны:

а) хранение генетической информации (информосомы, некоторые РНК-вирусы;

б) реализация генетической информации: и-РНК (м-РНК) - информационная (матричная), т-РНК (транспортная), р-РНК (рибосомальная). Все они обслуживают процесс синтеза белка.

в) каталитическая функция: некоторые молекулы РНК способны катализировать реакции гидролиза 3',5'-фосфодиэфирной связи в самой молекуле РНК. Показано, что некоторые молекулы РНК способны одним своим участком катализировать гидролиз фосфодиэфирных связей другого участка своей молекулы. Такое явление обозначается термином «самосплайсинг». Каталитические РНК называют рибозимами.

ФУНКЦИИ МОНОНУКЛЕОТИДОВ.

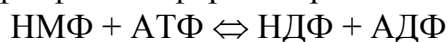
1. Структурная.

Из мононуклеотидов построены нуклеиновые кислоты, некоторые коферменты и простетические группы ферментов.

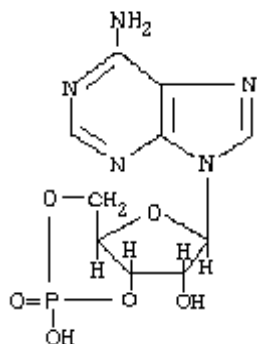
2. Энергетическая.

Мононуклеотиды удерживают макроэргические связи - являются аккумуляторами энергии. АТФ - это универсальный аккумулятор энергии, энергия УТФ используется для синтеза гликогена, ЦТФ - для синтеза липидов, ГТФ - для движения рибосом в ходе трансляции (биосинтез белка) и передачи гормонального сигнала (G-белок).

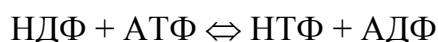
Синтез АТФ из АДФ происходит двумя способами: окислительное и субстратное фосфорилирование, синтез любых других нуклеотидтрифосфатов (НТФ) из дифосфатных форм - через АТФ путем переноса фосфата:



Фермент: нуклеотидмонофосфокиназа



циклический АМФ
(3,5-цАМФ)



Фермент: нуклеотиддифосфокиназа

Эти переходы протекают очень легко.

3. Регуляторная.

Мононуклеотиды - аллостерические эффекторы многих ключевых ферментов, цАМФ и цГМФ являются посредниками в передаче гормонального сигнала при действии многих гормонов на клетку (аденилатциклазная система), они активируют протеинкиназы.

Азотистое основание аденин является более универсальным, чем остальные: у него такое взаимное расположение аминогруппы с фосфатом, что возможен синтез АТФ из АДФ и неферментативным путем.

ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты в организме постоянно обновляются. В норме синтез и распад находятся в состоянии динамического равновесия.

КАТАБОЛИЗМ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Начинается с гидролиза 3',5'-фосфодиэфирной связи под действием ферментов нуклеаз:

- ДНКазы - расщепляют ДНК

- РНКазы - расщепляют РНК

Среди ДНКаз и РНКаз различают:

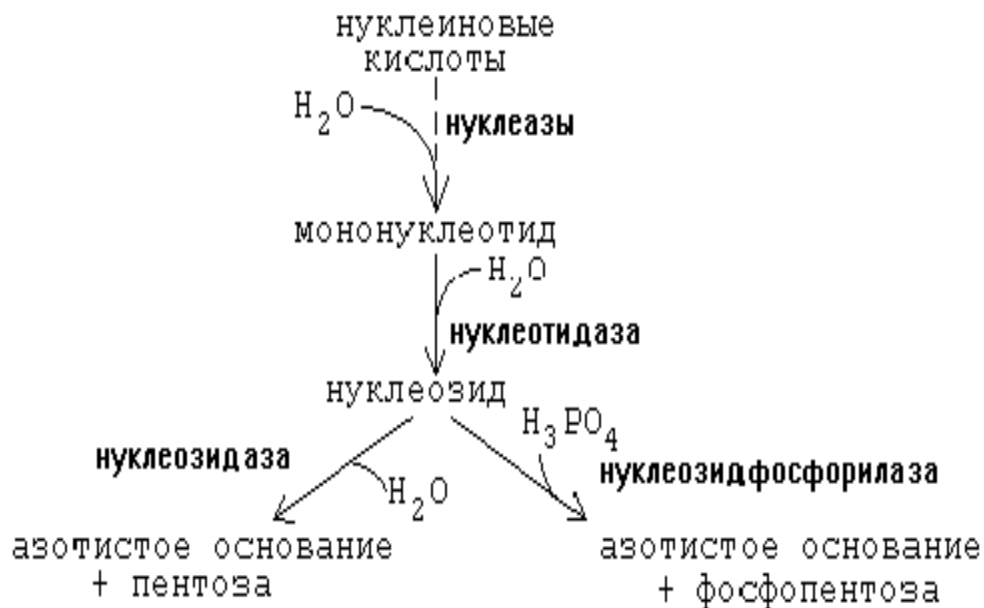
- экзонуклеазы (5' и 3');

- эндонуклеазы - специфичны к мононуклеотидной последовательности, есть высокоспецифичные: рестриктазы - используются в генной инженерии.

Далее происходит отщепление фосфата от мононуклеотида с участием ферментов нуклеотидаз с образованием нуклеозидов.

Нуклеозид может расщепляться путем гидролиза под действием фермента нуклеозидазы на азотистое основание и пентозу, но чаще происходит фосфоролиз - при этом нуклеозид расщепляется на азотистое основание и фосфорипентозу.

СХЕМА КАТАБОЛИЗМА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ



Нуклеазы очень многообразны. Различают ДНКазы и РНКазы. Отличаются друг от друга по месту действия. Бывают эндонуклеазы (расщепляют внутренние 3'5'-фосфодиэфирные связи) и экзонуклеазы (отщепляют концевые моонуклеотиды). Встречается 2 типа экзонуклеаз: 3'-экзонуклеазы – отщепляют моонуклеотид с 3'-конца молекулы, и 5'-экзонуклеазы – отщепляют 5'-концевой моонуклеотид.

Нуклеазы могут отличаться друг от друга и по специфичности. Пищеварительные нуклеазы и нуклеазы лизосомальные отличаются низкой специфичностью, у них упрощенное строение активного центра. У высокоспецифичных нуклеаз очень сложное строение активного центра. Они способны «узнавать» целую последовательность нуклеотидов из 4-10 пар и расщеплять одну-единственную связь в строго определенном месте (если «узнаваемый» участок содержит 4 нуклеотидные пары, то расщепляется, в среднем, одна связь из 250 возможных). Такие высокоспецифичные ДНКазы называются **рестриктазами**. Участки ДНК, «узнаваемые» рестриктазами, называются полиндромными последовательностями. Рестриктазы широко применяются в генной инженерии.

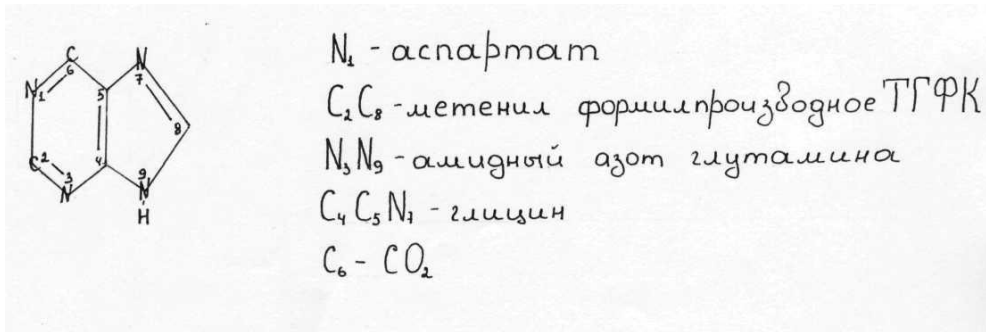
Пентозы, образующиеся в ходе катаболизма нуклеиновых кислот, могут быть утилизированы во II-м этапе ГМФ-пути.

Азотистые основания также подвергаются дальнейшему катаболизму, но по-разному, в зависимости от их типа - пуриновых (аденина, гуанина) или пиримидиновых (тимина, цитозина и урацила).

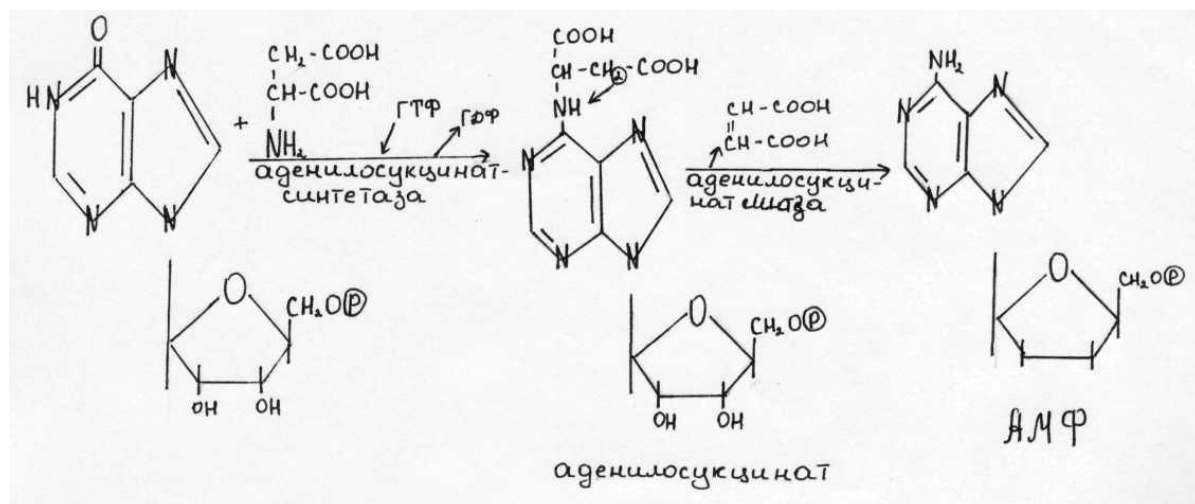
Активно синтез пуриновых нуклеотидов осуществляется в печени. Она снабжает пуринами некоторые ткани, где их синтез идет медленно, а в некоторых тканях вовсе не идет.

Основной путь синтеза пуриновых нуклеотидов начинается с синтеза 5-фосфорипентозил-1-пирофосфата (ФРПФ), который подвергается амидированию с

образованием 5-фосфорибозил-1-амин. Катализируется эта реакция ферментом ФРПФ - амидотрансферазой. В дальнейшем синтезе пуринового кольца используются следующие соединения:

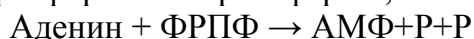


Формирование структуры пуринового нуклеотида происходит на фосфорибозилфосфоамине. В процессе синтеза образуется первый нуклеотид 5-ИМФ, который через ряд последовательных реакций превращается в 3-АМФ и 5-ГМФ. Схема превращения ИМФ в АМФ:



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

1) Аденилфосфорибозилтрансфераза, отвечающая за образование АМФ.



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



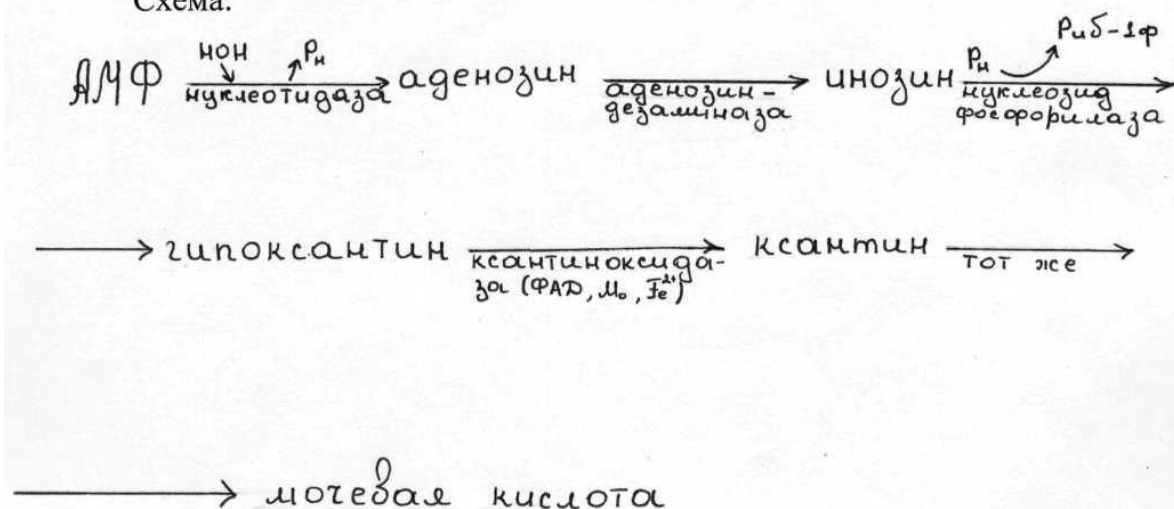
Этот путь синтеза нуклеотидов снижает выход конечного продукта катаболизма пуринов - мочевой кислоты, накопление которой опасно для жизни.

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

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

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

Схема:

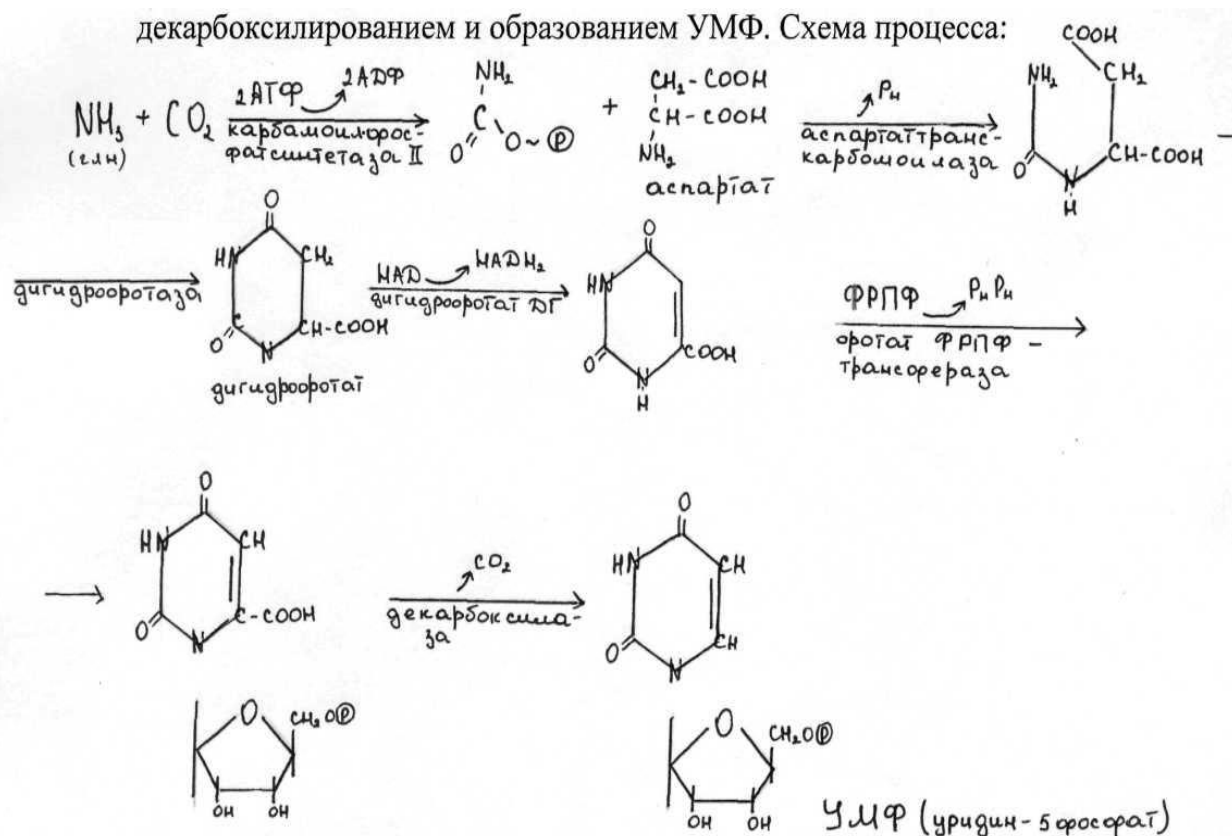


Мочевая кислота поступает в кровь, затем выводится с мочой. В норме содержание мочевой кислоты не превышает 0,15-0,47 ммоль/л, а в суточной моче 400-600 мг. Мочевая кислота слабая органическая кислота, плохо растворяется в воде. Повышение ее концентрации 0,47-1,1 ммоль/л (гиперурикемия) способствует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

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

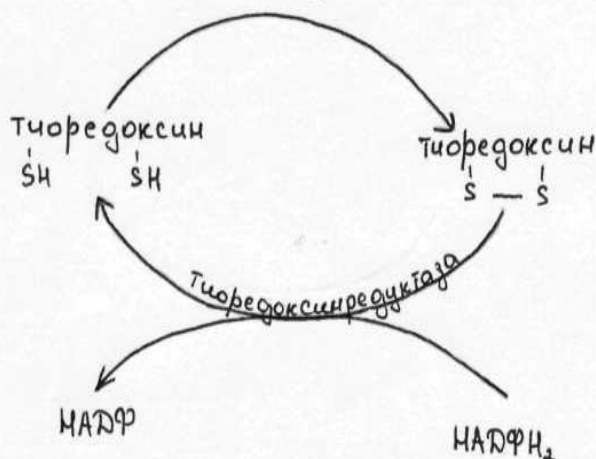
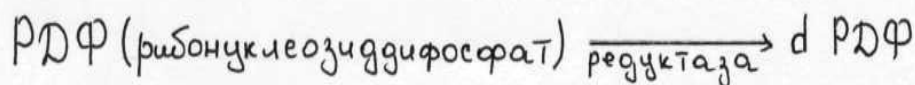
Синтез пиримидиновых оснований идет в основном de novo, и локализуется в цитоплазме. Осуществляется при участии трех ферментов, два из которых полифункциональны. Первый полифункциональный фермент состоит из трех доменов, обладающих ферментативной активностью и обеспечивает ход первых трех реакций: образование активной формы NH_3 , перенос этой активной формы на аспартат, и, наконец, отщепление молекулы воды, что ведет к образованию пиримидинового кольца. Образовавшийся дигидрооротат окисляется в оротовую кислоту. Третий фермент также полифункциональный, осуществляет перенос ФРПФ на оротовую кислоту, образуя нуклеотид с его дальнейшим аминированием УМФ превращается в ЦТФ с участием фермента ЦТФ-синтаза, используя амидную группу глн и энергию АТФ.

декарбоксилированием и образованием УМФ. Схема процесса:

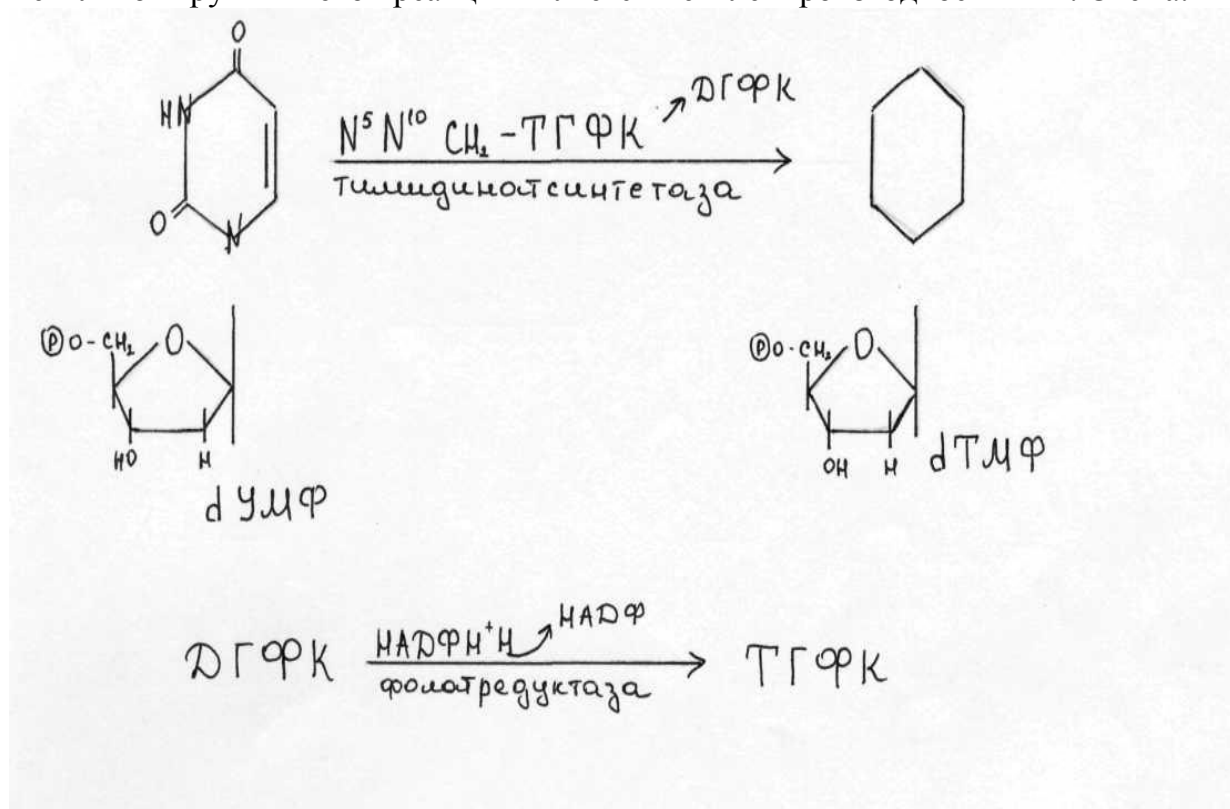


Очень важен синтез ТМФ, поскольку он является мономером ДНК. Синтез ТМФ начинается с восстановления рибонуклеотида (УМФ) в дезоксирибонуклеотид. Процесс восстановления рибозы в d-рибозу требует восстановительных потенциалов. Непосредственным источником последних является восстановленный белок-тиоредоксин,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

НАДФН. Схема представлена:

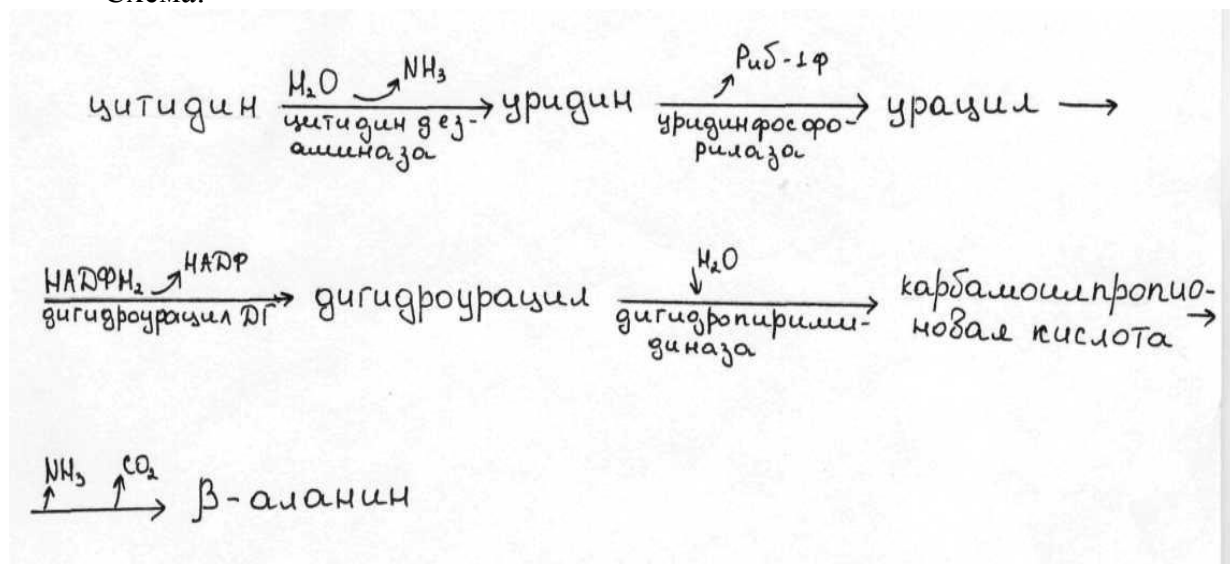


Далее для синтеза ТМФ необходимо иметь метилированное производное урацила - тимин. В клетке имеется особый фермент тимидилатсинтетаза, катализирует метилирование не свободного урацила, а 5-УМФ. Донором метильной группы в этой реакции является метиленпроизводное ТГФК. Схема:



Пиримидиновые азотистые основания могут превращаться в нуклеотиды «запасными путями». Ферменты, участвующие в этом процессе: пиримидинфосфорибозилтрансфераза и уридинцитозинкиназа. Процессы синтеза пиримидиновых нуклеотидов регулируются через изменение активности аллостерических ферментов: карбамоилфосфатсинтетаза II, аспартаттранскарбамоилаза. Первый ингибируется ЦТФ, активируется ФРПФ, второй ингибируется ЦТФ, но активируется АТФ. Ферментные системы организма способны разрушать пиримидиновые нуклеотиды до простых соединений: мочевины, углекислый газ, (3 - аланин или, Р-аминоизобутират).

Схема:



При разрушении ТМФ конечные продукты представлены мочевиной, CO_2 , Р-аминоизобутират. (β -аланин может превращаться в α -аланин в реакции трансаминирования с ПВК. α -аланин включается в синтез белка. Кроме того, может включаться в состав мышечных пептидов карнозина и ансерина. Бактериальные клетки используют β -аланин на синтез пантотеновой кислоты, входящей в состав HSKoA. Р-аминоизобутират превращается в метилмалонил КоА, а затем в сукцинил КоА и сгорает в ЦТК.

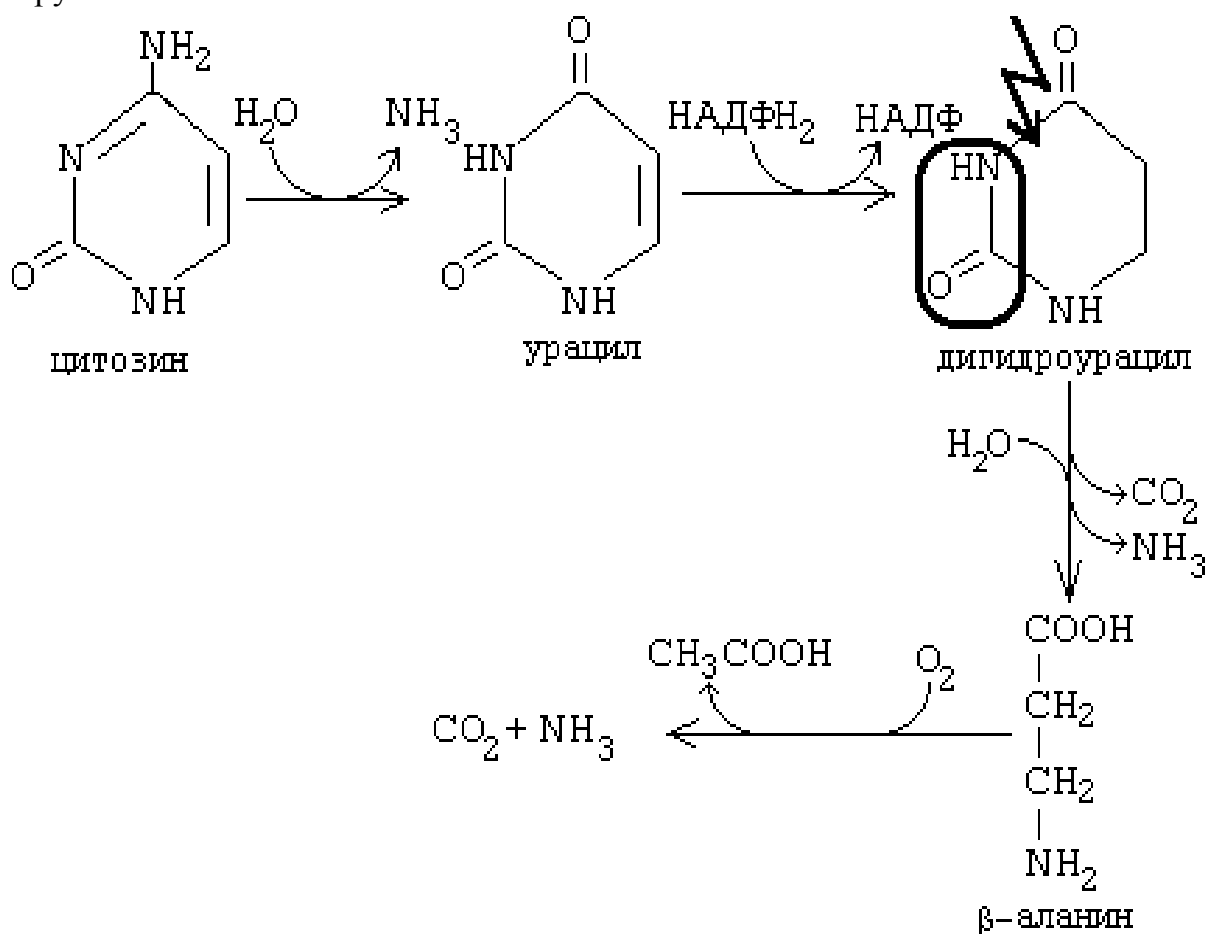
Различия в катаболизме пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований.

Пиримидиновые азотистые основания подвергаются тотальному разрушению до CO_2 , H_2O и NH_3 .

Пуриновые азотистые основания сохраняют циклическую структуру пурина. Конечный продукт: мочевая кислота - вещество пуриновой природы.

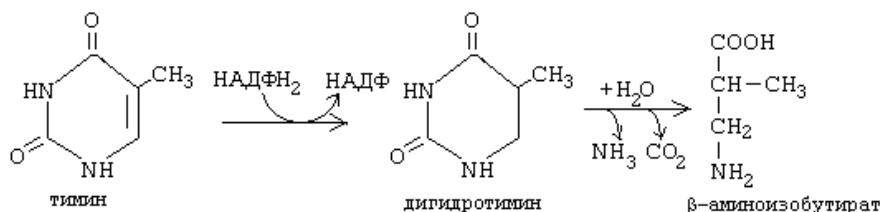
Аминогруппа азотистых оснований очень легко могут отщепляться гидролитическим путем. Аминогруппа может отщепляться, когда азотистое основание еще находится в составе нуклеозида, мононуклеотида и даже в составе нуклеиновой кислоты. Но поскольку в организме урацил не входит в состав ДНК, то дезаминирование цитозина и превращение его в урацил воспринимается клеткой как ошибка и исправляется

[Перейти Сертификат ISO 9001 для тендера!](#) [Получи Сертификат ИСО 9001 с документами](#) [СМК](#) [для Тендера.](#) [Узнать цену!](#) [alfaregister.ru](#) [Скрыть объявление](#) [Скрыть рекламу:](#) [Не интересуюсь этой темой](#) [Товар куплен или услуга найдена](#) [Нарушает закон или спам](#) [Мешает просмотру контента](#)



β -аланин обычно разрушается до CO_2 , H_2O и NH_3 , но иногда может использоваться для синтеза пептидов карнозина и ансерина в мышечной ткани. У микроорганизмов β -аланин используется и для синтеза HS-CoA. Конечным продуктом распада пиримидиновых азотистых оснований можно считать и мочевины, которая образуется из аммиака по известному механизму, изложенному в теме «Обмен простых белков».

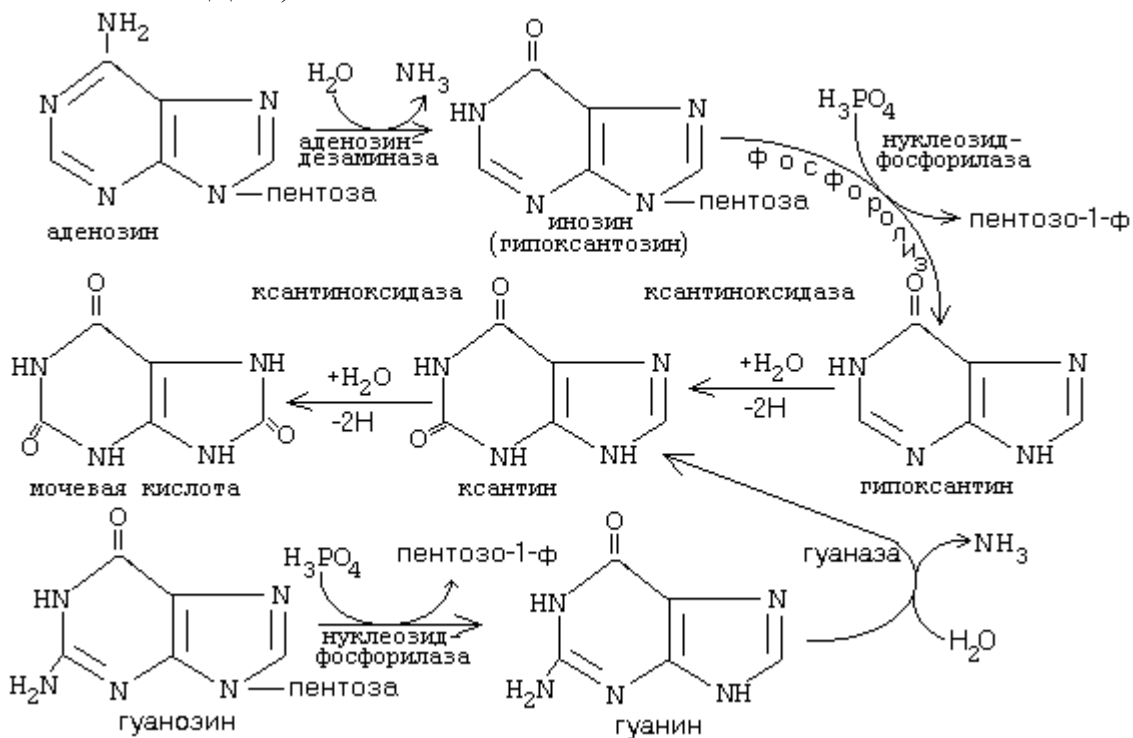
Тимин распадается подобно урацилу, но сохраняется CH_3 -группа, и вместо β -аланина образуется β -аминоизобутират (α -метил- β -аланин). Поскольку тимин встречается только в ДНК, то по уровню β -аминоизобутирата в моче судят об интенсивности распада ДНК.



β -аминоизобутират выводится из организма и определение его количества в моче может использоваться для оценки катаболизма ДНК.

КАТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ.

Распад начинается с отщепления аминогруппы (ее отщепление также возможно в составе ДНК).



Фермент **аденозиндеаминаза** иногда образуется в дефектной мутантной форме, что приводит к врожденному иммунодефициту, так как нуклеотиды являются регуляторами функций лейкоцитов. При СПИДе активность этого фермента также значительно снижена.

Образовавшийся инозин подвергается фосфорилизу, и далее гипоксантин подвергается двукратному окислению путем отнятия водорода с одновременным присоединением воды. Эти две одинаковые реакции катализирует один и тот же фермент – **ксантиноксидаза**. Ксантиноксидаза может существовать в двух формах:

- D-форма – дегидрогеназная
- O-форма – оксидазная

Формы отличаются друг от друга по способности передавать 2 атома водорода. D-форма передает водород на главную дыхательную цепь митохондриального окисления, а O-форма – сразу на кислород с образованием H_2O_2 . D-форма может переходить в O-форму путем ограниченного протеолиза при отщеплении небольшого участка молекулы.

Генетический дефект ксантиноксидазы проявляется ксантинурией и образованием ксантиновых камней в тканях. В этом случае источник ксантина – гуанин, подвергающийся гидролитическому дезаминированию.

Кроме, как у человека, мочевая кислота является конечным продуктом катаболизма пуринов у приматов, птиц, змей и ящериц.

Для других животных пуриновое кольцо подвергается распаду, за исключением долматской собаки.

Мочевая кислота является одним из нормальных компонентов мочи. За сутки в организме образуется около 1 грамма мочевой кислоты. Мочевая кислота выводится из организма с мочой – это обычный ее компонент, но в почках организма человека происходит ее интенсивная реабсорбция. Концентрация мочевой кислоты в крови поддерживается на постоянном уровне 0.12-0.30 ммоль/л.

В организме мочевая кислота существует, как правило, в лактимной форме.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Назовите основные соединения, включающиеся в процесс синтеза пуриновых оснований.
2. Напишите синтез ТМФ. Какова роль витамина B12 и ТГФК в этом процессе?
3. Назовите конечные продукты распада пуриновых и пиримидиновых оснований.
4. Методы определения мочевой кислоты в моче. Содержание мочевой кислоты в моче в норме.
5. Назовите причины развития подагры, синдрома Леша-Нихана.

Проведение лабораторной работы и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Обнаружение мочевой кислоты в моче.

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

Методика выполнения: В две пробирки вносят: в первую - 5 капель мочи, во вторую - 5 капель раствора мочекистого натрия. В каждую пробирку добавляют по 2 капли раствора аммиака и азотнокистого серебра. В пробирках возникают аморфные осадки мочекистого серебра.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

Мурексидная реакция.

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

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

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

Самостоятельная работа студентов.

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

Список используемой литературы

Обязательный:

1. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
2. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
3. Северин Е.С., Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
4. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

1. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
2. Страйер. Руководство по биохимии.
3. Ленинджер. Биохимия.
4. Вельтищев. Обмен веществ у детей.
5. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

ЗАНЯТИЕ №5.

ТЕМА: Регуляция и интеграция обмена веществ в организме. Основные механизмы регуляции метаболизма живых систем. Гормоны. Классификация гормонов. Молекулярные механизмы регуляции обмена веществ и функции белково-пептидных гормонов. Механизмы регуляции, обеспечиваемые отдельными гормонами или их группами. Строение, биосинтез и регуляция секреции инсулина, глюкагона, адреналина. Молекулярный механизм действия и роль этих гормонов в регуляции обмена углеводов, липидов, аминокислот. Патогенез сахарного диабета. Препараты инсулина, их получение. Генно-инженерный метод синтеза инсулина. Роль гормонов в регуляции обмена кальция и фосфатов (паратгормон, кальцитонин и

кальцитриол). Строение, биосинтез и механизм действия кальцитриола. Причины и проявления рахита, гипо-и гиперпаратиреоидизма. Реакция на адреналин с хлорным железом.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

1. Гормоны — как интеграторы регуляции обмена веществ.
2. Особенности гормональной регуляции.
3. Классификацию гормонов.
4. Типы рецепторов на уровне клеток органов-мишеней.
5. Внутриклеточные мессенджеры.
6. Каскадный механизм действия гормонов.
7. Биологическое действие гормонов: инсулина, глюкагона, катехоламинов.

Студент должен уметь:

1. Разобрать общий механизм действия белково-пептидных гормонов, химическую структуру и биологическое действие гормонов поджелудочной железы и адреналина.
2. Выполнить качественные реакции на гормоны.
3. Анализировать полученные результаты и делать выводы.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

1. Гормоны — основные регуляторы метаболических процессов.
2. Классификация гормонов.
3. Особенности гормональной регуляции.
4. Общий механизм действия белково-пептидных гормонов.
5. Внутриклеточные посредники действия белково-пептидных гормонов:
 - цАМФ
 - цГМФ
 - Са-СаМ
 - Инозитол-3-фосфат, ДАГ
6. Фосфоинозитольный каскад.
7. Гормоны поджелудочной железы (инсулин, глюкагон), их биосинтез, секреция и биологическая роль.
8. Инсулиновая недостаточность — сахарный диабет, основные нарушения при этом заболевании.
9. Синтез катехоламинов и их биологическая роль.
10. Характеристика структуры щитовидной железы
11. Гормоны щитовидной железы, характеристика химической структуры
12. Процессы биосинтеза йодтиронинов: T_3 , T_4 секреция и транспорт кровью.
13. Механизм действия в клетках органов-мишеней.
14. Роль T_3 , T_4 в регуляции обмена веществ.
15. Регуляция деятельности щитовидной железы: гипо- и гиперфункции.

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Цветные реакции на инсулин. Обнаружение пептидных связей (биуретовая реакция).
2. Реакция Фоля.
3. Цветные реакции на адреналин.
4. Открытие йода в тиреоидине

Наглядные пособия: таблицы

1. Гормоны.
2. Гормональная регуляция обмена белков.
3. Гормоны мозгового слоя надпочечников.
4. Гормоны гипофиза.
5. Гормональная регуляция обмена кальция и фосфора.
6. Инсулин.
7. Влияние гормонов на обмен глюкозы в печени.
8. Гормоны щитовидной железы.

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Что мы понимаем под гормонами? Перечислить железы внутренней секреции, а также органы и ткани, продуцирующие гормоны.
2. Классификация гормонов по их химической структуре.
3. Какие типы рецепции гормонов различают на уровне органов-мишеней?
4. Охарактеризуйте механизм цитоплазматического типа рецепции и назовите какие гормоны обладают этим механизмом действия.
5. Объясните роль g-белка в механизме передачи гормонального сигнала
6. Роль 3,5цАМФ в механизме действия белково-пептидных гормонов.
7. Перечислите внутриклеточные мессенджеры действия гормонов, охарактеризуйте их.
8. Какие гормоны образуются в мозговом веществе надпочечников?
9. Напишите синтез норадреналина и адреналина.
10. Каков механизм действия на клетки-мишени катехоламинов.
11. На какие виды обмена веществ влияют катехоламины?
12. Биологические эффекты адреналина.
13. Напишите инактивацию норадреналина, адреналина в печени.
14. Что такое феохромоцитома, причины, проявления?
15. Назовите гормоны поджелудочной железы, какова их химическая

природа?

16. Глюкагон, химическая природа и влияние на обмен углеводов.
17. Напишите каскадный механизм активирования гликоген-фосфорилазы глюкагоном.
18. Каково влияние глюкагона на обмен липидов и белков?
19. Характеристика инсулина и его образование в β -клетках поджелудочной железы.
20. Какие виды инсулина циркулируют в крови, охарактеризуйте их.
21. Опишите механизм действия инсулина на клетки-мишени.
22. На какие метаболические процессы влияет инсулин?
23. Инсулинзависимые ферменты, перечислите их и охарактеризуйте.
24. Как изменяется глюкоза крови под влиянием инсулина и почему?
25. Инсулиновая недостаточность — сахарный диабет — биохимические проявления.
26. Клинико-лабораторная диагностика скрытого сахарного диабета — сахарные кривые.
27. Щитовидная железа как эндокринный орган, структурная характеристика.
28. Этапы синтеза гормонов щитовидной железы.
29. Биосинтез T_3, T_4 в фолликулах щитовидной железы.
30. Секреция гормонов щитовидной железы и транспорт.
31. Механизмы рецепции в клетках органов-мишеней.
32. Влияние T_3, T_4 на белковый, липидный, углеводный обмен.
33. Калоригенный эффект гормонов щитовидной железы.
34. Кальцитонин — его роль в регуляции фосфорнокальциевого обмена.
35. Концентрация T_3, T_4 и роль ТТГ в регуляции содержания тироксина в крови.
36. Назовите основные патологии щитовидной железы и охарактеризуйте.
37. Нарушения обмена веществ при гипо — гипертиреозе.
38. Эндемические заболевания причины и последствия.
39. Метаболизм гормонов щитовидной железы.
40. Применение гормонов щитовидной железы в практической медицине.

Актуальность темы занятия

Регуляция и интеграция обмена веществ в организме.

Организм человека представляет собой целостную многоклеточную систему, от правильной дифференцировки которых зависит строение органов и тканей. В каждой клетке протекают обменные процессы, обеспечивающие те или иные функции целостного организма, или метаболические пути, являющиеся предметом изучения биологической химии. Основными этапами обмена веществ являются: поступление в организм питательных веществ, переваривание и всасывание их в желудочно-кишечном тракте, транспорт всосавшихся соединений к органам и тканям, поступление их в клетки и органоиды, где происходят их внутриклеточные специфические превращения, выделение продуктов распада. На каждом из этих этапов действуют определенные регуляторные механизмы: на уровне целостного организма и систем органов (например, факторы внешней среды — температура, влажность, давление, обеспеченность кислородом; наличие транспортных систем,

обеспечивающих перенос питательных веществ к органам и тканям и т.д.), на уровне клеток (здесь важная роль принадлежит клеточной мембране; исходные или промежуточные продукты обмена поступают в органоиды клетки, деятельность которых также регулируется) и на молекулярном уровне (так регулируются процессы распада и синтеза молекул; этот уровень контролируется сочетанной деятельностью ферментов, субстратов, наличием ингибиторов и активаторов и т.д.). Однако, нужно помнить, что в организме человека и животных не существует самостоятельного обмена белков, жиров, углеводов и т.д., так как все превращения веществ подчиняются диалектическим закономерностям взаимосвязи и взаимообусловленности, допускающей взаимопревращения между отдельными классами органических веществ. Механизмы, обеспечивающие интеграцию и регуляцию обмена веществ в клетках, представлены двумя системами:

1) нервной системой, которая координирует функционирование организма через передачу нервных сигналов (или электрохимических импульсов), при этом ведущая роль отводится коре головного мозга;

2) эндокринной системой, которая действует через различные химические посредники – через гормоны (гормон в переводе с греч. *hormao* – возбуждаю, побуждаю, двигаю; термин впервые был предложен Э.Старлингом в 1905 г. применительно к секретину, образуемому в клетках двенадцатиперстной кишки и воздействующего на функции поджелудочной железы).

Обе эти системы функционируют в тесной взаимосвязи и составляют единую нейро-эндокринную систему. Регуляция метаболических процессов в клетках осуществляется на уровне ферментов.

Основными механизмы регуляции метаболизма живых систем:

1) *Изменение активности ферментов* – самый распространенный способ регуляции метаболизма. Регуляции подвержены ключевые ферменты метаболизма, которые определяют скорость всего полиферментативного процесса. Как правило, такие ферменты состоят из нескольких субъединиц (олигомерные ферменты). *Активность фермента* зависит от:

- количества, доступности и химического строения субстрата катализируемой реакции;
- от условий протекания ферментативной реакции в клетке (рН, t^0 и т.д.);
- от наличия эффекторов (активаторов или ингибиторов);
- от строения ферментов (наличия химической модификации, доступности кофактора и т.д.).

Изменение активности ферментов играет принципиальную роль в регуляции метаболизма конечными продуктами (ретроингибирование) и реже – первыми продуктами химической реакции (форактивация).

2) *Изменение количества ферментов* в клетках – осуществляется путем индукции или репрессии генов, а также его протеолитической деградации в клетке. Ферменты, которые присутствуют в клетке в относительно постоянном количестве называются конститутивными, а те, количество которых подвергается резким изменениям в зависимости от метаболической ситуации, называются адаптивными, или индуцибельными (эти ферменты, а также их изоформы чувствительны к протеолизу).

3) *Изменение проницаемости клеточных мембран* приводит к изменению целого комплекса их функций: скоростей потоков метаболитов и газов как в

клетку, так и из нее; компартментализации (разграничение метаболических путей по органоидам клетки) метаболических процессов; изменению электрохимического потенциала; передачи нервных импульсов; функционирования рецепторов и т.д.

Эти три основных механизма лежат в основе действия гормонов.

Представление о гормонах. Классификация гормонов.

Гормоны представляют собой биологически активные вещества, вырабатываемые железами внутренней секреции в незначительных количествах, но оказывающие на организм очень сильное действие (одна молекула гормона способна регулировать превращения 1000 – 1 000 000 молекул метаболитов). Образование гормонов в клетках происходит в ходе метаболизма и является основной их функцией (или одной из основных). Если же образующиеся биологически активные вещества являются побочными продуктами клеточного метаболизма, специализированных на выполнении каких-либо иных функций, то эти вещества называются *парагормонами*, или *гормоноидами*.

Гомоны и гормоноиды интегрируют обмен веществ, т.е. регулируют соподчиненность и взаимосвязь протекания различных химических реакций в организме, как едином целом. Самая простая форма этой координации заключается в том, что продукты обмена, образующиеся в результате повышенной деятельности одного типа клеток, влияют на деятельность другого типа клеток, усиливая или ослабляя их функции. Продукты обмена при этом распространяются от клетки к клетке преимущественно путем диффузии. Это и имеет место у простейших микроорганизмов. На более высоком уровне появляется гормональная регуляция, отличающаяся тем, что на этой ступени развития уже дифференцируются новые клетки, специализированная функция которых заключается именно в выработке веществ, служащих для регуляции других клеток и органов. Эти вещества, получившие название гормонов, транспортируются к клеткам-мишеням преимущественно через кровь и лимфу. Позднее, в ходе эволюции, наряду с гормональной регуляцией (или гуморальной регуляцией) появилась координирующая деятельность нервной системы, поэтому нервная система является филогенетически более молодой, особенно кора больших полушарий. Нервная система имеет преимущество, т.к. характеризуется более точной локализацией действия и может быстрее вызвать необходимые функциональные изменения, чем гормональная.

Условно в нейроэндокринной системе можно выделить четыре уровня:

- 1) периферические эндокринные железы – щитовидная, паращитовидные железы, тимус, надпочечники, поджелудочная железа, половые железы, плацента – временная эндокринная железа);
- 2) гипофиз – контролирующий несколько периферических эндокринных желез (щитовидную, кору надпочечников, половые);
- 3) гипоталамус – координирующий вегетативные процессы (зоны промежуточного мозга, в частности гипоталамус, является местом, где электрические сигналы нервной системы трансформируются в химические сигналы эндокринной системы);
- 4) центральная нервная система и эпифиз (возможный регулятор биоритмов).

Функции периферических эндокринных желез регулируются двумя путями:

- 1) церебропитуитарным – путь, проходящий через гипофиз (питуитарная железа), или трансгипофизарный путь;

2) церебробландулярный – путь, проходящий минуя гипофиз (или паражипофизарный).

Таким образом, передача импульсов с нейрона на другой нейрон, или на эффектор

Классификация гормонов.

1. Производные аминокислот: трийодтиронин, тетрайодтиронин, катехоламины, мелатонин

2. Белково-пептидные гормоны: гормоны гипоталамуса - либерины и статины; гормоны аденогипофиза; нейрогипофиза – вазопрессин и окситоцин; кальцийрегулирующие – паратгормон, кальцитонин; гормоны поджелудочной железы – глюкагон, инсулин; гормоны ряда ангиотензина и др.

3. Производные холестерина – C_{21} - глюкокортикоиды: кортизол, кортизон; минералокортикоиды: альдостерон; гормон желтого тела - прогестерон; C_{19} - мужские половые гормоны: тестостерон и 5 α - дегидротестостерон; C_{18} – женские половые гормоны: эстрадиол, эстриол, эстрон; C_{27} – кальцитриолы: $1,25(OH)_2D_3$, $24, 25(OH)_2D_3$

4. Производные ненасыщенных жирных кислот – простагландины, тромбоксаны, лейкотриены

Изменения функций клеток после воздействия сигналов происходят в результате ковалентной модификации рецепторных эффектов.

Различают:

1. Цитоплазматический тип рецепции, для белково-пептидных гормонов
2. Цитозольно-ядерный тип, для стероидных гормонов

Передача сигнала от рецептора (связывание лиганда) к эффекторам, который должен быть модифицирован, осуществляется с помощью нескольких каскадных этапов пострецепторной регуляции:

- преобразование сигнала на этапе трансмембранного сигнала, образование внутриклеточных посредников (ц-АМФ)
- усиление сигналов по ходу сигнального каскада.

Активированный одной молекулой гормона рецептор может прореагировать с несколькими молекулами белка. Дальнейшее многократное усиление достигается в цепи ферментов: аденилатциклаза-протеинкиназа, отвечаемых на воздействие одного аллостерического регулятора образованием множества молекул продуктов

1. наличие молекул выключателей в цепи передачи сигналов: фермент - фосфодиэстераза расщепляет $3,5\text{цАМФ}$; протеинфосфатаза дефосфорилирует и модифицирует ПФК. Способность Ca^{2+} быть в роли вторичного посредника обусловлена открытием потенциал-зависимых Ca^{2+} - каналов при образовании гормон-рецепторного комплекса, высвобождение Ca^{2+} из ЭПР- $Ca^{2+} + CaM \rightarrow$ в роли вторичного посредника; фосфоинозитольный каскад и вторичные посредники образуются из мембранных ИФ₃ и ДАГ, цГМФ через активную гуанилатциклазу.

Инсулин - белковый гормон, синтезируется β -клетками поджелудочной железы. В крови присутствует в 3 фракциях: свободная – стимулирует усвоение глюкозы жировой и мышечной тканью; связанная – действует только на жировую ткань; форма А – занимает промежуточное положение. К инсулинчувствительным тканям относятся: соединительная, жировая, мышечная ткани, отчасти печень, каналцы почек, нечувствительна нервная ткань. При связывании инсулина с рецепторами происходит следующее: повышается трансмембранный перенос в

клетки глюкозы, аминокислот, жирных кислот, изменяется конформация комплекса «инсулин-рецептор» и этот комплекс проникает внутрь клетки – интернализация; генерация одного или нескольких сигналов в виде вторичных посредников, в качестве которых могут выступать Ca^{2+} , циклические нуклеотиды, отщепляющие от мембранных белков пептиды, продукты метаболизма фосфатидилинозитолов, тирозинкиназа. После связывания инсулина с рецептором возможны 2 типа эффектов:

- быстрые - трансмембранный транспорт белков, фосфорилирование белков, активация и ингибирование ферментов, транскрипция генов.
- Медленные – синтез белка, репликация ДНК, пролиферация клеток.

Основные эффекты:

1. Обмен углеводов – стимулирует гликолиз, активируются инсулинзависимые ферменты: фосфофруктокиназа, пируваткиназа; активируется аэробное окисление глюкозы, снижается активность глюкозо-6-фосфатазы, стимулируется синтез гликогена, активированием гликогенсинтетазы (снижается внутриклеточная концентрация цАМФ). Таким образом, инсулин снижает глюкозу крови.

2. Обмен липидов – стимулируется синтез ТАГ и ингибируется липолиз, уменьшается концентрация НЭЖК в крови

3. Обмен белков – стимулируется обмен белков и замедляется их катаболизм; стимулируется пролиферация клеток «in vitro» и «in vivo», потенцируется действие ряда ростовых факторов.

Инсулиновая недостаточность ведет к развитию сахарного диабета: I и II типов. Основные признаки: гипергликемия, глюкозурия, полиурия, полидипсия, кетонемия, кетонурия, потеря веса.

Глюкагон – выделяется α -клетками островков Лангерганса, состоит из 29 аминокислотных остатков. Действует через аденилатциклазу и увеличивает содержания цАМФ. Основное действие: мобилизация гликогена в печени и мышечной ткани на фоне голодания, ТАГ в жировой ткани, повышает уровень глюкозы и НЭЖК в крови. В печени из ацетил КоА синтезируются кетоновые тела. Глюкагон угнетает синтез белков и облегчает их катаболизм, образующиеся аминокислоты используются на глюконеогенез.

Катехоламины – гормоны мозгового вещества надпочечников. В клетках-мишенях имеются 2 типа рецепторов: α и β . Связывание с β -адренорецепторами стимулирует систему «аденилатциклаза – цАМФ» и вызывает изменения в углеводном обмене – гликогенолиз в мышцах и мобилизация гликогена в печени, в жировой ткани – липолиз. Связывание с α -адренорецепторами стимулирует систему «гуанилатциклаза-цГТФ», через транслокацию цАМФ. Адреналин в ядре усиливает транскрипцию, синтез ряда белков, усиливает выброс глюкозы из печени, в мышцах – гликолиз. Оказывает на сердечно-сосудистую систему 4 положительных эффекта: ино-, хроно-, батмо- и дромотропное действие, повышает АД, расслабляет гладкую мускулатуру кишечника и бронхиального дерева, матки. Гиперпродукция - феохромоцитома. Катехоламины и продукты метаболизма выводятся с мочой.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Роль гормонов в регуляции обмена веществ, понятие о центральных и периферических эндокринных железах.
2. Классификация гормонов по химической структуре.

3. Характеристика механизмов влияния гормонов в клетках- мишенях:
 - цитоплазматический
 - цитозольно-ядерный
4. Роль внутриклеточных мессенджеров в механизме действия белково-пептидных гормонов.
5. Каскадный механизм активирования аденилатциклазы под влиянием гормонального сигнала, роль фосфодиэстеразы.
6. Представители катехоламинов, синтез, локализация процесса.
7. Влияние адреналина на обмен углеводов.
8. Влияние адреналина на обмен липидов и белков. Роль гормонозависимых ТАГ-липаз.
9. Биохимические проявления при феохромоцитоме.
10. Глюкагон — химическая характеристика и его роль в обмене углеводов.
11. Участие глюкагона в обмене липидов, белков.
12. Процессы синтеза инсулина Р-клетками поджелудочной железы.
13. Виды инсулина в крови, характеристика инсулин- чувствительных тканей.
14. Влияние инсулина на углеводный обмен. Роль инсулинзависимых ферментов.
15. Влияние инсулина на обмен липидов и белков.
16. Сахарный диабет — биохимические проявления.
17. Клинико-лабораторная диагностика скрытого сахарного диабета.
18. Назовите гормоны щитовидной железы и охарактеризуйте их химическую структуру.
19. Напишите формулы образования T_3, T_4 из тирозина и йода.
20. Охарактеризуйте механизмы секреции йодсодержащих гормонов щитовидной железы (роль ТТГ) и их транспорт кровью к органам-мишеням.
21. Органы-мишени и механизм рецепции в клетке T_3, T_4
22. Опишите влияние T_3, T_4 на процессы обмена веществ.
23. Объясните калоригенный эффект гормонов щитовидной железы.
24. Влияние гормонов щитовидной железы на рост и развитие клетки, объясните метаболическую основу.
25. Роль ГТА и гипофиза в регуляции щитовидной железы.
26. Эндемичные заболевания причины и последствия.
27. Применение гормонов щитовидной железы в практической медицине.
28. Охарактеризуйте химическую природу кальцитонина и его роль в регуляции фосфорно-кальциевого обмена.

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Цветные реакции на инсулин.

Обнаружение пептидных связей (биуретовая реакция)

Принцип метода: Инсулин, как белок дает характерную для пептидных связей цветную реакцию биурета при взаимодействии с ионами меди в щелочной среде. Появление цветного окрашивания при биуретовой реакции вызвано

образованием комплексного соединения меди с белком, в котором участвуют пептидные связи.

Методика выполнения: К 3 каплям раствора инсулина добавляют 1 каплю раствора сульфата меди и 3 капли едкого натра. Появляется фиолетовое окрашивание. Нагревают в пробирке несколько кристаллов мочевины. После их расплавления и последующего затвердевания пробирку охлаждают, добавляют 2 капли воды и по 1 капле растворов сульфата меди и едкого натра.

Предполагаемые результаты: Происходит окрашивание смеси в розовый цвет.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2.

Реакция Фоля

Принцип метода: Серосодержащие аминокислоты, особенно цистеин, при кипячении со щелочью теряет серу, которая отщепляется в виде сероводорода. Сероводород взаимодействует со щелочью, образует сульфиды, которые можно обнаружить с помощью следующей реакции: при добавлении ацетата свинца сульфиды образуют коричневый или даже черный осадок сульфида свинца.

Методика выполнения: В одну микрохимическую пробирку вносят 3 капли 0,4%-ого раствора цистеина, в другую — столько же инсулина. Добавляют в каждую пробирку по 3 капли 30%-ого раствора едкого натра и осторожно нагревают в течение 2 минут. После охлаждения добавляют каплю ацетата свинца.

Предполагаемые результаты: Происходит окрашивание смеси в темно-коричневый цвет.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3.

Цветные реакции на адреналин

а) реакция с хлорным железом

Принцип метода: Пирокатехиновое кольцо адреналина образует с хлорным железом окрашенное комплексное соединение; аналогичную реакцию дает пирокатехин

Методика выполнения: Берут 2 микрохимические пробирки. В одну вносят 4-5 капель адреналина, в другую столько же раствора пирокатехина. Добавляют в каждую пробирку по 1 капле раствора хлорного железа — возникает зеленое окрашивание, постепенно переходящее в желтое. Добавляют в каждую пробирку по 1 капле раствора аммиака — желтая окраска сменяется коричневой.

Предполагаемые результаты: Происходит смена окраски с желтой на коричневую.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

б) реакция с двуххромовокислым калием

В 2 микрохимические пробирки вносят: в одну из них 3 капли раствора адреналина, а в другую (контрольная) — 3 капли воды. В каждую пробирку добавляют по 1 капле раствора двуххромовокислого калия.

Предполагаемые результаты: в пробирке с адреналином жидкость

окрашивается коричневый цвет.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

в) реакция с нитритномолибденовым реактивом

В микрохимической пробирке смешивают по 1 капле раствора адреналина, соляной кислоты и нитритномолибденового реактива.

Предполагаемые результаты: Возникает желто-оранжевая окраска.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4

Открытие йода в тиреоидине

Принцип метода: Для обнаружения в тиреоидине йода необходимо подвергнуть тиреоидин кислотному гидролизу, окислить отщепившуюся йодистоводородную кислоту в свободный йод и экстрагировать йод хлороформом

Методика выполнения: В пробирку вносят половину таблетки тиреоидина и 10 капель азотной кислоты. Для проведения гидролиза пробирку нагревают 1-2 мин. Если жидкость вспенивается нагревание прекращают. По истечении указанного времени добавляют в пробирку 20 капель раствора йодновато-кислого калия, перемешивают и охлаждают. Йодноватокислый калий окисляет освободившуюся при гидролизе йодистоводородную кислоту в свободный йод. Добавляют в пробирку 10-15 капель хлороформа, встряхивают.

Предполагаемые результаты: Отмечают окрашивание хлороформа в фиолетовый цвет.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

Самостоятельная работа студентов

1. Паратгормон, его роль, структура и биологическое действие.
2. Гормоны гипоталамуса (либерины и статины), их ключевая роль в системе гормональной регуляции.
3. Гормоны задней доли гипофиза (АДГ, окситоцин), их структура и биологическая роль.

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

1. Патогенез сахарного диабета.
2. Препараты инсулина, их получение. Генно-инженерный метод синтеза инсулина.
3. Роль гормонов в регуляции обмена кальция и фосфатов (паратгормон, кальцитонин и кальцитриол).
4. Строение, биосинтез и механизм действия кальцитриола. Причины и проявления рахита, гипо-и гиперпаратирозидизма.

Список используемой литературы

Обязательная

1 «БИОХИМИЯ» Учебник для вузов /под ред.Е.С.Северина.- М.: ГЭОТАР-МЕД, 2015.-784 с.

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 2012.-740 с.

Дополнительная

1. Николаев А. Я. Биологическая химия: учебник М.: Высшая школа, 1989
2. Биохимия человека. В 2 т. под ред. Л.М. Гиномана, М.: Мир, 1993
3. Биохимия: руководство к практическим занятиям: учеб. пособие под ред. Н.Н. Чернова, М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009
4. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия. М. : ГЭОТАР, 2000
5. Биохимия. Тестовые вопросы: учеб. пособие под ред. Д.М. Зубаирова, М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008
6. Биохимические основы патологических процессов (под ред.Е.С.Северина). М.Медицина, 2000, 304 с.
7. Ленинджер Л. Биохимия, Москва, 1986 (Т.1,2,3)
8. Уайт А. Основы биохимии, Москва, 1981
9. Мак Мюррей У. Обмен веществ у человека. Москва, 1980
10. Вельтишев Ю.В., Князев Ю.А. «Обмен веществ у детей». Москва, 1983.
11. Е.С.Северин, Т.Л.Алейникова, Е.В.Осипов «Биохимия». М.: Медицина, 2000, 164 с.

ЗАНЯТИЕ №6

ТЕМА: Регуляция и интеграция обмена веществ в организме. Регуляция водно-солевого обмена. Строение и функции альдостерона и вазопрессина. Система ренин-ангиотензин-альдостерон. Биохимические механизмы возникновения почечной гипертензии, отеков, дегидратации. Гормоны коры надпочечников – глюкокортикостероиды и минералокортикостероиды (кортизон, кортикостерон и альдостерон). Гормоны половых желез. Андрогены, эстрогены, их биологическая роль. Важнейшие представители гормоноидов. Простагландины, их биологическая роль. Применение гормонов и их синтетических аналогов в медицине. Обнаружение 17-кетостероидов в моче. Качественная реакция на фолликулин.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

1. Гормональную регуляцию водно-солевого обмена.
2. Строение и синтез стероидных гормонов.
3. Строение и функции альдостерона.
4. Строение и функции вазопрессина.
5. Строение, синтез и механизм действия глюкокортикоидов на органы-мишени и их метаболические эффекты.
6. Регуляцию глюкокортикоидов, роль АКТГ.

7. Строение, синтез и механизм действия на ткани-мишени минералокортикоидов.

8. Роль РААС в регуляции минералокортикоидной функции надпочечников.

9. Проявления гипо- и гиперфункции коры надпочечников.

10. Биологическую роль андрогенов и экстрагенов.

11. Важнейшие представители гормоноидов.

12. Простагландины, их биологическая роль.

13. Применение гормонов и их синтетических аналогов в медицине.

Студент должен уметь:

1. Определять стероидные гормоны в биологических жидкостях и их метаболиты.

2. Провести качественную реакцию на фолликулин.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:
Основные вопросы.

1. Химическая структура, синтез и биологическое действие глюкокортикоидов.

2. Представители минералокортикоидов, их синтез и участие в регуляции функций почек и водно-солевого обмена.

3. Механизм действия кортикостероидов на уровне органов-мишеней.

4. Регуляция глюкокортикоидов, роль АКТГ.

5. Участие РААС в минералокортикоидной функции надпочечников.

3. Представители женских и мужских половых гормонов.

4. Лимитирующая стадия в синтезе мужских и женских половых гормонов.

5. Синтез мужских половых гормонов.

6. Синтез женских половых гормонов.

7. Механизм действия половых гормонов на уровне органов-мишеней.

8. Влияние половых гормонов на обмен веществ в мужском и женском организмах.

9. Нарушения обмена веществ при гипо- и гиперфункции этих эндокринных желез.

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Обнаружение 17-кетостероидов в моче

2. Качественные реакции на фолликулин.

3. Бензидиновая проба на кровь.

4. Определение билирубина.

Наглядные пособия: таблицы

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Условия, необходимые для синтеза кортикостероидных гормонов.
2. Источники холестерина – как субстрата синтеза стероидных гормонов.
3. Классификация стероидных гормонов.
4. Представители глюкокортикоидов.
5. Начальные этапы синтеза, образование ключевого соединения – прегненолона.
6. Реакции превращения прегненолона в глюкокортикоиды, характеристика ферментов, локализация.
7. Реакции превращения прегненолона в минералокортикоиды, характеристика ферментов, локализация процесса.
8. Транспортные механизмы кортикостероидных гормонов.
9. Органы-мишени глюкокортикоидных гормонов.
10. Биологическое действие глюкокортикоидов – метаболические влияния.
11. Органы-мишени минералокортикоидных гормонов.
12. Метаболические влияния минералокортикоидов на функцию почек и водно-солевой обмен.
13. Регуляция глюкокортикоидов, роль АКТГ.
14. Участие РААС в минералокортикоидной функции надпочечников.
15. Причины гиперфункции коры надпочечников – болезнь Иценко-Кушинга.
16. Причины гипофункции коры надпочечников – болезнь Аддисона.
17. Гиперпродукция альдостерона – болезнь Кона.
18. Вторичный гиперальдостеронизм.
19. Представители мужских половых гормонов.
20. Синтез тестостерона и дегидротестостерона.
21. Лимитирующая стадия в синтезе мужских и женских половых гормонов.
22. Транспорт гормонов.
23. Органы-мишени для мужских половых гормонов.
24. Органы-мишени для женских половых гормонов.
25. Механизм действия тестостерона и дегидротестостерона.
26. Анаболическое действие мужских половых гормонов.
27. Эффекты мужских половых гормонов.

28. Механизм действия эстрогенов и прогестерона.
29. Регуляция синтеза мужских половых гормонов.
30. Регуляция синтеза женских половых гормонов.
31. Представители женских половых гормонов.
32. Синтез эстрогенов.
33. Синтез прогестерона.
34. Гипогонадизм.
35. Инфантилизм.
36. Патологические состояния, вызванные изменением соотношения различных групп стероидов.
37. Клиническое значение определения содержания гормонов надпочечников или их метаболитов в моче.

Актуальность темы занятия.

1. Водно-солевой обмен.

Одним из наиболее часто нарушающихся при патологии видов обмена веществ является водно-солевой. Он связан с постоянным движением воды и минеральных веществ из внешней среды организма во внутреннюю, и наоборот.

В организме взрослого человека на воду приходится $\frac{2}{3}$ (58 - 67%) массы тела. Около половины ее объема сосредоточено в мышцах. Потребность в воде (человек ежедневно получает до 2,5-3 л жидкости) покрывается за счет поступления ее в виде питья (700-1700 мл), преформированной воды, входящей в состав пищи (800-1000 мл), и воды, образующейся в организме при обмене веществ - 200-300 мл (при сгорании 100 г жиров, белков и углеводов образуется соответственно 107,41 и 55 г воды). Эндогенная вода в относительно большом количестве синтезируется при активации процесса окисления жиров, что наблюдается при различных, прежде всего пролонгированных стрессовых состояниях, возбуждении симпатико-адреналовой системы, разгрузочной диетотерапии (нередко используемой для лечения больных ожирением).

Благодаря постоянно происходящим обязательным водным потерям внутренний объем жидкости в организме сохраняется неизменным. К числу таких потерь относят ренальные (1,5 л) и экстраренальные, связанные с выделением жидкости через желу-дочно-кишечный тракт (50-300 мл), дыхательные пути и кожу (850-1200 мл). В целом объем обязательных потерь воды составляет 2,5-3 л, во многом зависят от количества выводимых из организма шлаков.

Участие воды в процессах жизнедеятельности весьма разнообразно. Вода является растворителем многих соединений, непосредственным компонентом ряда физико-химических и биохимических превращений, транспортером эндо- и экзогенных веществ. Кроме того, она выполняет механическую функцию, ослабляя трение связок, мышц, поверхности хрящей суставов (тем самым облегчая их подвижность), участвует в терморегуляции. Вода поддерживает гомеостаз, зависящий от величины осмотического давления плазмы (изоосмия) и объема жидкости (изоволемиа), функционирования механизмов регуляции кислотно-основного состояния, протекания процессов, обеспечивающих постоянство температуры (изотермию).

В организме человека вода пребывает в трех основных физико-химических состояниях, в соответствии с которыми выделяют: 1) свободную, или мобильную, воду (составляет основную часть внутриклеточной жидкости, а также крови, лимфы, интерстициальной жидкости); 2) воду, связанную гидрофильными коллоидами, и 3) конституциональную, входящую в структуру молекул белков, жиров и углеводов.

В организме взрослого человека массой 70 кг объем свободной воды и воды, связанной гидрофильными коллоидами, составляет примерно 60% массы тела, т.е. 42 л. Эта жидкость представлена внутриклеточной водой (на ее долю приходится 28 л, или 40% массы тела), составляющей внутриклеточный сектор, и внеклеточной водой (14 л, или 20% массы тела), образующей внеклеточный сектор. В состав последнего входит внутрисосудистая (интраваскулярная) жидкость. Этот внутрисосудистый сектор образован плазмой (2,8 л), на долю которой приходится 4--5% массы тела, и лимфой.

Интерстициальная вода включает в себя собственно межклеточную воду (свободную межклеточную жидкость) и организованную внеклеточную жидкость (составляющую 15--16% массы тела, или 10,5 л), т.е. воду связок, сухожилий, фасций, хрящей и т.д. Кроме того, к внеклеточному сектору относят воду, находящуюся в некоторых полостях (брюшной и плевральной полости, перикарда, суставов, желудочков мозга, камерах глаза и др.), а также в желудочно-кишечном тракте. Жидкость этих полостей не принимает активного участия в метаболических процессах.

Вода человеческого организма не застаивается в различных его отделах, а постоянно движется, непрерывно обмениваясь с другими секторами жидкости и с внешней средой. Передвижение воды во многом осуществляется благодаря выделению пищеварительных соков. Так, со слюной, с соком поджелудочной железы в кишечную трубку направляется около 8 л воды в сутки, но эта вода вследствие всасывания в более низких участках пищеварительного тракта практически не теряется.

Жизненно необходимые элементы подразделяются на макроэлементы (суточная потребность >100 мг) и микроэлементы (суточная потребность <100 мг). К макроэлементам относятся натрий (Na), калий (K), кальций (Ca), магний (Mg), хлор (Cl), фосфор (P), сера (S) и иод (I). К жизненно важным микроэлементам, необходимым лишь в следовых количествах, относятся железо (Fe), цинк (Zn), марганец (Mn), медь (Cu), кобальт (Co), хром (Cr), селен (Se) и молибден (Mo). Фтор (F) не принадлежит к этой группе, однако он необходим для поддержания в здоровом состоянии костной и зубной ткани. Вопрос относительно принадлежности к жизненно важным микроэлементам ванадия, никеля, олова, бора и кремния остается открытым. Такие элементы принято называть условно эссенциальными.

У детей и женщин в период беременности и кормления ребенка, а также у больных потребность в микроэлементах обычно выше.

Так как многие элементы могут запасаться в организме, отклонение от суточной нормы компенсируется во времени. Кальций в форме апатита запасается в костной ткани, иод - в составе тиреоглобулина в щитовидной железе, железо -- в составе ферритина и гемосидерина в костном мозге, селезенке и печени. Местом хранения многих микроэлементов служит печень.

Обмен минеральных веществ контролируется гормонами. Это относится, например, к потреблению H_2O , Ca^{2+} , PO_4^{3-} , связыванию Fe^{2+} , I^- , экскреции H_2O , Na^+ , Ca^{2+} , PO_4^{3-} .

Количество минеральных веществ, абсорбированных из пищи, как правило, зависит от метаболических потребностей организма и в ряде случаев от состава пищевых продуктов. В качестве примера влияния состава пищи можно рассмотреть кальций. Всасыванию ионов Ca^{2+} способствуют молочная и лимонная кислоты, в то время как фосфат-ион, оксалат-ион и фитиновая кислота ингибируют всасывание кальция из-за комплексообразования и образования плохо растворимых солей (фитин).

Дефицит минеральных веществ -- явление не столь редкое: оно возникает по различным причинам, например из-за однообразного питания, нарушения усвояемости, при различных заболеваниях. Недостаток кальция может наступить в период беременности, а также при рахите или остеопорозе. Хлородефицит наступает из-за большой потери ионов Cl^- при сильной рвоте. Из-за недостаточного содержания иода в пищевых продуктах во многих районах Центральной Европы распространенным явлением стали иодо дефицитные состояния и зубная болезнь. Дефицит магния может возникать из-за диареи или из-за однообразного питания при алкоголизме. Недостаток в организме микроэлементов часто проявляется нарушением кроветворения, т.е. анемией. В последней колонке перечислены функции, выполняемые в организме указанными минеральными веществами. Из данных таблицы видно, что почти все макроэлементы функционируют в организме как структурные компоненты и электролиты. Сигнальные функции выполняют иод (в составе иодтиронина) и кальций. Большинство микроэлементов являются кофакторами белков, главным образом ферментов. В количественном отношении в организме преобладают железосодержащие белки гемоглобин, миоглобин и цитохром, а также более 300 цинксодержащих белков.

2. Регуляция водно-солевого обмена. Роль вазопрессина, альдостерона и ренин-ангиотензиновой системы

Основными параметрами водно-солевого гомеостаза являются осмотическое давление, рН и объем внутриклеточной и внеклеточной жидкости. Изменение этих параметров может привести к изменению артериального давления, ацидозу или алкалозу, дегидратации и отекам. Основными гормонами, участвующими в регуляции водно-солевого баланса, являются АДГ, альдостерон и предсердный натрий-уретический фактор (ПНФ).

АДГ, или вазопрессин, -- пептид, содержащий 9 аминокислот, соединенных одним дисульфидным мостиком. Синтезируется в виде прогормона в гипоталамусе, затем переносится в нервные окончания задней доли гипофиза, из которых секретируется в кровоток при соответствующей стимуляции. Перемещение по аксону связано со специфическим белком-переносчиком (нейрофизином)

Стимулом, вызывающим секрецию АДГ, служит повышение концентрации ионов натрия и увеличение осмотического давления внеклеточной жидкости.

Наиболее важные клетки-мишени для АДГ - клетки дистальных канальцев и собирательные трубочки почек. Клетки этих протоков относительно непроницаемы для воды, и в отсутствие АДГ моча не концентрируется и может выделяться в количествах, превышающих 20 л в сутки (норма 1--1,5 л в сутки).

Для АДГ существуют два типа рецепторов - V_1 и V_2 . Рецептор V_2 обнаружен только на поверхности эпителиальных клеток почек. Связывание АДГ с V_2

сопряжено с аденилатциклазной системой и стимулирует активацию протеинкиназы А (ПКА). ПКА фосфорилирует белки, которые стимулируют экспрессию гена мембранного белка -- аквапорина-2. Аквапорин 2 перемещается к апикальной мембране, встраивается в нее и образует водные каналы. Эти обеспечивают селективную проницаемость мембраны клеток для воды. Молекулы воды свободно диффундируют в клетки почечных канальцев, а затем поступают в интерстициальное пространство. В результате происходит реабсорбция воды из почечных канальцев. Рецепторы типа V_1 локализованы в мембранах гладких мышц. Взаимодействие АДГ с рецептором V_1 приводит к активации фосфолипазы C, которая гидролизует фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат с образованием ИФ-3. ИФ-3 вызывает высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума. Результатом действия гормона через рецепторы V_1 является сокращение гладкомышечного слоя сосудов.

Дефицит АДГ, вызванный дисфункцией задней доли гипофиза, а также нарушением в системе передачи гормонального сигнала может приводить к развитию несахарного диабета. Основным проявлением несахарного диабета является полиурия, т.е. выделение большого количества мочи низкой плотности.

Альдостерон - наиболее активный минералокортикостероид синтезируется в коре надпочечников из холестерина.

Синтез и секрецию альдостерона клетками клубочковой зоны стимулируют ангиотензин II, АКТГ, простагландин Е. Эти процессы также активируются при высокой концентрации K^+ и низкой концентрации Na^+ .

Гормон проникает внутрь клетки-мишени и взаимодействует со специфическим рецептором, расположенным как в цитозоле, так и в ядре.

В клетках почечных канальцев альдостерон стимулирует синтез белков, которые выполняют разные функции. Эти белки могут: а) увеличивать активность натриевых каналов в мембране клеток дистальных почечных канальцев, способствуя тем самым транспорту ионов натрия из мочи в клетки; б) являться ферментами ЦТК и, следовательно, увеличивать способность цикла Кребса генерировать молекулы АТФ, необходимые для активного транспорта ионов; в) активировать работу насоса K^+ , Na^+ -АТФазы и стимулировать синтез новых насосов. Суммарным результатом действия белков, которых индуцируется альдостероном, является увеличение реабсорбции ионов натрия в канальцах нефронов, что вызывает задержку NaCl в организме.

Главным механизмом регуляции синтеза и секреции альдостерона служит ренин-ангиотензиновая система.

Ренин - фермент, продуцируемый юктагломерулярными клетками почечных афферентных артериол. Локализация этих клеток делает их особенно чувствительными к изменению артериального давления. Снижение артериального давления, потеря жидкости или крови, уменьшение концентрации NaCl стимулируют высвобождение ренина.

Ангиотензиноген --₂ - глобулин, образующийся в печени. Он служит субстратом для ренина. Ренин гидролизует пептидную связь в молекуле ангиотензиногена и отщепляет N-концевой декапептид (ангиотензин I).

Ангиотензин I служит субстратом для ангиотензинпревращающего фермента карбоксидипептидилпептидазы, выявленного в эндотелиальных клетках и плазме крови. От ангиотензина I отщепляются 2 терминальные аминокислоты с образованием октапептида -- ангиотензина II.

Ангиотензин II стимулирует выработку альдостерона, вызывает сужение артериол вследствие чего повышается артериальное давление и вызывает жажду. Ангиотензин II активирует синтез и секрецию альдостерона через инозитолфосфатную систему.

ПНФ - пептид, содержащий 28 аминокислот с единственным дисульфидным мостиком. ПНФ синтезируется и хранится в виде препрогормона (состоящего из 126 аминокислотных остатков) в кардиоцитах.

Основной фактор, регулирующий секрецию ПНФ - повышение артериального давления. Другие стимулы: увеличение осмотической плазмы, повышение частоты сердцебиения, повышенный уровень катехоламинов в крови и глюкокортикоидов.

Основные органы-мишени ПНФ - почки, периферические артерии.

Механизм действия ПНФ имеет ряд особенностей. Рецептор ПНФ плазматической мембраны является белком, обладающим активностью гуанилатциклазы. Рецептор имеет доменное строение. Домен, связывающийся с лигандом, локализован во внеклеточном пространстве. В отсутствие ПНФ внутриклеточный домен рецептора ПНФ находится в фосфорилированном состоянии и неактивен. В результате связывания ПНФ с рецептором гуанилатциклазная активность рецептора возрастает и происходит образование циклического GMP из GTP. В результате действия ПНФ ингибируются образование и секреция ренина и альдостерона. Суммарным эффектом действия ПНФ является увеличение экскреции Na^+ и воды и понижение артериального давления.

ПНФ обычно рассматривают как физиологический антагонист ангиотензина II, поскольку под его влияния возникают не сужение просвета сосудов и (через регуляцию секреции альдостерона) задержка натрия, а наоборот, расширение сосудов и потеря соли.

3. Структура и биологическое действие глюко- и минералокортикоидов.

Особенности протекания метаболических процессов в клетках различных органов и регуляция интенсивности химических реакций зависят не только от изменения активности ферментов, но и от их количества в клетках. Изменение количества ферментов в клетках осуществляется путем индукции и репрессии генов. Ферменты, количество которых резко изменяется в зависимости от метаболизма называются адаптивными или индуцибельными. К гормонам регулирующим процессы синтеза «de novo» относятся стероидные гормоны. Они являются производными циклопентанпергидрофенантренового ядра и по биологическому действию делятся на III группы:

- глюко-, минерало-кортикоиды (C_{21})
- половые гормоны: мужские – тестостерон (C_{19}), 5 α -дегидротестостерон; женские (C_{18}) – эстрадиол, эстрон, эстриол

Для синтеза стероидных гормонов необходимо следующее:

- аэробные условия: митохондрии, микросомы;
- наличие НАДФН⁺, необходимый для ферментов монооксигеназ (МОГ);
- наличие субстратов: свободный холестерин, который образуется из эстерифицированного холестерина холестеринэстеразой;
- ферменты: МОГ, осуществляющие окисление холестерина (по C²⁰, 22, 21, 11, 17, 18);

- десмолазы (IV класс, лиазы, действующие на -C—C- связи), отщепляющие боковой радикал на начальном этапе синтеза от 20,22-диоксихолестерина или от 17-оксипрегненолона- в виде ацетальдегида;

- 3-β-гидроксистероиддегидрогеназа, окисление у C-3;

- изомеразы.

Синтез происходит по следующей схеме: образование свободного холестерина, перенесенного из митохондрий, где из него образуется прегненолон, который попадает в ЭПС, где протекают дальнейшие реакции.

СИНТЕЗ МИНЕРАЛОКОРТИКОИДОВ

ПРЕГНЕНОЛОН → ПРОГЕСТЕРОН → 11,ДЕЗОКСИКОРТИКОСТЕРОН → КОРТИКОСТЕРОН → 18, ОКСИ-КОРТИКОСТЕРОН → АЛЬДОСТЕРОН

СИНТЕЗ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ

ПРЕГНЕНОЛОН → 17-ОКСИПРЕГНЕНОЛОН → 17-ОКСИПРОГЕСТЕРОН → 11-ДЕЗОКСИКОРТИЗОЛ → КОРТИЗОЛ → КОРТИЗОН

Синтез стероидных гормонов стимулируется в коре надпочечников кортикотропином, который регулирует: транспорт эстерифицированного холестерина в клетки, активность холестеринэстеразы, митохондриальные ферменты превращающие холестерин в прегненолон, процессы катаболизма углеводов и липидов, обеспечивает стероидогенез пластическим материалом.

Глюкокортикоиды связываются в крови с транскортином и транспортируются к органам-мишеням:печень, почки, лимфатические клетки(селезенка, лимфоузлы, лимфатические бляшки кишечника, лимфоциты, тимус и др). Глюкокортикоиды проникают в клетки и связываются с цитоплазматическими рецепторами, регуляция внутриклеточных процессов под влиянием кортикостероидных гормонов проявляется в изменении количества белка, путем регуляции транскрипции генов в клетках-мишенях. В соответствии с этим, эффекты глюкокортикоидов на синтез белка можно разделить на 2 группы. В печени и почках усиливается транскрипция специфических генов, например, кодирующих синтез ключевых ферментов глюконеогенеза – пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-бис-фосфатазы, глюкозо-6-фосфатазы. В остальных тканях ингибируется синтез белка, а в лимфоидной ткани усиливается лимфоцитоллиз. Блокада синтеза белка в лимфоидной ткани и активный протеолиз в ней увеличивает фонд аминокислот, которые поступают в кровь. В печени и почках эти аминокислоты, т.е. их углеводородные скелеты используются в синтезе белка и для глюконеогенеза, глюкоза хуже проникает в клетки, поэтому развивается гипергликемия. Глюкокортикоиды оказывают противовоспалительное действие, принимают участие во II-ой стадии стресса, усиливают липолиз, образующиеся глицерин (используется в глюконеогенезе) и жирные кислоты (в печени из ацетил- КоА синтезируются кетоновые тела). Таким образом в крови повышается содержание глюкозы, аминокислот, жирных кислот, кетоновых тел, в моче – глюкозурия , кетонурия, аминоацидурия.

Минералокортикоиды: Альдостерон транспортируется со стероидсвязывающим белком (α-глобулином) и транспортируется к клеткам органов-мишеней: канальцы почек, эпителий мочевого пузыря. Этот гормон обладает цитоплазматически-ядерным механизмом действия, индуцируя процессы

транскрипции специфических генов, синтез иРНК и на рибосомах синтез белка (трансляция). Синтезируются II типа белка:

- белки, увеличивающие проницаемость мембраны эпителиальных клеток почечных канальцев для ионов
- вторая разновидность-это белки-ферменты,- в частности Na, K – АТФ-аза.

В результате усиливается реабсорбция Na^+ и секреция K^+ , а также H^+ в мочу. Задержка натрия, вызывает увеличение осмотического давления крови и секрецию АДГ. Это приводит к задержке воды, а также пассивному движению воды за натрием, что и восстанавливает объем крови. Во-вторых, повышенная концентрация ионов натрия придает мышечным клеткам артериол большую чувствительность к вазоактивным веществам. Это приводит в сочетании с прямым действием ангиотензина II на сосуды к восстановлению АД. Альдостерон восстанавливает объем крови, АД и тормозит секрецию ренина.

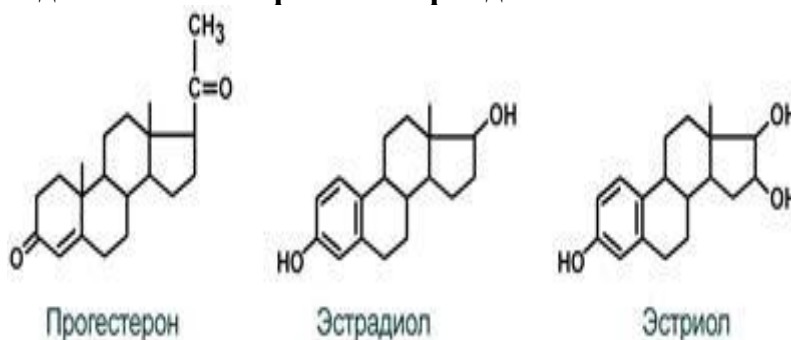
Итак, можно выделить 4 основных эффекта альдостерона:

- 1) повышает реабсорбцию натрия в почечных канальцах
- 2) повышает секрецию ионов калия и водородных в мочу
- 3) регулирует объем циркулирующей крови
- 4) регулирует величину кровяного артериального давления.

Регуляция синтеза и секреции альдостерона осуществляется под действием ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). При снижении АД и объема крови в почках возбуждаются барорецепторы ЮГА, идет выделение ренина. Ренин расщепляет α_2 -глобулин-ангиотензиноген с образованием ангиотензина I, от ангиотензина I отщепляется дипептид, под действием фермента карбопептидазы и образуется ангиотензин II, который стимулирует клетки клубочковой зоны коры надпочечников, повышает тонус сосудов - вазоконстрикция, повышает внутриклеточную концентрацию кальция.

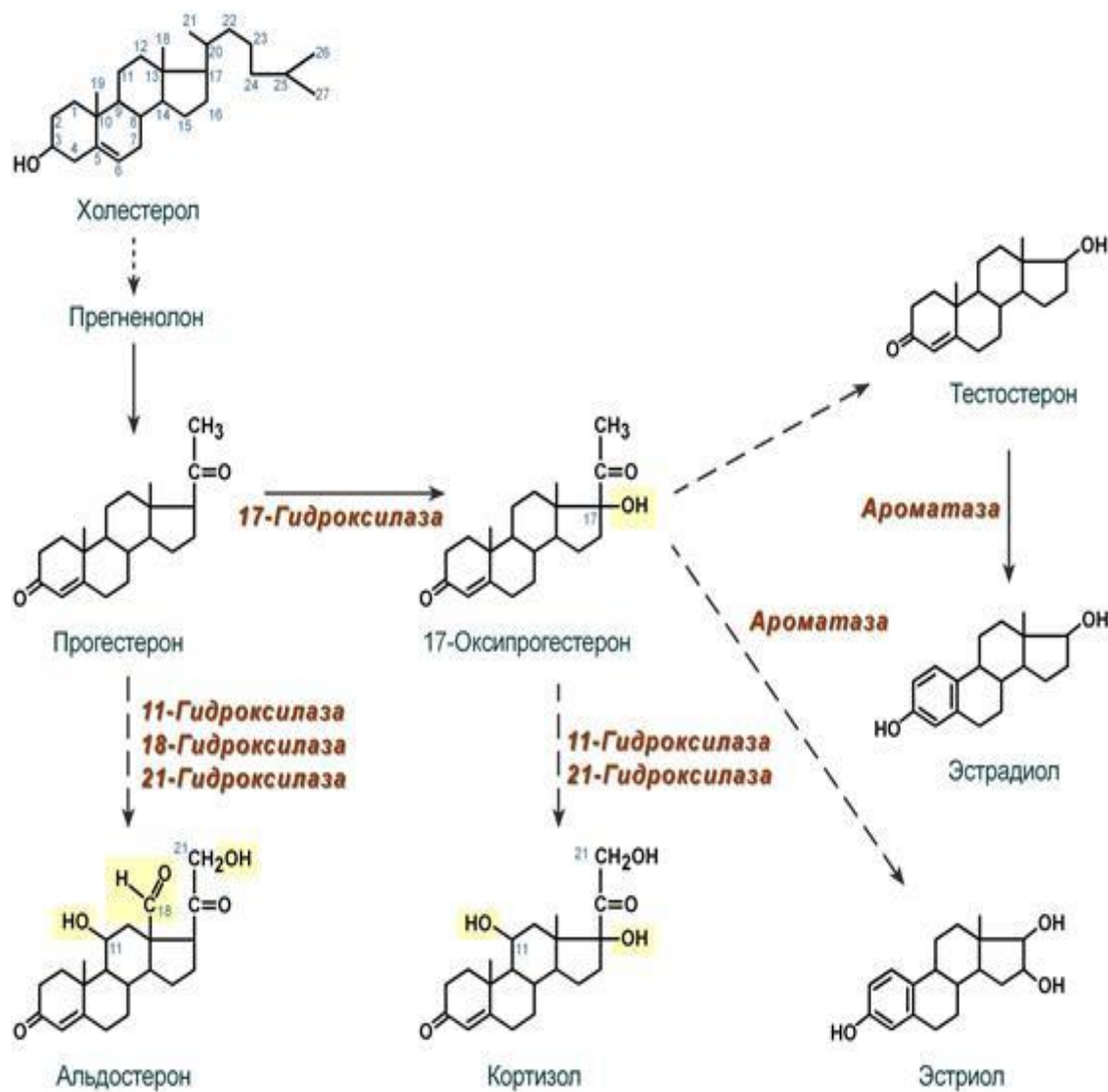
4. Структура и биологическое действие половых гормонов.

Женские половые гормоны - эстрогены и прогестины являются производными холестерина – стероиды.



Синтез.

Женские гормоны: **эстрогены** синтезируются в фолликулах яичников, **прогестерон** – в желтом теле. Частично гормоны могут образовываться в адипоцитах в результате ароматизации андрогенов.



Регуляция синтеза и секреции

Активируют: синтез эстрогенов – лютеинизирующий и фолликулостимулирующий гормоны, синтез прогестерона – лютеинизирующий гормон.

Уменьшают: половые гормоны по механизму обратной отрицательной связи.

Гормональный цикл женщины

1. В начале цикла несколько фолликулов начинают увеличиваться в размерах в ответ на ФСГ-стимуляцию. Затем один из фолликулов начинает расти быстрее.

2. Под влиянием ЛГ гранулезные клетки этого фолликула синтезируют эстрогены, которые подавляют секрецию ФСГ и способствуют регрессии других фолликулов.

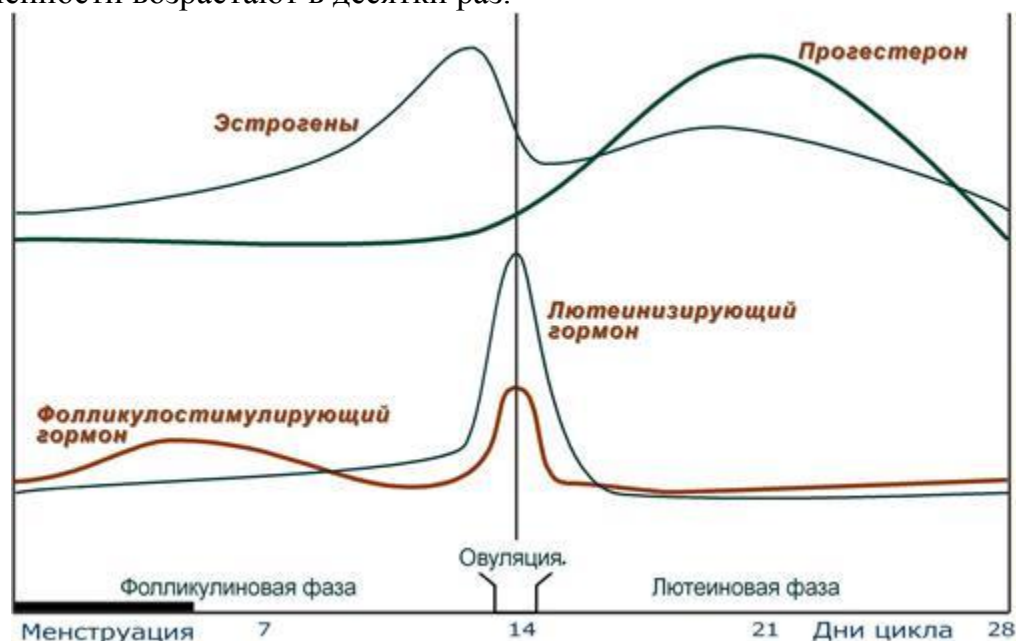
3. Постепенное накопление эстрогенов к середине цикла является стимулом для секреции ФСГ и ЛГ перед овуляцией.

4. Резкое повышение концентрации ЛГ также может быть обусловлено постепенным накоплением прогестерона (под влиянием того же ЛГ) и срабатыванием механизма обратной положительной связи.

5. После овуляции образуется желтое тело, продуцирующее прогестерон.

6. Высокие концентрации стероидов подавляют секрецию гонадотропных гормонов, желтое тело в результате дегенерирует и синтез стероидов снижается. Это вновь активирует синтез ФСГ и цикл повторяется.

7. При возникновении беременности желтое тело стимулируется хорионическим гонадотропином, который начинает синтезироваться через две недели после овуляции. Концентрации эстрогенов и прогестерона в крови при беременности возрастают в десятки раз.



Гормональные изменения во время менструального цикла

Мишени и эффекты

Эстрогены

1. **При половом созревании** эстрогены активируют синтез белка и нуклеиновых кислот в органах половой сферы и обеспечивают формирование половых признаков: ускоренный рост и закрытие эпифизов длинных костей, определяют распределение жира на теле, пигментацию кожи, стимулируют развитие влагалища, маточных труб, матки, развитие стромы и протоков грудных желез, рост подмышечных и лобковых волос.

2. В организме взрослой женщины:

Биохимические эффекты

- активирует в печени синтез транспортных белков для тироксина, железистого эпителия эндометрия, железа, меди и т.п.,
- стимулирует синтез и подкожной клетчатки, факторов свертывания крови – II, VII, IX, X, плазминогена, фибриногена, кишечника, что повышает абсорбцию подавляет синтез антитромбина III и веществ. адгезию тромбоцитов,
- увеличивает синтез ЛПВП, подавляет ЛПНП, повышает концентрацию ТАГ в крови и снижает содержание холестерина,
- снижает резорбцию кальция из костной ткани.

Другие эффекты

- стимулирует рост
- определяет структуру кожи
- подавляет перистальтику

Прогестерон

Прогестерон является основным гормоном второй половины цикла и его задача – обеспечить наступление и сохранение беременности.

Биохимические эффекты

- повышает активность липопротеинлипазы на эндотелии беременной матки, капилляров,
- увеличивает концентрацию дыхательного центра на CO_2 , что инсулина в крови,
- подавляет реабсорбцию CO_2 при беременности и в лютеиновую фазу цикла,
- является ингибитором ферментов дыхательной цепи, что снижает катаболизм,
- ускоряет выведение азота из организма женщины.

Другие эффекты

- расслабляет мышцы
- усиливает реакцию
- снижает в крови парциальное давление
- обуславливает рост молочной железы при беременности,
- сразу после овуляции является хемотактантом для сперматозоидов, движущихся по маточным трубам.

Патология

Гипофункция

Врожденная или приобретенная гипофункция половых желез неизбежно приводит к остеопорозу. Патогенез его не вполне понятен, хотя известно, что эстрогены замедляют резорбцию кости у женщин детородного возраста.

Гиперфункция

Женщины. Повышение **прогестерона** может проявляться маточными кровотечениями и нарушением менструального цикла. Повышение **эстрогенов** может проявляться маточными кровотечениями.

Мужчины. Высокие концентрации **эстрогенов** ведут к недоразвитию половых органов (гипогонадизму), к атрофии простаты и сперматогенного эпителия яичек, ожирению по женскому типу и росту грудных желез.

Мужские половые гормоны - тестостерон

К мужским половым гормонам относятся: тестостерон, 5α -дегидротестостерон. Они синтезируются из холестерина в семенниках, в клетках Лейдига, а в клетках Сертоли создаются условия для дифференцировки и созревания половых клеток. Лимитирующей стадией синтеза является освобождение холестерина из эстерифицированного холестерина и отщепление боковой цепи с образованием прегненолона. В превращении прегненолона в тестостерон в микросомах участвует 5 ферментных систем:

- 1) 3β -гидроксистероиддегидрогеназа
- 2) $5,4$ – изомераза
- 3) 17α -гидроксилаза
- 4) C_{17-20} – лиаза
- 5) 17β -гидроксистероиддегидрогеназа

Лимитирующей стадией синтеза тестостерона является 3β -гидроксистероиддегидрогеназа. Ежедневно синтезируется 5мг тестостерона, содержание в крови в пределах 14-21 нмоль/л. В крови связывается с α -глобулином (андрогенсвязывающий белок) и транспортируется к месту сперматогенеза. Классификация органов-мишеней: простата, семенные пузырьки, внешние гениталии. Активный фермент 5α -редуктаза катализирует образование активной

формы - 5 α -дегидротестостерона (до 400 мкг). Меняя активность этого фермента, 5 α -редуктаза может регулировать действие гормона. После проникновения в цитоплазму, он связывается с рецептором и в таком виде проникает в ядро, где связывается с определенными структурами хроматина. При этом снижаются процессы транскрипции и трансляции, что сопровождается синтезом новых типов белков. Таким образом стимулируются анаболические процессы, процессы сперматогенеза, половой дифференцировки, процессы развития половых признаков и психосоматического статуса мужчины

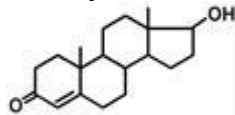
Тестостерон и 5 α -дегидротестостерон стимулируют окисление глюкозы, липолиз ТАГ и синтез фосфолипидов. Метаболизм данных гормонов осуществляется окислением в 17-ом положении и образованием 17- кетостероидов. Сам тестостерон и 5 α -дегидротестостерон по механизму отрицательной обратной связи тормозят продукцию и секрецию гонадолиберина.

У самок образуется 2 типа гормонов: эстрогены и гестагены. Представителями первой группы являются – эстрадиол, эстрон, эстриол. Они образуются в фолликулах яичников из холестерина $\rightarrow$ тестостерон $\rightarrow$ ароматизация 1 кольца, 19 CH₃ $\rightarrow$ 19 CH₂OH $\rightarrow$ 19 CHO $\rightarrow$ эстрадиол, при действии фермента дегидрогеназы образуется эстрон, а при действии фермента 16-гидроксилазы – эстриол. В крови транспортируется со стероидсвязывающим белком и доставляется к органам-мишеням. Механизм действия этих гормонов связан с усилением матричного синтеза белка: в печени усиливается синтез белков переносчиков стероидных и тиреоидных гормонов, факторов свертывания крови II, VII, IX, X, ангиотензиногена, ЛПВП, ЛПОНП. Для них характерны анаболические эффекты на белковый обмен. Усиливают гликолиз, пентозофосфатный цикл, ускоряют высвобождение холестерина, тормозят активность Na, K-АТФ-азы, обеспечивают развитие половых органов, вторичных половых признаков, протекание беременности, лактацию, роды. Прогестерон действует только в период функционирования желтого тела, он тормозит сократительную функцию матки, оплодотворение яйцеклетки, лактацию.

Нарушения: адреногенитальный синдром (дефицит 21-гидроксилазы) - вирилизирующая форма и сольтеряющая (компенсированная и декомпенсированная)

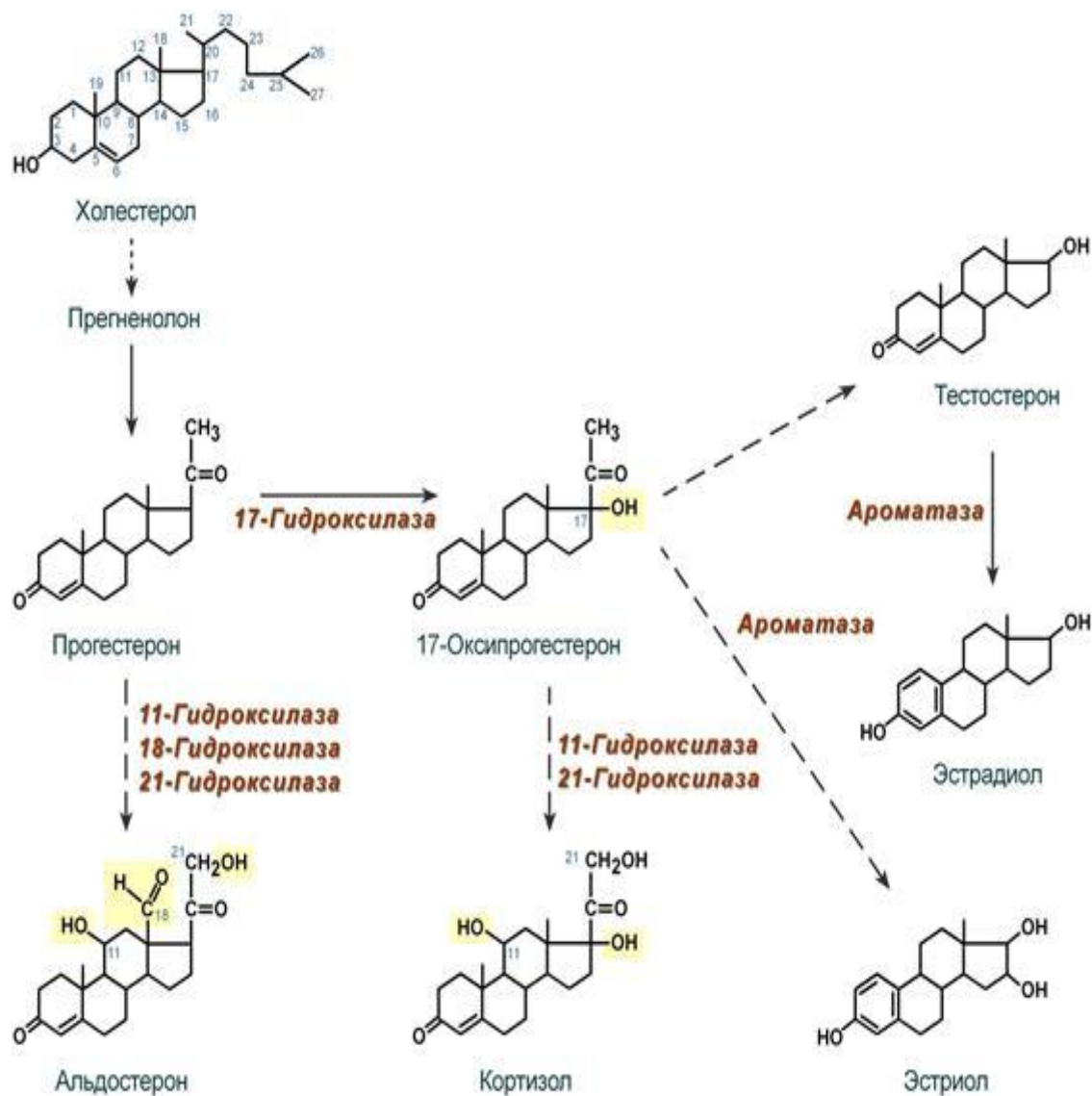
Дефицит 11-гидроксилазы: гипертензионный синдром, нарушение синтеза тестостерона - гипогонадизм, нарушение гормональной функции яичников-инфантилизм.

По строению являются производными холестерина, т.е. стероидами.



Строение тестостерона

Мужские гормоны: на 95% тестостерон синтезируется в клетках Лейдига семенников и на 5% в периферических тканях при метаболизме андрогенов, образованных в сетчатой и пучковой зонах надпочечников



Механизм действия

Цитозольный.

Регуляция синтеза и секреции

Синтез тестостерона усиливается в клетках Лейдига при помощи ЛГ.

Мишени и эффекты

Тестостерон вызывает синтез всего, что позволяет увеличить массу тканей.

Биохимические эффекты

- задержка азота,
- активация синтеза белков, рост кости в отрочестве с последующей РНК, ДНК, липидов, полисахаридов остановкой роста и закрытием эпифизов, большинства тканей.

Другие эффекты

- совместно с СТГ ускоряет
- усиливает продукцию эритроцитов,
- обуславливает рост мышц,
- стимулирует сальные железы, что повышает жирность кожи и вызывает возникновение угрей (*acne vulgaris*). Может наблюдаться у подростков обоего пола и у женщин в

менопаузе,

- увеличивает общую пигментацию, снижение тембра голоса,
- определяет распределение жира,
- увеличивает сперматогенез и развитие предстательной железы,
- отвечают за сексуальное влечение (либидо) как у мужчин, так и у женщин.

Патология. Гипофункция

Мужчины. При возникновении гипогонадизма в детском возрасте замедляется половое созревание и развитие половых органов. У взрослых происходит демаскулинизация, рост груди, вечерний упадок сил, бесплодие и все симптомы, характерные для менопаузы женщин.

Врожденная или приобретенная гипофункция половых желез неизбежно приводит к **остеопорозу**. Патогенез его не вполне понятен, хотя известно, что андрогены оказывают анаболическое действие на костную ткань у мужчин.

Гиперфункция

Мужчины и женщины. Сальность кожи, себорея, угри.

Женщины. Повышение уровня андрогенов проявляется **повышенным ростом волос** на руках, ногах, животе, лице (чаще над верхней губой), вокруг сосков, ухудшением состояния кожи (*acne vulgaris* – угревая сыпь), при длительно повышенном уровне андрогенов (например, при аденогенитальном синдроме) фигура женщины приобретает мужские черты (узкий таз, широкие плечи, развитая мышечная масса). Повышенный уровень андрогенов может приводить к **бесплодию** или самопроизвольному выкидышу.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Написать реакции синтеза глюкокортикоидных гормонов.
2. Объяснить механизм действия гормонов на уровне клеток-мишеней.
3. Влияние глюкокортикоидных гормонов на водно-солевой, белковый, липидный, углеводный обмен.
4. Отличия во влиянии глюкокортикоидных гормонов на белковый обмен в гепатоцитах и в других периферических органах.
5. Использование глюкокортикоидных гормонов как противовоспалительных средств при патологии соединительной ткани. Последствия терапии.
6. Участие инсулина в механизме действия глюкокортикоидных гормонов на липидный обмен на фоне гипергликемии.
7. Биохимические проявления, характеристика для гиперпродукции глюкокортикоидных гормонов.
8. Гипо- и гиперфункция коры надпочечников: болезнь Иценко-Кушинга и Аддисона-Бирмера. Регуляция глюкокортикоидов, роль АКТГ.
9. Написать реакции синтеза минералокортикоидов.
10. Метаболические влияния минералокортикоидов на функцию почек и водно-солевой обмен.

11. Участие РААС в минералокортикоидной функции надпочечников.
12. Нарушение минералокортикоидной функции надпочечников – болезнь Кона.
13. Вторичный гиперальдостеронизм и его последствия.
14. Представители мужских половых гормонов.
15. Синтез тестостерона и дегидротестостерона.
16. Лимитирующая стадия в синтезе мужских и женских половых гормонов.
17. Транспорт гормонов.
18. Органы-мишени для мужских половых гормонов.
19. Органы-мишени для женских половых гормонов.
20. Механизм действия тестостерона и дегидротестостерона.
21. Анаболическое действие мужских половых гормонов.
22. Эффекты мужских половых гормонов.
23. Механизм действия эстрогенов и прогестерона.
24. Регуляция синтеза мужских половых гормонов.
25. Регуляция синтеза женских половых гормонов.
26. Представители женских половых гормонов.
27. Синтез эстрогенов.
28. Синтез прогестерона.
29. Гипогонадизм.
30. Инфантилизм.
31. Патологические состояния, вызванные изменением соотношения различных групп стероидов.
32. Клиническое значение определения содержания гормонов надпочечников или их метаболитов в моче.

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Обнаружение 17-кетостероидов в моче

Принцип метода: Метод основан на реакции 17-кетостероидов с м-динитробензолом в щелочной среде с образованием продуктов конденсации фиолетово-розового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна количеству 17-кетостероидов в моче.

Методика выполнения: В микрохимической пробирке смешивают 3 капли мочи и 3 капли раствора едкого натра и столько же капель раствора динитробензола.

Предполагаемые результаты: При стоянии появляется красное окрашивание, характерное для 17-кетостероидов.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Качественная реакция на фолликулин.

а) Реакция с серной кислотой.

Принцип метода: Качественная реакция на фолликулин проводится с концентрированной серной кислотой и обусловлена образованием

Методика выполнения. В пробирку вносят 2—3 капли раствора фолликулина, добавляют 20 капель концентрированной серной кислоты и полученную смесь нагревают.

Предполагаемые результаты: Жидкость в пробирке постепенно приобретает соломенно-желтое окрашивание.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

б) Реакция на 17-кстогруппу.

Принцип метода: Реакция основана на взаимодействии 17 —кетогруппы с п —динитробензолом в щелочной среде с образованием красного окрашивания.

Методика выполнения. В микрохимическую пробирку вносят по 3 капли фолликулина, едкого натра и м — динитробензола.

Предполагаемые результаты: Через 5—8 минут развивается красное окрашивание.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

в) Образование фенолята фолликулина

Принцип метода: Реакция основана на образовании с натрием в щелочной среде растворимого фенолята фолликулина.

Методика выполнения. Берут 2 сухие микрохимические пробирки и вносят в каждую по 2—3 капли раствора фолликулина. Добавляют в первую пробирку 10 капель воды и отмечают образование эмульсии фолликулина. Во вторую пробирку добавляют столько же капель раствора едкого натра —помутнение не возникает, так как в щелочной среде образовался растворимый фенолят фолликулина.

Предполагаемые результаты: В пробирке с раствором едкого натра эмульсии фолликулина не возникает.

Студент выполняет обсуждение результатов и делает выводы.

Самостоятельная работа студентов.

1. Калликреин-кениновая система и ее связь с РААС.
2. Механизм рецепции стероидных гормонов, транскрипция специфических генов, иРНК.
3. Простагландины и их роль в регуляции метаболических процессов.

Список используемой литературы

Обязательный:

1. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
2. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
3. Северин Е.С, Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
4. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

1. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
2. Страйер. Руководство по биохимии.
3. Ленинджер. Биохимия.
4. Вельтишев. Обмен веществ у детей.
5. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

ЗАНЯТИЕ № 7.

ТЕМА: Биохимия крови. Кровь – жидкая ткань. Особенности состава крови. Главные функции крови. Гемоглобин. Биосинтез гема, локализ, регуляция этого процесса. Транспорт кислорода кровью, кооперативный механизм функционирования молекул гемоглобина человека. Гемоглобинопатия. Транспорт диоксида углерода кровью. Белки сыворотки крови, их функции. Гемостаз. Молекулярные механизмы свертывания крови. Противосвертывающая система. Активаторы плазминогена и протеолитические ферменты как метаболические лекарственные средства. Клиническое значение биохимического анализа крови. Бензидиновая проба на кровь. Определение билирубина.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

1. Кровь, ее функции. Белковый спектр плазмы крови. Белки «острой фазы» и их клиническое значение.
2. Ферменты крови и их клиническое значение для диагностики заболеваний.
3. Важнейшие азотсодержащие соединения. Остаточный азот: азотемия.
4. Электролитный состав плазмы крови.
5. Понятие о «макро» и «микроэлементах»

Студент должен уметь:

1. Провести пробу Вельтмана на коллоидоустойчивость.
2. Определить содержание кальция в крови.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

1. Характеристика основных белковых фракций плазмы крови: альбуминов, глобулинов, фибриногена.
2. Гиперпротеинемия и гипопропротеинемия.
3. Плазменные липопротеиды и гликопротеиды.
4. Иммуноглобулины, их классы, структура, синтез и роль в иммунитете.
5. Небелковые азотистые компоненты крови. Остаточный азот крови. Азотемия ретенционная и продукционная.
6. Безазотистые органические компоненты крови.
7. Минеральный состав плазмы крови — электролиты.
8. Макроэлементы — представители, концентрация в плазме крови, биологическая роль, нарушения концентрации.
9. Микроэлементы — представители, концентрация в плазме крови, биологическая роль, нарушения концентрации.

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Проба Вельтмана.
2. Количественное определение кальция в сыворотке крови

Наглядные пособия: *таблицы*

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Кровь как основная соединительная ткань организма человека, функции, состав.
2. Основные белковые фракции крови: альбумины, глобулины, фибриноген, характеристика.
3. Альбумины, строение, концентрация в плазме крови, биологическая роль.
4. Глобулины плазмы крови, представители, характеристика, биологическая роль.
5. Иммуноглобулины, синтез, строение, классы, биологическая роль.
6. Белки «острой фазы», представители, синтез, биологическая роль.
7. Гиперпротеинемия, виды, причины развития.
8. Гипопротеинемия, виды, причины развития.
9. Диспротеинемия, причины развития.
10. Парапротеинемия, причины развития.
11. Небелковые азотсодержащие компоненты крови.
12. Понятие об «остаточном азоте» крови.
13. Что такое «азотемия», виды, причины развития.
14. Понятие о ретенционной и продукционной азотемии.
15. Безазотистые органические компоненты крови.
16. Минеральный состав плазмы крови — электролиты.
17. Понятие о макроэлементах плазмы крови.
18. Кальций, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гиперкальциемия, причины развития.
19. Натрий — как основной внеклеточный элемент плазмы крови, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гипернатриемия, причины развития.

20. Калий – как основной внутриклеточный ион, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гиперкалиемия, причины развития.

21. Магний, его концентрация в плазме крови, транспорт кровью, биологическая роль, регуляция уровня. Гипо- и гипермагниемия, причины развития.

22. Железо, его содержание в плазме крови, биологическая роль.

23. Важнейшие микроэлементы плазмы крови. Их биологическое значение.

Актуальность темы занятия.

Кровь – жидкая ткань, осуществляющая в организме интеграцию биохимических процессов, протекающих в различных клетках, в единую систему. Интегративная функция крови реализуется благодаря транспорту химических веществ между различными органами и тканями. Кроме интегративной - кровь выполняет защитную, питательную, регуляторную, терморегуляторную, резервную и другие функции. Кровь является отражением функционального состояния органов и тканей. Химический состав крови отражает состояние обмена веществ в организме.

Кровь состоит из плазмы и взвешенных в ней форменных элементов – эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Объем крови у здоровых людей составляет в среднем у мужчин – 5200 мл и у женщин – 3900 мл. На долю плазмы приходится около 55-60% объема крови, эритроциты составляют 40-45%, лейкоциты и тромбоциты – 1% от общего объема. Плазма крови лишенная фибриногена – сыворотка крови.

Относительная плотность цельной крови составляет 1,050-1,064, плазмы крови – 1,024-1,03, клеток – 1,080-1,097.

Плазма крови состоит на 90-91% из воды и 9-10% сухого вещества, около 1 % составляют минеральные вещества, остальное количество приходится на белки крови. В плазме крови содержится около 100 белков. Они выполняют множество разнообразных *функций*:

- придают крови вязкость;
- поддерживают онкотическое (коллоидно-осмотическое) давление и тем самым постоянный объем крови;
- принимают участие в свертывании крови,
- в поддержании постоянного рН крови, в регуляции кислотно-щелочного равновесия, составляют одну из важнейших буферных систем;
- выполняют транспортную функцию;
- играют роль в обеспечении иммунитета (в иммунной защите);
- служат резервом аминокислот

Содержание общего белка в плазме крови составляет **65-85 г/л**. Он представлен альбуминами – 45-55 г/л, глобулинами – 20-30 г/л, фибриноген – 2-4 г/л. Альбумино/глобулиновый коэффициент составляет 1,7-2,3. Синтез белков плазмы крови осуществляется в клетках печени, в клетках РЭС. Белки различаются по молекулярному весу, заряду, изоэлектрической точке. По электрофоретической подвижности белки делятся на альбумины, α_1 , α_2 , β и γ -глобулины.

Изменение концентрации белков приводит к

Гиперпротеинемии – повышение количества белка (потеря организмом больших количеств воды при диарее, неукротимой рвоте, тяжелых травмах, обширных ожогах, холерном алгиде – это относительная гиперпротеинемия,

Абсолютная – обусловлена резким нарастанием иммуноглобулинов при острых инфекционных заболеваниях и увеличением концентрации БОФ.

Гипопротеинемия –

1. Задержка воды в организме (при сердечной декомпенсации, отеках на почве цирроза печени с асцитом); при ожоговой болезни, при кровопотери

2. Потеря больших количеств белка может быть при нефритах или через ж.к.т.

3. Угнетение синтеза белков плазмы при поражениях печени, голодании, длительно текущих инфекционных заболеваниях

Диспротеинемия – изменение соотношения между фракциями альбуминов и глобулинов.

Парапротеинемия – появление в сыворотке патологических (острофазных) белков.

Важнейшими белковыми компонентами плазмы крови являются:

Альбумины – обладают наибольшей электрофоретической подвижностью. Содержание в крови составляет **45-55 г/л.** и составляет приблизительно половину всех циркулирующих белков.

Альбумины – низкомолекулярные белки, мол.масса их 67-70 тыс. Да. Они гидрофильны. Это единственные белки не имеющие углеводного компонента, они гетерогенны в отношении содержания сульфгидрильных групп. По этому признаку делятся на **меркаптоальбумины** – фракция альбуминов, содержащая атом серы в своей структуре, и **немеркаптоальбумины** – фракция, не содержит атом серы. Выполняет основные функции: поддерживает онкотическое давление; служит богатым и быстро реализуемым резервом белка; выполняет транспортную функцию (транспортирует метаболиты: длинноцепочечные жирные кислоты, билирубин, различные гормоны, кальций, хлор-ионы, лекарственные вещества, в частности антибиотики, сульфаниламиды, рентгеноконтрастные вещества.

Наиболее ярким представителем **α_1 глобулинов** является

α_1 -антипротеазный ингибитор – в норме содержится 2,5- 4,0 г/л. Ингибирует протеиназы – трипсин, химотрипсин, эластазу, коллагеназу, тромбин, плазмин, ренин и др. На долю его активности приходится 90-95% всей протеолитической активности. Концентрация этих белков увеличивается при воспалительных процессах, у беременных женщин и при ряде др. патологических состояниях.

К **α_1 глобулиновой** фракции относится также:

α_1 -фетопротейн – эмбриональный белок, синтезируется у плода в гепатоцитах, после рождения может быть обнаружен у ребенка в первые дни до года. В норме он отсутствует. Выявляется при затянувшейся желтухе новорожденных, у взрослых – при патологии печени, ее раке

α_1 -кислый гликопротеид – орозомукоид – кислый белок, содержит до 40% углеводного компонента. В крови его содержится 0,6-0,9 г/л. В норме ингибирует катепсин С, увеличивается его концентрация при острых воспалительных процессах и травмах.

α_2 -глобулиновая фракция включает:

Гаптоглобин - он связывает гемоглобин плазмы и предохраняет организм от потери железа, сохраняя его для синтеза гема, связывает железо с гемоглобином с образованием гемоглобин-гаптоглобинового комплекса, выполняет неспецифическую защитную функцию, является естественным ингибитором катепсина В, принимает участие в транспорте витамина В₁₂. Обладает пероксидазной активностью, благодаря чему оказывает бактерицидное действие. Гетерогенен по строению: существует 3 типа гаптоглобина Нр – 1-1, Нр – 2-1, Нр – 2-2. В норме его содержится 0,6-1,8 г/л.

Церулоплазмин относится к α_2 -глобулиновой фракции. В норме содержится 0,3-0,6 г/л. Это гликопротеид, медь оксидаза, один из основных регуляторов обмена меди в организме. 1 молекула церулоплазмينا содержит 6-8 атомов меди. Выполняет транспортную функцию: транспортирует медь, доставляет ее в печень. Обладает оксидазной активностью. Выполняет роль фермента. Принимает участие в окислении и обмене железа, биогенных аминов (адреналина, норадреналина, серотонина), аскорбиновой кислоты и др. веществ. Уменьшение содержания церулоплазмينا в крови отмечается у больных гепатолентикулярной дегенерацией (болезни Вильсона - Коновалова) отмечается накопление меди в нервной системе и печени.

α_2 - макроглобулин – регулирует активность тромбина и кининагена. Образуется в печени.

В плазме крови есть белок, способный связывать железо гема – **гемопексин** и транспортировать вещества, содержащие геминную группу.

Трансферрин – его содержание в плазме составляет 2,0-3,2 г/л. β -глобулин. Легко образует с железом комплексное соединение, которое легко распадается. Он переводит железо плазмы в деионизованную форму и доставляет его в костный мозг, где железо используется для процесса кроветворения.

Основная часть β -глобулинов представлена β -липопротеидами. Содержание последних варьирует в пределах 2,5-8 г/л.

К α и β -глобулинам относятся **белки свертывающей системы**: **протромбин** – предшественник тромбина, **проконвертин**, **антигемофильный глобулин** – синтезируется в печени. Их синтез зависит от наличия витамина К.

γ - глобулиновая фракция представлена **иммуноглобулинами**

Все они обладают активностью антител, образующихся при контакте с антигенами вирусной, бактериальной и другой этиологии.

Различают 5 классов иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD.

Основу молекулярной структуры составляют 4 полипептидные цепи – 2 тяжелые (H-цепи) и 2 легкие (L-цепи) соединенные между собой тремя дисульфидными мостиками. Легкие цепи у всех классов Ig схожи и могут быть представлены 2 подклассами – каппа и лямбда. Тяжелые цепи определяют специфичность Ig и различаются по аминокислотному составу и антигенной специфичности. Разделение Ig на классы осуществляется на основе различий их тяжелых цепей. Различают μ , α , γ , ϵ , δ (**Строение**)

IgG- составляют 70-75% общего количества Ig. Они несут антитела против большинства антигенов. IgG – иммуноглобулины вторичного ответа. Они активно транспортируются через плаценту, играют важную роль в защите новорожденного от инфекций. Молекулярная масса 160 000 да, содержание в крови 8-18 г/л.

IgM – иммуноглобулины первичного ответа – мощный активатор системы комплемента. К антителам этого класса относятся антитела Вассермана,

ревматоидный фактор, холодовые агглютинины. Молекулярные массы – 960000, содержание в плазме 0,6-2,8 г/л.

IgA – составляет 20% общей массы иммуноглобулинов плазмы и играет важную роль в формировании местного иммунитета и слизистых оболочек. Синтезируется в плазматических клетках, находится преимущественно в подслизистых тканях, на слизистой поверхности дыхательных путей и кишечного тракта, почти во всех экскреторных железах. Часть IgA попадает в кровоток, но большая часть остается на слизистых и служит защитным иммунным барьером. Молекулярная масса – 160000, концентрация – 0,9-4,5 г/л.

IgAs – обеспечивает иммунную защиту слизистых оболочек полости рта.

IgE – содержится в крови в очень низких количествах – 0,0001- 0,0005 г/л. Однако значение для организма велико, с ним связана аллергическая реактивность, играет роль пускового механизма аллергических реакций немедленного типа.

IgД – роль не выяснена. Впервые выделен из крови миеломной болезни.

Существует и такая группа белков, которые получили название **«белков острой фазы»**. Белки этой группы в норме содержатся в крови в очень маленьких количествах или вообще отсутствуют (не определяются), а при остром воспалительном процессе или обострении хронического появляются в плазме в виде вновь синтезированных белков (это С-реактивный белок, криоглобулин, α_1 гликопротеид (орозомукоид), α_1 -антипротеазный ингибитор, гаптоглобин, гемопексин, церулоплазмин и др.)

Белки этой группы в норме содержатся в крови в очень маленьких количествах или вообще отсутствуют (не определяются), а при остром воспалительном процессе или обострении хронического появляются в плазме в виде вновь синтезированных белков.

Воспалительный процесс в организме человека состоит из двух слагаемых, связанных друг с другом, и определяющих его течение:

Это локальная реакция тканей, обусловленная высвобождением медиаторов воспаления, лизосомальных ферментов и простагландина, что ведет к микроциркуляторным нарушениям, экссудации, инфильтрации лейкоцитами, иммунной реакцией и репаративным процессам. И общая реакция организма, выражающаяся в появлении боли, лихорадки, лейкоцитоза и увеличении концентрации гликопротеидов в плазме крови (БОФ).

Ранний воспалительный ответ на повреждение ткани включает образование медиаторов воспаления (биогенных аминов – гистамина, серотонина, кининов). Это вызывает вазодилляцию, повышается проницаемость стенки сосудов, отмечается гиперемия и отек, наблюдается экссудация лейкоцитов, освобождение ферментов из лизосом лейкоцитов: эластазы и коллагеназы, что обеспечивает повреждение ткани. Повреждение лизосом клеток или выход их содержимого из лейкоцитов при фагоцитозе является пусковым звеном для синтеза БОФ. Они начинают синтезироваться к концу 3-го часа после повреждения. Появление первых порций БОФ в плазме может быть отмечено в конце пятого, начале шестого часа после повреждения. Максимум синтеза лежит в промежутке между 12 и 48 часами. Нарботка больших количеств матриц для синтеза белков острой фазы в гепатоцитах ведет к дефициту факторов биосинтеза белка и белковосинтетических структур клетки. Клетки печени уменьшают синтез обычных для них белков, в результате уровень альбумина и других белков плазмы крови, не относящихся к БОФ, снижается.

С-реактивный белок – 0,1 г/л. В норме его нет. С-реактивный белок – это интегральный тест биологической функции воспаления. Название связано со свойством вступать в реакцию преципитации с С-полисахаридом пневмококка. Участвует в активировании комплемента и вместе с его компонентами ответственен за образование амилоидного белка и его отложение в сосудистой мембране. Концентрация С-реактивного белка увеличивается при бактериальных инфекциях, при диффузных заболеваниях соединительной ткани (ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилоартрит, системная красная волчанка, ревматическом полиартрите; при деструкции ткани – перитоните, травмах, хирургических вмешательствах

Криоглобулин – в норме его нет. появляется при патологии, он способен выпадать в осадок или желатинизироваться при температуре ниже 37 °С. Может быть обнаружен в сыворотке при миеломе, нефрозе, циррозе печени, ревматизме, лимфосаркоме, лейкозах и др. заболевания.

Фибриноген – белок плазмы, способный под действием тромбина превращаться в нерастворимый фибрин. Концентрация его повышается свыше 4 г/л при инфекционных процессах (СОЭ повышено), при неоплазиях, послеоперационном периоде, после травм, участвует в образовании тромба и остановке кровотечения.

К белковым веществам, содержащимся в плазме крови, которые имеют большое диагностическое значение, относятся **ферменты плазмы крови**.

Они делятся на три большие группы:

- секреторные,
- экскреторные
- индикаторные

Секреторные – синтезируются в печени, в норме выделяются в плазму крови (сывороточная холинэстераза, ферменты, участвующие в процессе свертывания крови)

Экскреторные – синтезируются главным образом в печени (щелочная фосфатаза, лейцинаминопептидаза и др) и выделяются с желчью в кишечник

Наибольший интерес в диагностике заболеваний представляют **индикаторные (органоспецифичные)** ферменты. В норме их концентрация в крови невелика, а повышается при заболеваниях того или иного органа. Причинами повышения может быть: увеличенная проницаемость мембраны клеток; вирусные или бактериальные начала (путем цитолиза повреждается клеточная мембрана); токсические начала; действие лекарственных веществ. К ним относятся: аминотрансферазы (АлАТ, АсАТ), ЛДГ, креатинфосфокиназа, щелочная фосфатаза и другие.

Так, при рахите в сыворотке крови увеличивается активность фермента щелочной фосфатазы, при поражении поджелудочной железы - амилазы, при инфаркте миокарда - креатинкиназы (изофермент МВ), АсАТ, ЛДГ, при заболеваниях скелетных мышц - креатинкиназы (изофермент ММ). При раке предстательной железы увеличивается в сыворотке крови активность кислой фосфатазы, при поражении слюнных желез - амилазы, при заболеваниях печени - АлАТ, ЛДГ₅, орнитинкарбоамилтрансферазы и др., при патологии почек - глицинамидинотрансферазы.

Большую группу в крови составляют небелковые азотсодержащие вещества. Содержание небелкового азота в цельной крови и плазме почти одинаково и

составляет в крови 15—25 ммоль/л. Небелковый азот крови включает азот мочевины (50% от общего количества небелкового азота), аминокислот (25%), эрготионина (8%), мочевой кислоты (4%), креатина (5%), креатинина (2,5%), аммиака и индикана (0,5%) и других небелковых веществ, содержащих азот (полипептиды, нуклеотиды, нуклеозиды, глутатион, билирубин, холин, гистамин и др.). Таким образом, в состав небелкового азота крови входит главным образом азот конечных продуктов обмена простых и сложных белков.

Небелковый азот крови называют также *остаточным азотом*. У здорового человека колебания в содержании небелкового, или остаточного азота крови незначительны и в основном зависят от количества поступающих с пищей белков. При ряде патологических состояний уровень небелкового азота в крови повышается. Это состояние носит название *азотемии*. Азотемия в зависимости от причин, вызвавших ее, подразделяется на *ретенционную* и *продукционную*.

Ретенционная азотемия наступает в результате недостаточного выделения с мочой азотсодержащих продуктов при нормальном поступлении их в кровяное русло. Она в свою очередь может быть почечной и внепочечной. При почечной ретенционной азотемии концентрация остаточного азота в крови увеличивается вследствие ослабления очистительной (экскреторной) функции почек. Резкое повышение содержания остаточного азота при ретенционной почечной азотемии происходит в основном за счет мочевины. В этих случаях на азот мочевины приходится 90% небелкового азота крови, вместо 50% в норме. Внепочечная ретенционная азотемия может возникнуть в результате тяжелой недостаточности кровообращения, снижения артериального давления и уменьшения почечного кровотока. Нередко внепочечная ретенционная азотемия является результатом наличия препятствия оттоку мочи после ее образования в почке.

Продукционная азотемия наблюдается при избыточном поступлении азотсодержащих продуктов в кровь, как следствие усиленного распада тканевых белков. Нередко наблюдаются азотемии смешанного типа.

Значительное количество в плазме крови содержится мочевины, мочевина в 18 раз менее токсична, чем остальные азотистые вещества. При острой почечной недостаточности концентрация мочевины в крови достигает 50—83 ммоль/л (норма 3,3—6,6 ммоль/л). Нарастание содержания мочевины в крови до 16,6—20,0 ммоль/л (в расчете на азот мочевины) является признаком нарушения функции почек средней тяжести, до 33,3 ммоль/л — тяжелым и свыше 50 ммоль/л — очень тяжелым нарушением с неблагоприятным прогнозом.

К важным безбелковым азотистым веществам крови относится также **мочевая кислота**. В норме концентрация мочевой кислоты в цельной крови составляет 0,18—0,24 ммоль/л (в сыворотке крови — около 0,29 ммоль/л). Повышение содержания мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) — главный симптом подагры. При подагре уровень мочевой кислоты в сыворотке крови возрастает до 0,47—0,89 ммоль/л и даже до 1,1 ммоль/л.

В состав остаточного азота входит также азот аминокислот и полипептидов.

Различные заболевания сопровождаются изменением содержания в крови тех или иных веществ. Изучение нормальных показателей крови является основой для правильной постановки диагноза при различных патологических состояниях, установления прогноза болезни и оценки эффективности проводимого лечения.

Электролитный состав крови.

Среди макроэлементов особого внимания заслуживает исследование содержания натрия и калия в плазме крови.

Натрий – основной внеклеточный катион, это основной осмотически активный ион. В плазме крови его концентрация колеблется от 132 до 150 ммоль/л.

Гипонатриемия – уменьшение концентрации натрия ниже 134 ммоль/л – обуславливает симптомокомплекс, характеризующийся появлением апатии, потерей аппетита, тошнотой, рвотой, нарушением рефлексов, тахикардией, анурией, гипотензией, психозами.

Различают *абсолютную и относительную* гипонатриемию:

Абсолютная, или синдром солевой недостаточности, возникает при уменьшении поступления натрия в организм и потере натрия через желудочно-кишечный тракт, с мочой, кровью, большим количеством удаляемой асцитической или отечной жидкости; гипернатриурия наблюдается у больных, страдающих первичным и вторичным гипокортицизмом, гипоальдостеронизмом, нефропатиями с потерей солей. Она может быть результатом депонирования натрия в так называемом «третьем пространстве» (при массивном выпоте в плевру, быстром развитии асцита, отеков). К снижению содержания натрия приводят и связанный с глубокими метаболическими нарушениями синдром «усталости клеток» при котором истощается мембранный натриевый насос и ионы натрия по градиенту концентрации направляются внутрь клетки.

Относительная гипонатриемия формируется при введении в организм жидкостей, не содержащих электролиты, что способствует разведению. К относительной гипонатриемии приводит и синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона.

Гипернатриемия – увеличение концентрации ионов натрия выше 169 ммоль/л – сопровождается тяжелым общим состоянием больных, повышением температуры тела, тахикардией.

Абсолютная гипернатриемия может быть обусловлена задержкой ионов электролита в плазме крови у больных с повышенной функцией коры надпочечников (при гиперальдостеронизме, синдроме и болезни Иценко-Кушинга), усилением выделения натрия из тканей в плазму в процессе активации метаболизма у лиц, страдающих гнойно-септическими заболеваниями, судорогами, лихорадкой; при избыточной терапии солевыми растворами.

Относительная гипернатриемия вызывается повышенной потерей воды через кожу (профузный пот), легкие (длительная гипервентиляция), желудочно-кишечный тракт (тяжелая рвота), почки (полиурические состояния)

Калий - основной внутриклеточный катион, концентрация его в плазме крови колеблется от 3,8 до 5,4 ммоль/л

Гипокалиемия- уменьшение концентрации калия в плазме крови ниже 3,5 ммоль/л- приводит к тяжелым нарушениям в организме человека. Основные клинические симптомы гипокалиемии: общая мышечная слабость, легкое утомление, тахикардия, экстрасистолия. Гипокалиемия отмечается при недостаточном приеме калия с пищей, хроническом голодании, длительном, в больших количествах введении растворов с недостаточным содержанием этого иона; усиленном выделении калия с мочой – под влиянием диуретиков, при канальцевом ацидозе, недостаточности функции почечных канальцев и т.д.

Гиперкалиемия – увеличение концентрации калия в плазме крови выше 5,6 ммоль/л. Сопровождается ощущением «ползания мурашек», исчезновением

сухожильных рефлексов, «одеревенением» конечностей, параличом дыхательных мышц, сердечными симптомами: тахи- и брадикардией, часто аритмиями.

Кальций принадлежит весьма важная роль в осуществлении процессов жизнедеятельности. Он влияет на проницаемость биологических мембран, возбудимость нервов и мышц, участвует в нервно-мышечной передаче, сокращении и расслаблении мускулатуры, формировании кости и хряща, воздействует на обмен веществ в клетках, секрецию гормонов, секреторную деятельность желудка, является важным фактором свертывания крови.

Уровень кальция в плазме крови зависит от:

- количества кальция поступающего в организм;
- величины экскреции;
- состояния процессов обмена кальция между кровью и костной тканью.

В норме концентрация общего кальция плазме колеблется в пределах: 2,25-2,75 ммоль/л (эритроциты содержат - около 0,5 ммоль/л Ca^{2+} , лейкоциты- около 2,5 ммоль/л). Большая часть кальция (44-46%) связана с белками плазмы, преимущественно с альбумином.

Содержащийся в сыворотке крови кальций по своему составу неоднороден: связанный с белками (преимущественно альбумином): коллоидальный, недиффундирующий, составляющий около 0,9 ммоль/л;

диализирующийся кальций –1,6 ммоль/л. В его состав входит ионизированный и связанный с гидрокарбонатом, цитратом и другими анионами;

Наибольшее физиологическое значение имеет ионизированный кальций, составляющий 50% всего количества кальция крови.

Гиперкальциемия бывает физиологической и патологической.

Физиологическая гиперкальциемия имеет место у новорожденных (после 4-го дня жизни), у недоношенных, а также у некоторых лиц после принятия пищи.

В патологических условиях гиперкальциемия наблюдается при гиперпаратиреозе (до 7,25 ммоль/л) вследствие мобилизации ионов кальция и фосфата из костей; стимулировании реабсорбции кальция и торможении обратного всасывания фосфат-ионов клетками канальцевого эпителия почек.

Гипокальциемия отмечается гораздо чаще, чем гиперкальциемия. Особенно большое значение имеет в детском возрасте гипокальциемия при спазмофилии (тетании). При явной спазмофилии уровень кальция в крови падает до 1,5 ммоль/л и ниже. При скрытой форме заболевания он варьирует в пределах 1,5-2,0 ммоль/л. Гипокальциемией сопровождаются и некоторые заболевания почек, особенно хронические. Она возникает при хронической почечной недостаточности, поражении проксимальных и дистальных канальцев почек, циррозе печени, цистинозе, лепре, остеомалации.

Магний - электролит, метаболизм которого тесно связан с обменом кальция. Общее содержание магния в организме взрослого человека 20-30 г, 1/3 из которого сосредоточена в костях, зубах, 1/5 – в мышцах. Магний поступает в организм человека с растительной пищей, мясными продуктами. Много его в бананах, апельсинах, шоколаде, миндале. Подобно калию магний является внутриклеточным катионом.

Среди заболеваний, сопровождающихся снижением уровня магния в крови различают:

желудочно–кишечные (потребление пищи с низким уровнем белка, длительная диарея, синдром нарушенного всасывания магния в кишечнике, опухоли кишечника);

сердечно-сосудистые;

почечные;

эндокринные расстройства.

Клиническая симптоматика *гипомагниемии* (проявляется при концентрации магния 0,5 ммоль/л и менее)- мышечные подергивания, судороги, конвульсии и психические расстройства

Гипермагниемия обуславливает сонливость, которая снимается введением ионов кальция. При повышенном (более 1.2 ммоль/л) содержании ионов магния в крови могут наступить угнетение дыхательного центра, кома, нарушение проводимости миокарда, блокада и остановка сердца. Гипермагниемия наблюдается при острой и хронической почечной недостаточности, анурии, уремии, гипотиреозе.

Хлорид-ион - главный внеклеточный анион. Хлор находится в организме в ионизированной форме: в виде анионов солей натрия, калия, кальция, магния. Хлориды выводятся из организма в основном (почти на 90%) с мочой, а также с потом и калом. *Гипохлоремия* развивается при уменьшении концентрации ионов хлора в плазме ниже 95 ммоль/л. Она встречается при формах обезвоживания, связанных с избыточным потоотделением, часто повторяющимися поносами, длительной рвотой.

Гиперхлоремия (относительная и абсолютная) возникает при концентрации хлорид-ионов в плазме свыше 105 ммоль/л и тесно связана с гипернатриемией. Она возникает при обезвоживании, вызванном недостаточным поступлением жидкости, нарушением депурационной способности почек.

Неорганический фосфор плазмы (сыворотки) крови представляет собой из компонентов кислоторастворимой фракции фосфора, включающей в себя также пирофосфаты (АТФ, АДФ и др.), гексозо-, глицерофосфаты и т.д. Кислоторастворимый фосфор вместе с кислотонерастворимым (фосфор нуклеопротеинов и липидов) образует так называемый общий фосфор плазмы крови. Концентрация неорганического фосфора в сыворотке крови во многом зависит от функции паращитовидных, щитовидных желез, влияние на его обмен витамина D функции почек.

Гиперфосфатемия встречается при почечной недостаточности, гипопаратиреозе, акромегалии, сахарном диабете, кетозе, приеме больших доз витамина D, УФ-облучении, спазмофилии. Гиперфосфатемия свойственна периоду заживления костных переломов (благоприятный признак). Мышечная работа сопровождается повышением содержания неорганического фосфора в результате расщепления органических фосфорных соединений (АТФ, креатинфосфат).

Гипофосфатемия в детском возрасте наблюдается при рахите. Важно отметить, что снижение уровня неорганического фосфора в сыворотке крови отмечается в ранней стадии рахита (0,19-0,97 ммоль/л), когда клинические симптомы ещё недостаточно выражены.

Запасы **железа** в организме сосредоточены в депонирующих органах, где оно накапливается в виде железосодержащего белка **ферритина**, а также в виде гемосидерина. Ферритин представляет собой универсальный депонирующий железо белок, присутствующий во всех клетках и тканях организма. Концентрация

ферритина 1 мкг/л соответствует содержанию 8 мг резервного (запасного) железа в организме.

Снижение содержания ферритина сыворотки отмечается при:
железодефицитных состояниях и заболеваниях, связанных с нарушением метаболизма железа,

анемиях, сопровождающих беременность.

Повышение содержания ферритина сыворотки наблюдается:

1) вследствие перераспределения фондов железа при:

заболеваниях, связанных с нарушением кровообращения: инсультах, инфаркте миокарда;

острых и хронических заболеваниях, связанных с поражением печеночных клеток: гепатитах, циррозах различной этиологии, алкогольных поражениях печени;

системной красной волчанке, ревматоидном полиартрите;

онкологических заболеваниях: раке молочной железы, лимфогранулематозе и др.

вследствие некротических и некробиотических процессов;

Железо - один из важнейших олигоэлементов, в плазме крови его концентрация составляет в среднем 0,02 ммоль/л.

Снижение количества железа в организме и плазме крови может быть вызвано:

недостаточным поступлением с пищей, например при длительном молочно-растительном питании;

плохим усвоением в желудочно-кишечном тракте: при анацидных и гипацидных гастритах, резекции желудка и кишечника, при глистных инвазиях;

усиленной утилизацией органами и тканями: при беременности, быстром росте организма, повышенной физической активности;

потерей железа: при кровотечениях, дисфункциональных маточных кровотечениях, фибромиомах, вследствие активации клеточных элементов системы фагоцитирующих мононуклеаров;

временным перераспределением железа в организме: при системных заболеваниях соединительной ткани; злокачественных новообразованиях;

Дефицит железа может быть:

скрытым – характеризуется уменьшением содержания или отсутствием резервного железа, нормальным уровнем гемоглобина и железа в какой-то промежуток времени;

относительным, обусловленным перераспределением железа при воспалительных процессах, инфекционных заболеваниях, некрозах и опухолях;

абсолютным, характеризующимся отсутствием резервного железа, снижением уровня сывороточного железа, гипогемоглобинемией;

Содержание сывороточного железа крови значительно уменьшено при железодефицитной анемии.

Медь содержится как в эритроцитах, так и в плазме крови. Около 90% меди плазмы входит в состав церулоплазмина (Cu-альфа-2-глобулинового комплекса), незначительная часть ионов меди находится в свободном состоянии. Медь играет важную биологическую роль, так как является составной частью ряда ферментов, участвуя в обмене витаминов, гормонов, белков, углеводов, а также в некоторых иммунных процессах.

Возрастание концентрации меди (а также церулоплазмينا) отмечается при состояниях, связанных с распадом клеточных элементов: пернициозной, мегалобластической и апластической анемии, осложнениях гемодиализа, большой и малой талассемии, лейкозах, лимфогранулематозе, злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта.

Снижение содержания меди и активности церулоплазмينا в плазме (сыворотке) крови отмечается при болезни Вильсона-Коновалова (гепатолентикулярной дегенерации), нефротическом синдроме, ожогах, хронической ишемической болезни сердца и некоторых железодефицитных анемиях.

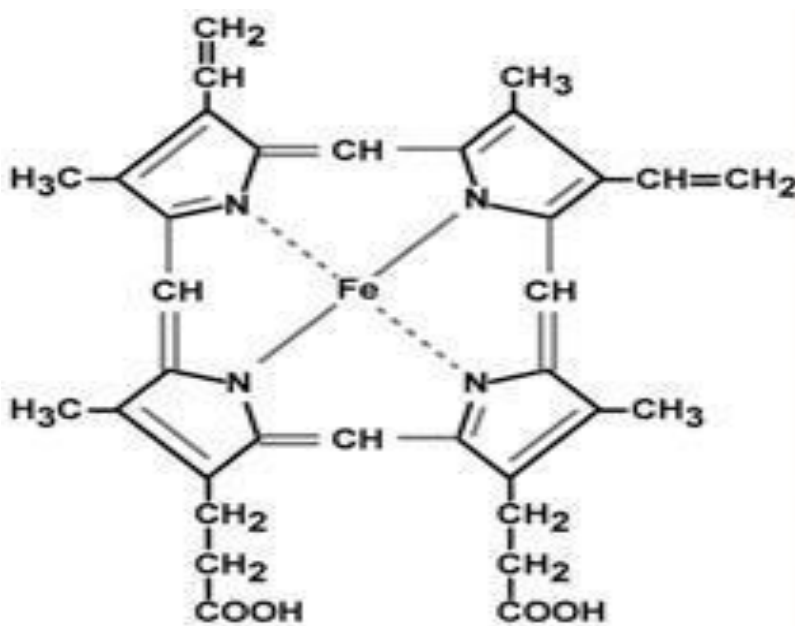
Гемоглобин.

Гем является небелковой частью многих гемопroteинов:

- **гемоглобин** (до 85% общего количества гема организма), локализованный в эритроцитах и клетках костного мозга,
- **миоглобин** скелетных мышц и миокарда (17%),
- **цитохромы** дыхательной цепи,
- ферменты цитохромоксидаза, цитохром P₄₅₀, гомогенизатоксидаза, миелопероксидаза, каталаза, тиреопероксидаза и т.д. – менее 1%.

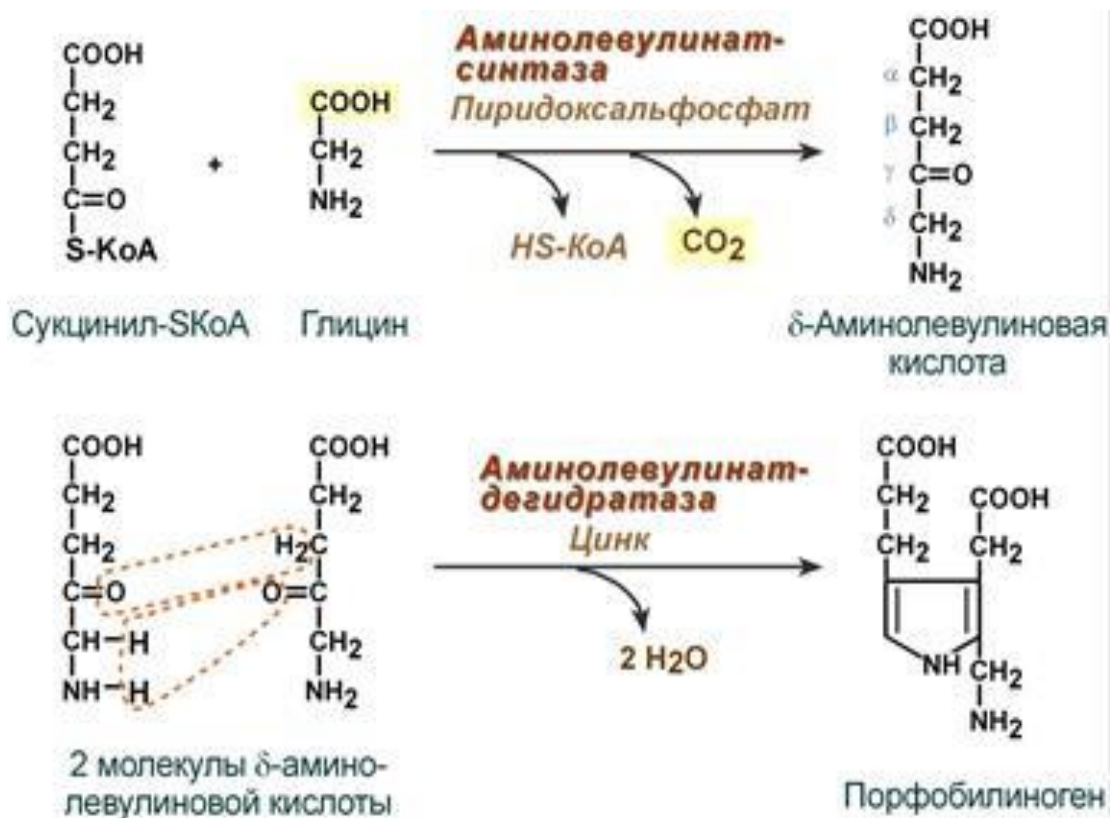
Строение и синтез гема

Гем – структура, включающая в себя порфириновое кольцо (состоящее из 4 пиррольных колец) и иона Fe²⁺. Железо связывается с порфириновым кольцом двумя координационными и двумя ковалентными связями.



Синтез гема в основном идет в предшественниках эритроцитов, в клетках печени, почек, слизистой кишечника и в остальных тканях. Первая реакция синтеза с участием **δ-аминолевулинат-синтазы** (греч. δ - "дельта") происходит в митохондриях. Следующая реакция при участии **аминолевулинатдегидратазы (порфобилиноген-синтазы)** протекает в цитозоле. Здесь из двух молекул δ-аминолевулиновой кислоты образуется циклический **порфобилиноген** (монопиррол).

Синтез порфобилиногена



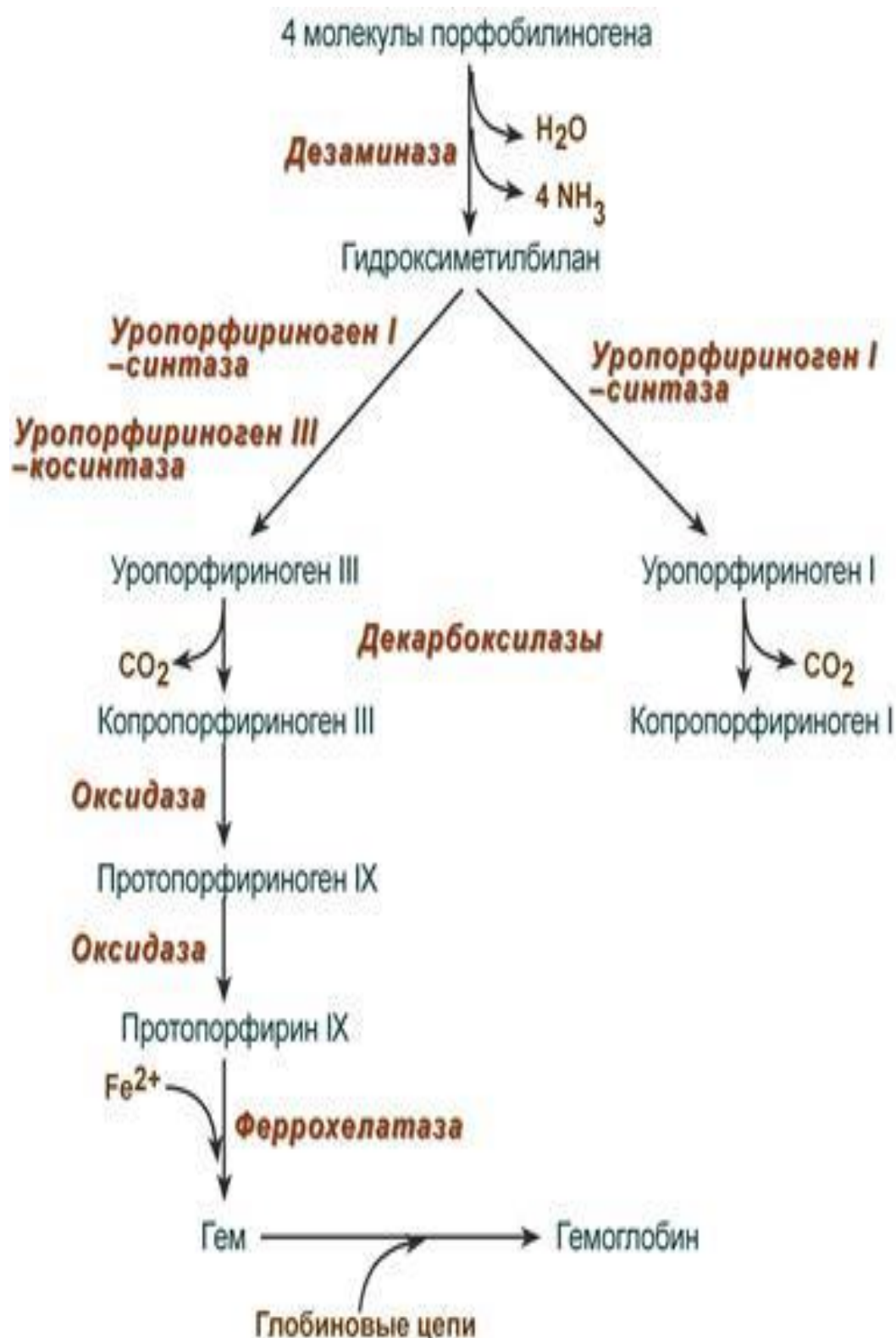
После синтеза порфобилиногена четыре его молекулы конденсируются в гидроксиметилбилан, который далее превращается в уропорфириноген **типа I** и уропорфириноген **типа III**. В синтезе обоих видов порфиринов принимает участие **уропорфириноген I-синтаза**, в образовании уропорфириногена III дополнительно принимает участие фермент **уропорфириноген III-косинтаза**.

Судьба обоих типов уропорфириногена двояка: они могут окисляться до уропорфирина (на рисунке не показано) или декарбоксилироваться до **копропорфириногена** соответствующего типа. Копропорфириноген III возвращается в митохондрии и окисляется в протопорфириноген IX и далее в **протопорфирин IX**.

Синтез гема из порфобилиногена.

Копропорфириноген III окисляется в **протопорфириноген IX** и далее в **протопорфирин IX**. Последний после связывания с железом образует **гем**, реакцию катализирует **феррохелатаза (гемсинтаза)**.

Названия пигментов (уропорфирины и копропорфирины) были даны веществам по **источнику** их первоначального выделения, при этом восстановленные бесцветные формы называют порфириногенами. Для порфиринов характерно наличие **изомерии** вследствие различного расположения радикалов, что нашло отражение в порядковых номерах изомеров.



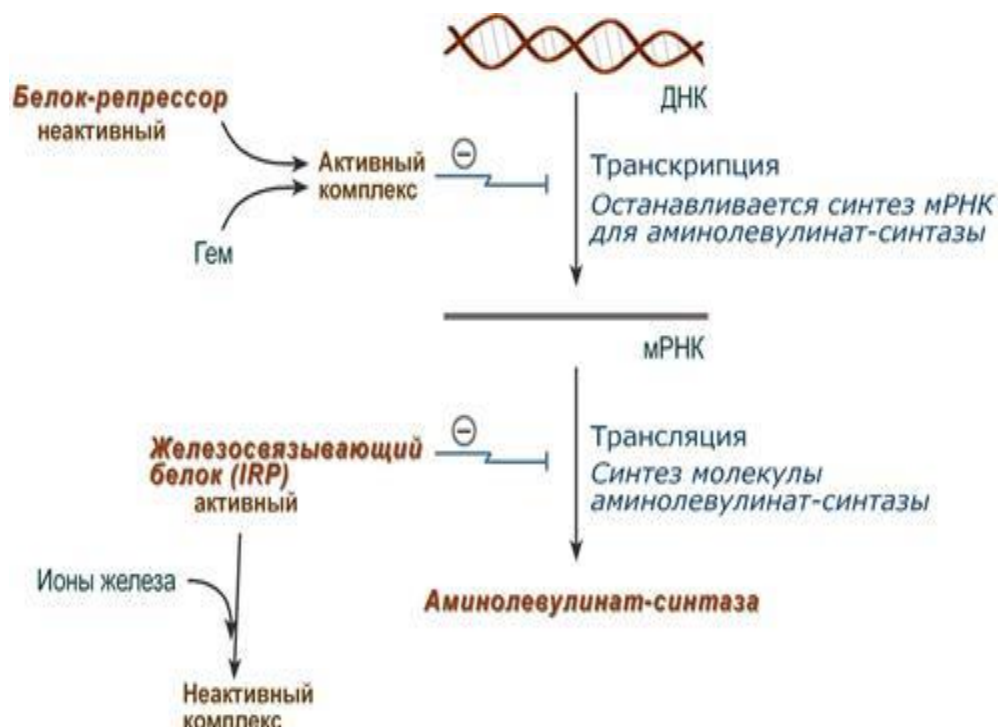
Регуляция синтеза гема

1. Основным регуляторным ферментом синтеза гема является **аминолевулинатсинтаза**.

- гем после взаимодействия с молекулой белка-репрессора формирует **активный репрессорный комплекс**, связывается с ДНК и подавляет транскрипцию, мРНК для фермента не образуется и синтез фермента

прекращается. Также имеется отрицательный аллостерический эффект гема на фермент.

Регуляция синтеза аминолевулинатсинтазы.



- с другой стороны, достаточное **количество ионов железа** оказывает положительный эффект при синтезе молекулы аминолевулинатсинтазы. В клетке имеется особый **железосвязывающий белок** (англ. *IRP, iron-responsive element-binding proteins* – белок, связывающий железочувствительный элемент), который в отсутствии ионов железа обладает сродством к особому участку мРНК (*IRE, англ. iron-responsive element* – железочувствительный элемент) фермента и блокирует ее трансляцию в рибосоме, т.е. синтез белковой цепи. Ионы железа связываются с этим железосвязывающим белком, образуя с ним **неактивный комплекс**, что инициирует синтез фермента.

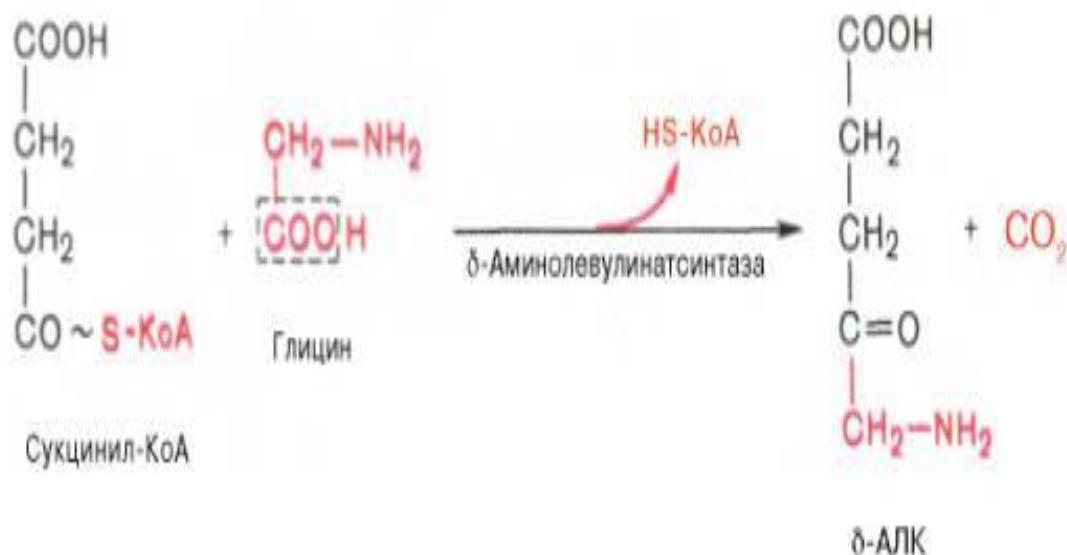
2. Положительным модулятором аминолевулинатсинтазы служит внутриклеточная **гипоксия**, которая в **эритропоэтических** тканях индуцирует синтез фермента.

3. В печени повышение активности аминолевулинатсинтазы вызывают соединения, усиливающие работу митохондриальной системы окисления (жирорастворимые токсины, стероиды) – при этом возрастает потребление гема для образования цитохрома P₄₅₀, что снижает внутриклеточную концентрацию свободного гема. В результате происходит **дерепрессия** синтеза фермента.

4. Скорость синтеза **глобиновых цепей** зависит от наличия гема, он ускоряет биосинтез «своих» белков.

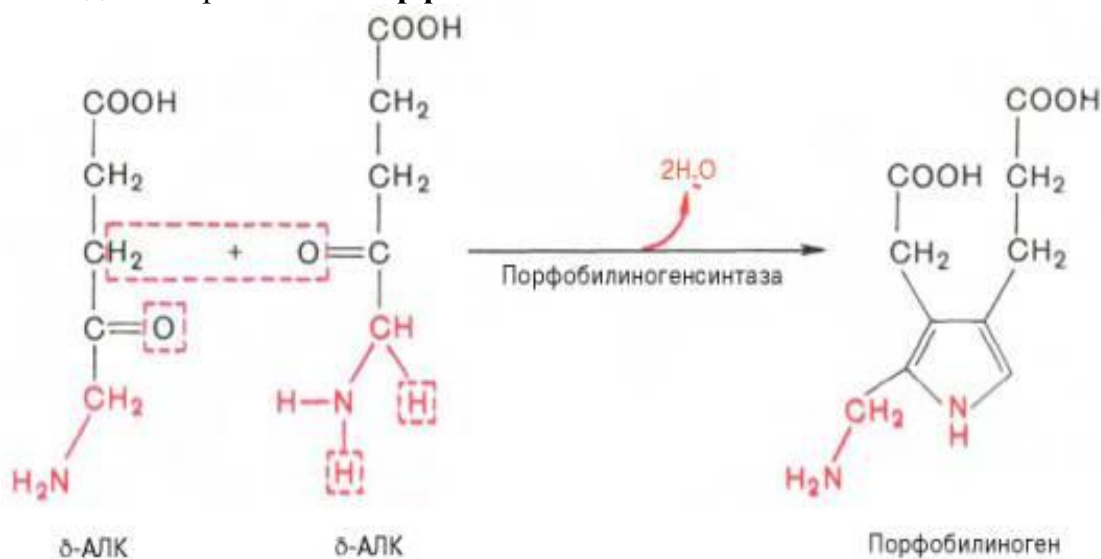
Химизм реакций синтеза гема.

I стадия. Участвуют глицин и сукцинил-КоА.



Образуется **5-аминолевулиновая кислота** (δ -АЛК). **5-аминолевулинатсинтаза** - ключевой, аллостерический фермент синтеза тетрапирролов. Коферментом является пиридоксальфосфат. Данная реакция индуцируется стероидами и ингибируется по типу обратной связи конечным продуктом - гемом.

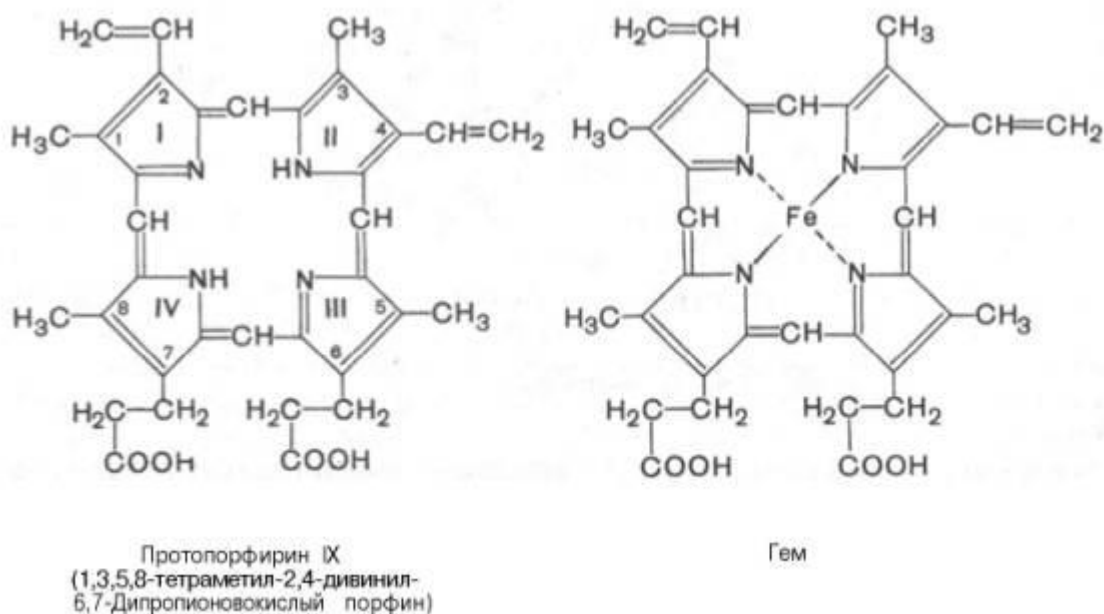
II стадия. Образование порфобилиногена ПБГ.



Фермент **порфобилиногенсинтаза** ингибируется конечными продуктами синтеза.

III стадия. Многоступенчатая. Из 4 молекул порфобилиногена синтезируется тетрапиррольный комплекс **протопорфирин IX**.

IV стадия. Протопорфирин IX присоединяет железо при участии **феррохелатазы (гемсинтазы)**, и образуется **гем**. Источником железа является ферритин. В синтезе гема участвуют витамин B_{12} , ионы меди.



Белковая часть молекулы гемоглобина синтезируется так же, как и все остальные белки. Синтез полипептидных цепей гемоглобина происходит только в присутствии гема.

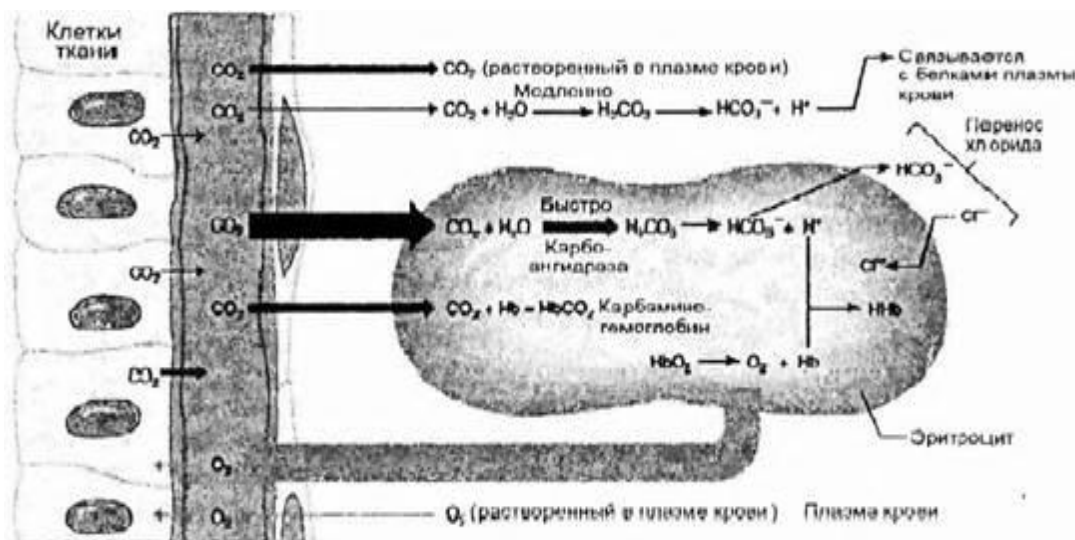
Изменения в синтезе или распаде порфиринов и их комплексов с белками приводят к нарушению жизненно важных функций и развитию болезней.

Свинец вызывает стойкое угнетение фермента аминолевулинатдегидразы, участвующей в синтезе порфобилиногена и гема, что проявляется развитием **анемии** у детей городов (источник свинца - выхлопные газы автотранспорта).

Порфирия - наследственное нарушение пигментного обмена, характеризуется нарушением синтеза гема и накоплением его предшественников в тканях. Различают печеночные либо эритропоэтические порфирии. Болезнь проявляется фотодерматозом, повреждением хрящей, нервно-психическими расстройствами, гемолитическими кризами, желудочно-кишечными расстройствами.

Транспорт диоксида углерода кровью.

Диоксид углерода образуется в тканях в качестве конечного продукта аэробного метаболизма. Из тканей он диффундирует в кровь, переносится ею в легкие, где диффундирует в альвеолярный газ, и затем выбрасывается в атмосферу



Этот процесс достаточно сложный. Диоксид углерода транспортируется в крови в трех состояниях:

- 1) растворенный в плазме крови (7—10%);
- 2) в виде химического карбаминowego соединения (карбогемоглобина) с гемоглобином в эритроците (20—30%);
- 3) в составе гидрокарбонатного иона HCO_3^- в плазме крови (всего 60—70%).

В легких, наоборот, диоксид углерода высвобождается из транспортных соединений с гемоглобином и HCO_3^- и диффундирует в альвеолярный газ.

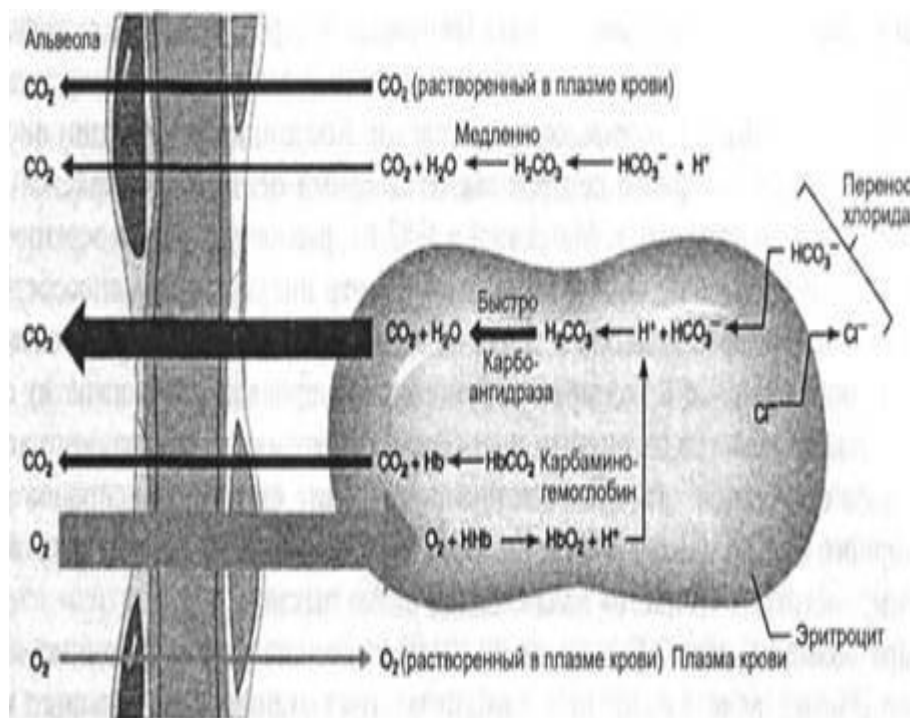


Рис. 49. Процесс перехода диоксида углерода из крови в легкие

Таким образом, для транспорта диоксида углерода также требуется гемоглобин

Гемостаз.

Гемостаз – процесс остановки кровотока при повреждении стенки сосуда.

Гемостаз включает 3 взаимосвязанных друг с другом механизма:

- Сосудисто-тромбоцитарный механизм
- Коагуляционный механизм
- Ретракция тромба

Сосудисто-тромбоцитарный механизм активируется в течение первой минуты после повреждения сосуда. В области повреждения сосуда скапливаются тромбоциты, которые образуют тромбоцитарную пробку, закрывающую просвет сосуда. Тромбоциты секретируют вещества, вызывающие спазм сосуда. Этот механизм эффективно останавливает кровотечение только в мелких сосудах: капиллярах, артериолах, венах.

Коагуляционный механизм активируется в течение нескольких минут после повреждения сосуда. Процесс коагуляции состоит в том, что жидкая плазма крови превращается в плотный гель на основе белка фибрина. Коагуляция происходит вследствие образования нерастворимого белка фибрина из его растворимого

предшественника – фибриногена. Образовавшийся гелевый сгусток усиливает тромбоцитарную пробку.

Ретракция тромба - сжатие сгустка за счет волокон фибрина и тромбоцитарного тромбостенина. За счет ретракции происходит уплотнение сгустка и стягивание краев раны.

Сосудисто-тромбоцитарный механизм гемостаза.

Адгезия тромбоцитов – тромбоциты скапливаются у поврежденного участка сосуда и прилипают к эндотелию по краям раны. Существуют 2 механизма адгезии тромбоцитов.

1) Поверхность мембраны поврежденного эндотелия приобретает положительный заряд. Поэтому к ней прилипают тромбоциты, наружная поверхность которых заряжена отрицательно.

2) Повреждение сосуда приводит к образованию свободного фактора Виллебранда (в норме он ассоциирован с фактором VIII). Фактор Виллебранда образует мостики между субэндотелиальными структурами и белками поверхности тромбоцита.

Активация тромбоцитов. Адгезия тромбоцитов приводит к их активации. Активированные тромбоциты секретируют серотонин, катехоламины, АДФ. Серотонин оказывает сосудосуживающее действие.

Обратимая агрегация тромбоцитов. Под влиянием АДФ тромбоциты скучиваются и образуют рыхлую тромбоцитарную пробку, проницаемую для плазмы крови.

Необратимая агрегация тромбоцитов. Образующийся к этому времени в плазме крови тромбин действует на рецепторы тромбоцитов и приводит к их разрушению и слиянию в плотную массу. Образовавшаяся тромбоцитарная пробка непроницаема для плазмы крови.

Коагуляционный механизм гемостаза.

Процесс образования нерастворимого фибрина представляет собой каскад реакций, который завершается образованием фибрина. Конечные реакции этого каскада называются “общий путь коагуляции”. Началом “общего пути” является образование активатора протромбина. Образование активатора протромбина может инициироваться под действием белков плазмы крови (“внутренний путь”) или под действием белков поврежденной ткани (“внешний путь”).

Вещества, участвующие в свертывании крови, называют факторами свертывания. Различают факторы свертывания, присутствующие в плазме крови (факторы I – XIII) и факторы свертывания, выделяемые тромбоцитами (факторы 1 - 12).

Внутренний путь активации свертывания крови.

- на поврежденном участке стенки сосуда обнажаются коллагеновые волокна

- неактивный фактор XII (фактор Хагемана), соприкасаясь с коллагеновыми волокнами, активируется и превращается в фактор XIIa (активированный фактор Хагемана).

- Фактор XIIa активирует фактор XI.

- Фактор XIa в присутствии ионов Ca активирует фактор IX.

- Фактор IXa образует комплекс с ионами Ca и тромбоцитарным фактором

3.

- Образовавшийся комплекс в присутствии активированного фактора VIIIa производит активацию фактора X.

- Активированный фактор Xa взаимодействует фактором Va и Ca^{2+} и образует комплекс, который является активатором протромбина (протромбиназы).

Примечание: активация фактора VIII и фактора V осуществляется тромбином. Внешний путь активации свертывания крови.

- тромбопластин, который через поврежденную стенку сосуда попадает в кровь

- тканевый тромбопластин, соединяясь с факторами плазмы и тромбоцитов, приводит к образованию активатора протромбина.

- протромбиназа катализирует превращение профермента протромбина в активный фермент тромбин.

Общий путь активации свертывания крови.

· под действием протромбиназы протромбин превращается в тромбин

· фермент тромбин расщепляет фибриноген с образованием фибрина и активирует фактор XIII.

· молекулы мономерного растворимого фибрина под действием электростатических сил выстраиваются параллельно друг другу

· под действием активированного фактора XIII происходит полимеризация молекул фибрина и образуется нерастворимый полимерный фибриноген.

· В образовавшейся фибриновой сети остались эритроциты, которые еще более увеличивают плотность сгустка. При участии тромбоцитов происходит ретракция сгустка – уплотнение сгустка и выдавливание из него плазмы. Оставшиеся в фибриновой сети эритроциты дополнительно увеличивают плотность сгустка.

Противосвертывающая система крови.

При действии активаторов пламиноген плазмы крови превращается в активный плазмин. Плазмин производит ферментативный гидролиз фибрина, а образовавшиеся фрагменты ингибируют активность тромбина.

Ингибиторы протеиназ подавляют активность фибринообразующих ферментов - антитромбин 3, CRP, c1-ингибитор.

Активаторы пламиногена и протеолитические ферменты как метаболические лекарственные средства.

Стимуляторы фибринолиза способствуют растворению фибриновых тромбов. Патологические тромбы образуются в пораженных атеросклерозом артериях, при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови или являются результатом эмболии.

В течение первых нескольких часов после образования тромбы находятся в нестабильном состоянии, так как активируются механизмы фибринолиза. При преобладании тромбогенных факторов над фибринолитическими происходит организация тромбов. Тромбоз коронарных артерий проявляется клиническими симптомами нестабильной стенокардии и острого инфаркта миокарда, в особо опасных случаях наступает внезапная коронарная смерть.

Как известно, в печени синтезируется профермент пламиноген (профибринолизин). В крови он активируется с образованием пламина (фибринолизин). Различают 2 типа активаторов пламиногена:

- Внутренние (плазменные) активаторы -фактор XII(фактор Хагемана), калликреин и кинины, циркулирующие в неактивном состоянии;
- Внеплазменные (тканевые) активаторы -вещества, синтезируемые в эндотелии сосудов и почках, продукты жизнедеятельности бактерий.

Плазмин как сериновая протеаза катализирует деградацию фибрина. фибриногена, факторов свертывания V(проакцелерин, Ас-глобулин), VIII(антигемофильный глобулин), XII.a также гормонов -гормона роста, глюкагона. В крови плазмин быстро инактивируется анти-плазминами.

Венозные тромбы лизируются легче артериальных. При лечении тромбоэмболии легочной артерии, вызываемой венозными тромбами, требуются меньшие дозы тромболитических средств, чем для терапии острого инфаркта миокарда. Тромболизис позволяет восстанавливать кровоток. Для этой цели используют

- Тромболитические средства прямого действия -фибринолизин (плазмин);
- Тромболитические средства непрямого действия -активаторы плазминогена.

В группе тромболитиков различают фибриннеспецифические и фибринспецифические средства. Фибриннеспецифическим действием обладают фибринолизин и активаторы плазминогена. которые активируют как плазминоген. связанный с фибрином внутри тромбов, так и плазминоген, циркулирующий в крови. Таким образом, фибриннеспецифические Тромболитические средства катализируют лизис фибрина тромбов и фибриногена крови. Они могут вызывать кровотечение. Фибринспецифические средства активируют только плазминоген, ассоциированный с фибрином тромбов, при этом фибрин действует как кофактор. Комплекс фибринплазмин устойчив к инактивации под влиянием антиплазминов. Селективные Тромболитические средства эффективно растворяют тромбы и реже вызывают кровотечение.

Фибриннеспецифические Тромболитические средства

Фибринолизин

ФИБРИНОЛИЗИН -тромболитическое средство прямого действия, протеолитический фермент, двухцепочечный глобулин с молекулярной массой 75-120кДа. Лекарственный препарат получают из плазминогена крови человека путем активации *in vitro* с помощью трипсина.

Фибринолизин катализирует экзотромболизис -медленно деполимеризует фибрин в поверхностных слоях тромба. Он растворяет венозные тромбы в течение 5-7дней, артериальные тромбы -в первые сутки после их образования. Продукты распада фибрина тормозят свертывание крови, ингибируя полимеризацию мономеров фибрина, продукцию тромбопластина и агрегацию тромбоцитов.

Фибринолизин разрушает также фибриноген и протромбин в циркулирующей крови. При терапии фибринолизин могут возникать кровотечения и аллергические реакции (лихорадка, озноб, боль в животе, крапивница). В настоящее время фибринолизин применяют редко.

Активаторы плазминогена

СТРЕПТОКИНАЗА(АВЕЛИЗИН. КАБИКИНАЗА. СТРЕПТАЗА, ЦЕЛИАЗА) -одноцепочечный полипептид с молекулярной массой 47кДа, не содержащий углеводов. Стрептокиназу получают из культуры β -гемолитического стрептококка группы С.

Стрептокиназа активируется после ковалентного связывания с плазминогеном. Комплекс стрептокиназа-плазминоген, активируя вторую молекулу плазминогена, образует плазмин внутри тромбов и в циркулирующей крови. Стрептокиназа катализирует эндотромболизис, а также лизис фибриногена и других факторов свертывания. После введения стрептокиназы создается "литическое состояние" -гипофиб-риногенемия, повышенный уровень продуктов деградации фибрина и фибриногена. Удлиняются протромбиновое время и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ).

Период полуэлиминации стрептокиназы составляет 15-25 минут, активного комплекса стрептокиназа-плазминоген -несколько часов. Системный тромболитический эффект продолжается в течение 12-24 часов. Литическое влияние стрептокиназы на циркулирующие факторы свертывания может приводить к кровотечению у 10-20% больных.

Стрептокиназа как белок бактериального происхождения обладает антигенными свойствами. В крови любого человека циркулируют антитела против стрептокиназы, что обусловлено большой распространенностью стрептококковых инфекций в популяции. Аллергические реакции возникают даже при первом введении стрептокиназы. В дальнейшем титр антител постепенно нарастает и через несколько недель достигает пика, превышающего исходный уровень в 1000 раз. У части больных титр антител возвращается к норме через 6 месяцев, однако во многих случаях он остается увеличенным в течение 2-4 лет.

Противострептокиназные антитела становятся причиной не только аллергических реакций, но и толерантности к стрептокиназе. Эффективность тромболитической терапии значительно варьирует в зависимости от титра антител.

Не рекомендуется повторное введение стрептокиназы после проведенного лечения и перенесенной стрептококковой инфекции. Для профилактики анафилактического шока у чувствительных больных перед вливанием стрептокиназы вводят в вену преднизолон и/или про-тивогистаминные средства.

УРОКИНАЗА(АББОКИНАЗА. УРОКИДАН) -активатор плазминогена урокиназного типа. Синтезируется в форме проурокиназы в эндотелии сосудов и эпителии почечных канальцев. Первоначально уроки-наза была выделена из мочи человека.

Проурокиназа представляет собой одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой 54кДа, превращается под влиянием серино-вых протеаз в двухцепочечную урокиназу, цепи которой соединены одной дисульфидной связью.

Различают две формы урокиназы -низкомолекулярную (33кДа) и высокомолекулярную (54кДа). Лекарственный препарат урокиназы (низкомолекулярная форма) получают из культуры ткани почек эмбриона человека или методом генной инженерии.

Урокиназа более селективно, чем стрептокиназа, активирует плазминоген, связанный с фибрином тромбов, лизирует преимущественно фибрин, а не факторы свертывания крови. Однако при ее применении не исключены кровотечения. Период полуэлиминации урокиназы - 15-20 минут.

Урокиназа как фермент человека не стимулирует продукцию антител и редко вызывает аллергические реакции.

Фибринспецифические тромболитические средства - активаторы плазминогена

ПРОУРОКИНАЗА(САРУПЛАЗА) -одноцепочечный активатор плазминогена урокиназного типа.

Прouroкиназа в присутствии фибрина тромбов преобразуется в урокиназу, поэтому селективно активирует плазминоген, связанный с фибрином. Растворяет тромбы, не уменьшая содержание фибриногена в циркулирующей крови.

При остром инфаркте миокарда введение саруплазы в первые 6 часов значительно снижало частоту повторного инфаркта. Серьезные кровотечения возникали только у 1,2%больных.

АНИЗОИЛИРОВАННЫЙ (АЦИЛИРОВАННЫЙ) КОМПЛЕКС ПЛАЗМИНОГЕН-СТРЕПТОКИНАЗА(АНИСТРЕПТЛАЗА, ЭМИНАЗА) -неактивное эквимольное соединение стрептокиназы и ацилированного плазминогена человека. Взаимодействует с эндогенным плазминогеном только после освобождения от ацильного фрагмента в присутствии фибрина тромбов. После введения в кровь анизоилированный комплекс остается инертным до тех пор, пока не достигнет поверхности тромба. Период полуэлиминации этого тромболитического средства наиболее длительный - 70-120минут. Медленная элиминация позволяет вливать анизоилированный комплекс в вену в виде болюса в течение 4-5минут, что делает возможным проведение тромболитической терапии у больных инфарктом миокарда уже на догоспитальном этапе.

Анизоилированный комплекс плазминоген-стрептокиназа редко вызывает кровотечения, но подобно стрептокиназе обладает антигенными свойствами - провоцирует аллергические реакции и инактивируется противострептокиназными антителами. Лечение анизоилированным комплексом противопоказано после применения стрептокиназы.

ТКАНЕВОЙ АКТИВАТОР ПЛАЗМИНОГЕНА(АЛТЕПЛАЗА, ДУТЕПЛАЗА) -сериновая протеаза с молекулярной массой 72кДа. Синтезируется в эндотелии сосудов и секретируется в кровь в виде одноцепочечной молекулы, которая превращается в двухцепочечную форму под влиянием плазмина, трипсина, калликреина и фактора Ха (аутопротромбинIII, фактор Стюарта-Прауэра).

Лекарственные препараты тканевого активатора плазминогена получают из ткани матки человека, культуры клеток меланомы человека или методом генной инженерии. Рекомбинантный одноцепочечный препарат выпускают под названием АЛТЕПЛАЗА (АКТИЛИЗЕ), двухцепочечный препарат получил название ДУТЕПЛАЗА. Период полуэлиминации алтеплазы - 4-8минут.

Уникальное свойство тканевого активатора плазминогена -высокая избирательность действия на плазминоген, связанный с фибрином. По тромболитической эффективности тканевой активатор плазминогена превосходит стрептокиназу и урокиназу. При остром инфаркте миокарда 30-дневная летальность на фоне лечения алтеплазой была на 15%ниже, чем при терапии стрептокиназой. Через 90минут после начала внутривенного вливания алтеплазы проходимость тромбированных коронарных артерий восстанавливалась у 70-90%больных.

Тканевой активатор плазминогена редко вызывает кровотечения и лишен антигенных свойств.

В последнее время изучаются новые высокоактивные фибринспецифические тромболитические средства -ретеплаза, ланотеплаза, химеры между ретеплазой и урокиназой, активатор плазминогена, полученный из слюны летучей мыши-

вампира(*Desmodus Rotundus*),рекомбинантная стафилокиназа, монокло-нальные антифибриновые антитела.

РЕТЕПЛАЗА -модифицированная (негликозилированная) форма рекомбинантного тканевого активатора плазминогена для болюсного введения в вену. Отличается уменьшенным плазменным клиренсом. высокой эффективностью при остром инфаркте миокарда. Ретеплаза обеспечивала восстановление кровотока в инфарктсвязанных коронарных артериях у 83%больных.

ЛАНОТЕПЛАЗА -делеционный мутант ретеплазы с дополнительной заменой аминокислот. При внутривенном введении в виде болюса обеспечивал восстановление проходимости коронарных артерий у 51%пациентов с инфарктом миокарда.

РЕКОМБИНАНТНАЯ СТАФИЛОКИНАЗАобладает наиболее селективным влиянием на фибрин тромбов. Устойчива при вливании в виде болюса, получается сравнительно простым промышленным производством. Не снижает содержание фибриногена в крови и не вызывает кровотечения. При остром инфаркте миокарда стафилокиназа эффективнее ретеплазы восстанавливала кровосток в тромбированных коронарных артериях (через сутки -у 97%больных), уменьшила число случаев кардиогенного шока и летальность. Недостаток стафилокиназы -появление у большинства больных через 10-12дней противостафилококковых антител. Их титр сохраняется на повышенном уровне в течение нескольких месяцев. Эти антитела не обладают перекрестной реакцией со стрептокиназой, поэтому введение стафилокиназы и стрептокиназы можно чередовать. Созданы рекомбинантные мутанты стафилокиназы с низкой иммуногенностью.

Сравнительная характеристика тромболитических средств.

Показатели	Стрептокиназа	Урокиназа	Анистрептплаза	Алтеплаза
Молекулярная масса.кДа	47	33-54	131	70
Период полуэлиминации, мин	15-25	15-20	70-120	4-8
Связывание с плазминогеном	Непрямое	Прямое	Непрямое	Прямое
Антигенные свойства	+	*"	+	—

Показания к назначению тромболитических средств:

- Острый инфаркт миокарда в первые 4-6часов после возникновения ангинозного приступа (риск смерти уменьшался на 10-50%);
- Массивная или субмассивная тромбоэмболия легочной артерии (в течение 5-14дней);
- Периферические артериальные тромбозы;
- Тромбоз центральной вены сетчатки;
- Тромбоз печеночных, почечных и других вен. кроме вен нижних конечностей;
- Тромбоз дополнительных сосудистых шунтов (аортокоронарных, артериовенозных);

- Тромбоз протеза трехстворчатого клапана сердца.

Тромболитические средства вводят в вену или редко -внутрикоронарно. По специальным показаниям их комбинируют с гепарином, кислотой ацетилсалициловой и р-адреноблокаторами. Если в предшествующие 3-6месяцев больной получал стрептокиназу или анизоили-рованный комплекс стрептокиназа-плазминоген. то при необходимости повторного тромболизиса следует использовать тканевой активатор плазминогена во избежание анафилактического шока.

Тромболитическую терапию проводят под контролем протромбинового времени, АЧТВ (увеличивают вдвое), уровня фибриногена и продуктов его деградации, гематокрита, количества тромбоцитов в крови. После тромболизиса необходима ангиографическая оценка коронарной реперфузии через 30и 60минут.

Среди побочных эффектов тромболитических средств наиболее опасны кровотечения, при этом у 0.1-1%больных развиваются внутричерепные кровоизлияния. Кровотечения реже вызывают фибрин-специфические тромболитические средства.

При опасных для жизни кровотечениях на фоне тромболитической терапии вливают в вену 2-4ЕД свежезамороженной плазмы; 100ЕД криопреципитата, содержащего фибриноген и фактор VIII;ингибиторы фибринолиза -кислотыε-аминокапроновую, пара-аминометилбензойную, транексамовую, а также антиферментные средства. При использовании ингибиторов фибринолиза необходимо считаться с опасностью повторного тромбоза, в том числе ишемического инсульта.

Описаны разрыв миокарда и аритмия вследствие реперфузионного синдрома после реканализации коронарных артерий.

Фибринолизин и препараты стрептокиназы вызывают аллергические реакции и артериальную гипотензию.

Реокклюзия (ретромбоз) коронарных артерий после успешной тромболитической терапии наблюдается у 15-20%пациентов, но она далеко не всегда сопровождается повторным инфарктом миокарда. Для профилактики реокклюзии необходимо раннее применение гепарина, хотя это повышает риск кровотечений.

Противопоказания к введению тромболитических средств аналогичны противопоказаниям к назначению антикоагулянтов. Кроме того, тромболитические средства не применяют при сосудистых заболеваниях головного мозга, обширных ожогах, переломах костей, дегенеративных изменениях в артериях у лиц, старше 75лет, тромбозе глубоких вен нижних конечностей и наличии тромба в полостях сердца (опасность тромбоэмболии легочной артерии).

ИНГИБИТОРЫ ФИБРИНОЛИЗА

Фибринолиз и растворение сосудистых тромбов тормозят кислоты-аналоги лизина и антиферментные средства.

КИСЛОТА ε-АМИНОКАПРОНОВАЯ(АМИКАР) -производное лизина. Как известно, активный центр плазмина, взаимодействуя с лизином в молекулах фибрина и фибриногена, катализирует гидролиз этих белков. Кислота аминокaproновая по конкурентному принципу блокирует активный центр плазмина. При ее введении сохраняются фибрин и фибриноген, стабилизируются тромбы.

Аналогичное действие оказывают **КИСЛОТЫ пара-АМИНОМЕТИЛБЕНЗОЙНАЯ(АМБЕН, ПАМБА)** и **ТРАНЕКСАМОВАЯ(ТРАНСАМЧА, ЭК-**

ЗАЦИЛ). Кислота аминотимолбензойная в 3 раза, кислота транексамовая в 10 раз активнее кислоты аминотимоловой как ингибиторы фибринолиза.

При длительном введении кислоты аминотимоловой в больших дозах (больше 24 г/сут. в течение 6 дней) могут возникать кровотечения, обусловленные нарушением адгезии и агрегации тромбоцитов.

Кислота аминотимоловая ингибирует систему комплемента, протеолитические ферменты крови, продукцию кининов, стимулирует антитоксическую функцию печени, повышает АД у больных артериальной гипертензией.

Кислоты аминотимоловая, аминотимолбензойная и транексамовая хорошо (60%) всасываются из кишечника и создают максимальную концентрацию в крови через 2-3 часа. 10-15% их дозы подвергается биотрансформации в печени, остальное количество выводится в неизмененном виде почками. Период полувыведения - 2 часа. Кумулируют при почечной недостаточности. Действие сохраняется на протяжении 1-3 дней после отмены.

Антиферментные средства получают из поджелудочной железы (**ПАНТРИПИН**, **ГОРДОКС**), околосушковой железы (**КОНТРИКАЛ**) и легких (**ИНГИТРИЛ**) крупного рогатого скота. В их состав входит полипептид основного характера - апронитин, образующий неактивные комплексы с трипсином, плазмином (в том числе ассоциированным со стрептокиназой), калликреином и гепарином. Антиферментные средства:

- Подавляют фибринолиз;
- Уменьшают активацию фактора свертывания крови XII;
- Тормозят продукцию кининов при участии калликреина (брадикинин-на - в крови, каллидина - в тканях);
- Ослабляют повреждающее влияние трипсина на поджелудочную железу при панкреатите.

Антиферментные средства после вливания в вену сразу же создают максимальную концентрацию в крови, но она быстро снижается из-за экскреции почками, при этом апронитин подвергается биотрансформации в эпителии проксимальных извитых канальцев. Период полувыведения апронитина колеблется в широких пределах - от 40-60 минут до 7-12 часов в зависимости от качества препаратов и функционального состояния почек.

Ингибиторы фибринолиза-кислоты назначают внутрь и в вену. антиферментные средства - только в вену. Показания к их применению

- кровотечения на фоне активации фибринолиза и гипотиминогенемии. Такие состояния возникают при передозировке тромболитических средств, мелене новорожденных, циррозе печени, портальной гипертензии. Ингибиторы фибринолиза останавливают носовые кровотечения, желудочные кровотечения на почве язвенной болезни, легочные кровотечения при туберкулезе, бронхоэктазах. митральном стенозе, артериальной гипертензии. кровотечения после операций на органах, богатых тканевым активатором плазминогена.

Антагонизм с кининами и протеолитическими ферментами позволяет использовать ингибиторы фибринолиза при травматическом, септическом шоке, панкреатите, ожогах, сотрясении мозга, менингите.

Лечение ингибиторами фибринолиза проводят под контролем уровня фибриногена и активности плазмина в крови. Кроме того. при применении

антиферментных средств определяют активность амилазы и других ферментов в крови и моче.

При введении кислоты аминапроновой и ее аналогов могут появляться головокружение, тошнота, диарея, симптомы, напоминающие воспаление верхних дыхательных путей, изредка возникает миопатия. Передозировка опасна развитием тромбозов и тромбоэмболии.

Антиферментные средства как полипептиды вызывают анафилактические реакции -падение АД, бронхоспазм, расстройство мозгового кровообращения. Иногда перед их введением проверяют индивидуальную чувствительность с помощью кожной пробы.

Ингибиторы фибринолиза противопоказаны при индивидуальной непереносимости, повышенном свертывании крови, высоком риске тромбоэмболических состояний, синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, почечной недостаточности, беременности.

Группы крови

Антиген – это чужеродное для организма вещество (белок, полисахариды), которое при попадании в организм индуцирует образование антител.

Антитело – это специфический белок, который вырабатывается в организме в ответ на внедрение антигена. Антитела называют иммуноглобулинами, т.к. они относятся к g -глобулиновой фракции белков крови. Существует несколько видов антител (иммуноглобулинов) – IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Молекула иммуноглобулина G представляет собой Y-образный белок. На концах 2 коротких цепей антитела имеются участки, которые обладают способностью связываться с участками молекулы антигена. Антитела обладают специфичностью – они могут связываться только с молекулами того антигена, который вызывал их образование.

Иммунный ответ – процесс образования специфических антител в ответ на внедрение в организм антигена.

Каждый В-лимфоцит несет на своей поверхности определенный тип заякоренных в мембране антител. Каждый В-лимфоцит несет антитела только к одному антигену. Таким образом, каждый В-лимфоцит иммунной системы уникален.

Молекулы антигена, попавшие в кровь, сталкиваются с В-лимфоцитом, на котором есть антитела к данному антигену. Антиген связывается с антителами на поверхности В-лимфоцита.

Это приводит к активации В-лимфоцита: В-лимфоцит превращается в плазматическую клетку и начинает продуцировать соответствующие антитела.

Образующиеся антитела секретируются в кровь и связывают молекулы антигена. Образовавшиеся комплексы антиген-антитело поглощаются фагоцитирующими клетками и разрушаются.

На мембране эритроцитов иммобилизованы специфические гликолипиды, которые обладают антигенными свойствами. Эти вещества называются агглютиногенами.

В плазме крови присутствуют специфические антитела к каждому агглютиногену. Эти антитела называют агглютинидами. Всего известно около 300 агглютининов.

Агглютинация эритроцитов – процесс склеивания эритроцитов. Агглютинация происходит благодаря тому, что к 1 агглютиногену может присоединиться 2 агглютинина, расположенных на разных эритроцитах.

Каждый человек имеет свой специфический набор агглютининов и агглютиногенов. Правило: в плазме крови человека НЕ присутствуют агглютинины, специфичные к имеющимся у человека агглютиногенам. Если смешать кровь 2 разных людей, то в 70% случаев произойдет склеивание (агглютинация) эритроцитов.

Для описания индивидуальных комбинации агглютининов и агглютиногенов предложены системы групп крови (всего 9 систем). Агглютиногены и агглютинины, вызывающие сильную агглютинацию, входят в 2 основные системы – систему ABO и систему Rh.

В систему ABO входят:

- два агглютиногена: агглютиноген А и агглютиноген В
- два агглютинина: агглютинин а (специфичен к агглютиногену А) и агглютинин b (специфичен к агглютиногену В)

В соответствии с наличием этих агглютиногенов и агглютининов выделяют 4 группы крови:

Группа крови	Агглютиногены	Агглютинины
I (0)	Нет	a и b
II (A)	A	b
III (B)	B	a
IV (AB)	A и B	Нет

В систему Rh входит агглютиноген D. В соответствии с наличием этого агглютиногена выделяют 2 группы крови:

Группа крови	Агглютиногены
Rh+	D
Rh–	Нет

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Назовите концентрацию основных электролитов в плазме крови.
2. Перечислите основные макроэлементы, содержащиеся в плазме крови и их концентрацию.
3. Перечислите микроэлементы, содержащиеся в плазме крови и их концентрацию.
4. Охарактеризуйте биологическую роль кальция, его концентрацию в плазме крови.
5. Какова роль калия в организме человека, его концентрация в плазме крови.
6. Охарактеризуйте биологическую роль натрия, как основного внеклеточного иона, его концентрацию в плазме крови.
7. В чем заключается биологическая роль магния, его концентрация в плазме крови.
8. Перечислите основные микроэлементы плазмы крови, их концентрация, охарактеризуйте их биологическую роль.

9. Напишите реакции синтеза гема.
10. Опишите транспорт диоксида углерода кровью.
11. Каковы молекулярные механизмы свертывания крови?
12. Противосвертывающая система и ее характеристика.
13. Активаторы пламиногена и протеолитические ферменты как метаболические лекарственные средства.
14. Клиническое значение биохимического анализа крови.

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Проба Вельтмана

Принцип метода: Проба Вельтмана позволяет определить соотношение между белковыми фракциями, т. е. эта проба на коллоидоустойчивость. Она основана на том, что при добавлении хлористого кальция глобулины сыворотки крови образуют осадок. Альбумины в этих условиях препятствуют выпадению глобулинов, поэтому относительное уменьшение содержания альбуминов или увеличение количества глобулинов облегчает появление осадка при данной пробе.

Методика выполнения. Для проведения пробы Вельтмана берут ряд из 10 пробирок пронумерованных с растворами хлористого кальция убывающей концентрации (от 0,1% в первой пробирке до 0,01% в последней пробирке).

№№ п/п	Добавляемые		Концентрация CaCl ₂ %
	CaCl ₂ 0,1% - й р-р	H ₂ O	
1	5,0 (1)	0,0	0,10
2	4,5 (2)	0,5	0,09
3	4,0 (3)	1,0	0,08
4	3,5 (4)	1,5	0,07
5	3,0 (5)	2,0	0,06
6	2,5 (6)	2,5	0,05
7	2,0 (7)	3,0	0,04
8	1,5 (8)	3,5	0,03
9	1,0 (9)	4,0	0,02
10	0,5 (10)	4,5	0,01

Затем во все пробирки, начиная с 10, вносят по 0,1 мл сыворотки. Перемешивают содержимое пробирок стеклянными палочками, начиная с пробирки 10, и помещают все пробирки в кипящую баню на 15 минут. По истечении этого срока отмечают в каких пробирках имеется флоккуляция (при этом учитываются только хлопья, но не помутнение).

Предполагаемые результаты: Белки здорового человека дают в этих условиях флоккуляцию (выпадение хлопьев) в пробирках с концентрацией хлористого кальция от 0,1% до 0,04—0,05%, т. е. до 6—7 пробирки. Появление хлопьев в 7—10 пробирках указывает на наличие в организме патологического процесса, сопровождающегося изменением соотношений между белковыми фракциями. Это бывает при болезни Боткина, атрофии печени и т. д. Появление флоккуляции в пробирках 8—10 носит название - расширение полосы коагуляции. При ряде состояний полоса коагуляций суживается, т. с. флоккуляция в 6—7

пробирках отсутствует. Это бывает при воспалительных процессах, опухолях и ряде других заболеваний.

Обсуждаются результаты. На основании полученных данных делают вывод о коллоидоустойчивости исследуемой сыворотки крови.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2.

Количественное определение кальция в сыворотке крови

Цель работы: Кальций сыворотки крови, связанный с щавелевокислым аммонием, титруется KMnO_4 до исчезающего розового окрашивания.

Методика выполнения. Берут 2 пробирки: опытную и контрольную. В опытную вносят 2 мл H_2O , 2 мл сыворотки крови, а в контрольную - 4 мл воды. В обе пробирки добавляют по 1 мл 4%-ного щавелевокислого аммония. Оставляют на 20—30 мин. Затем центрифугируют в течении 10 мин, осторожно сливают жидкость с осадка. Добавляют в обе пробирки по 4 мл 2%-ного аммиака, встряхивают и опять центрифугируют. Сливают жидкость и вносят в обе пробирки по 2 мл 1 н серной кислоты, перемешивают стеклянной палочкой и помещают на 2 мин- ч горячую воду. Горячий раствор оттитровывают 0,01 н KMnO_4 до розового окрашивания, не исчезающего 1 мин.

Расчет:

$$x = 0,2 (A - B) \times 50 \text{ мг\%}$$

x — количество Са в сыворотке крови;

A — количество KMnO_4 , пошедшее на титрование опыта;

B — количество KMnO_4 , пошедшее на титрование контроля;

1 мл титрованного раствора соответствует 0,2 мг Са.

Предполагаемые результаты: В норме концентрация кальция в крови колеблется от 2,25 до 2,75 ммоль/л

Обсуждаются результаты, делается вывод по работе.

Самостоятельная работа студентов

1. Белки «острой фазы» (С-реактивный белок, интерферон), их характеристика, определение с целью диагностики
2. Отдельные белки плазмы крови (гаптоглобин, ингибиторы трипсина, трансферрин, церулоплазмин, криоглобулин), их характеристика и биологическая роль.

Список используемой литературы

Обязательный:

1. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
2. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
3. Северин Е.С, Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
4. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

1. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
2. Страйер. Руководство по биохимии.
3. Ленинджер. Биохимия.
4. Вельтишев. Обмен веществ у детей.
5. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

ЗАНЯТИЕ № 8.

ТЕМА: Биохимия печени. Роль печени в обмене веществ. Синтез белков плазмы крови в печени. Обезвреживающая функция печени: реакции окисления, восстановления и конъюгации. Определение мочевины в сыворотке крови.

Цели обучения.

I. Дидактические:

Студент должен знать.

- 1) Гистоархитектонику печени.
- 2) Функции печени.
- 3) Роль печени в углеводном обмене.
- 4) Роль печени в липидном обмене.
- 5) Роль печени в обмене аминокислот и белков.
- 6) Роль печени в обмене витаминов.
- 7) Роль печени в водно-минеральном обмене.
- 8) Обезвреживающую функцию печени (обезвреживание нормальных метаболитов и ксенобиотиков).

Студент должен уметь.

1. Написать схему реакций синтеза гликогена в печени.
2. Написать схему реакций мобилизации гликогена в печени.
3. Нарисовать схему реакций обмена аминокислот в печени

Студент должен владеть.

1. Методами постановки реакций определения мочевины в моче.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

- 1) Роль печени в углеводном обмене.
- 2) Роль печени в липидном обмене.
- 3) Роль печени в обмене аминокислот и белков.
- 4) Роль печени в обмене витаминов.
- 5) Роль печени в водно-минеральном обмене.
- 6) Обезвреживающую функцию печени (обезвреживание нормальных метаболитов и ксенобиотиков).

Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

1. Обнаружение мочевины в моче.

Наглядные пособия:
Таблицы

Оснащения занятия

1. Реактивы, штатив с пробирками, пипетки

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Что является структурно—функциональной единицей печени?
2. Что такое печеночная долька, печеночная балка?
3. Как происходит очищение крови от токсинов? Что такое «чудесная сеть» печени?
4. Дать количественную и качественную характеристику нормы белков.
5. Критерии, определяющие полноценность потребляемых белков.
6. Перечислить и написать незаменимые аминокислоты.
7. Охарактеризовать понятие «резервные белки».
8. Азотистый баланс, его варианты - как критерии интенсивности белкового обмена.
9. Перечислите и охарактеризуйте белки плазмы крови.

Актуальность темы занятия

Печень занимает центральное место в обмене веществ и выполняет многообразные функции:

1. **гомеостатическая** – регулирует содержание в крови веществ, поступающих в организм с пищей, что обеспечивает постоянство внутренней среды организма.
2. **биосинтетическая** – осуществляет биосинтез веществ «на экспорт» (белки плазмы крови, глюкоза, липиды, кетоновые тела и др.).
3. **обезвреживающая** – в печени происходит обезвреживание токсических продуктов метаболизма (аммиак, продукты гниения белков в кишечнике, билирубина и др.), чужеродных соединений и лекарственных веществ.
4. **пищеварительная** – связана с синтезом желчных кислот, образованием и секрецией желчи.
5. **выделительная (экскреторная)** – обеспечивает выделение некоторых продуктов метаболизма (холестерол, желчные пигменты) с желчью в кишечник.
6. **инактивация гормонов, витаминов.**

Большое значение печени определяется ее анатомическим положением. Это промежуточный орган между кишечником и системой общего кровотока. Благодаря печени в общем круге кровообращения изменения концентрации ряда веществ, поступающих в организм с пищей (глюкоза, аминокислоты и др.), незначительны.

Масса печени составляет 2-3% от веса тела, у взрослого человека – 1,2 – 2 кг.

Масса печени и её химический состав подвержены изменениям, в особенности, при патологических состояниях. Для осуществления обменных функций печень получает от 1/4 до 1/3 крови минутного объема сердца, что составляет около 1,5 литра в минуту. 70% крови поступает в печень по воротной вене, 30 % - по печеночной артерии.

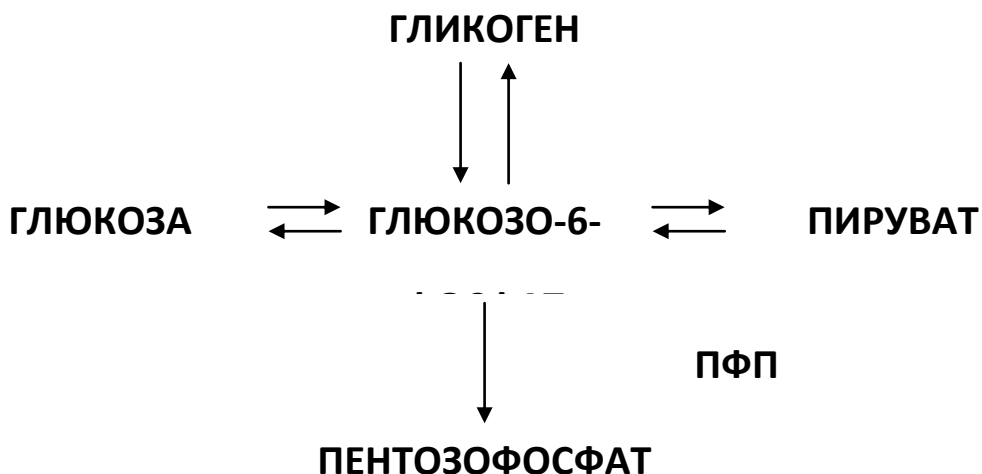
Роль печени в углеводном обмене

Основная роль печени в углеводном обмене заключается в поддержании нормального содержания глюкозы в крови – т. е. в регуляции **нормогликемии**. Это достигается за счет нескольких механизмов.

1. Наличие в печени фермента глюкокиназы. Глюкокиназа, подобно гексокиназе, фосфорилирует глюкозу до глюкозо-6-фосфата. следует отметить, что глюкокиназа в отличие от гексокиназы, содержится, только в печени и β -клетках островков лангерганса. активность глюкокиназы в печени в 10 раз превышает активность гексокиназы. кроме того, глюкокиназа в противоположность гексокиназе имеет более высокое значение K_m для глюкозы (т. е. меньшее сродство к глюкозе).

После приема пищи содержание глюкозы в воротной вене резко возрастает и достигает 10 ммоль/л и более. повышение концентрации глюкозы в печени вызывает существенное увеличение активности глюкокиназы и увеличивает поглощение глюкозы печенью. благодаря синхронной работе гексокиназы и глюкокиназы печень быстро и эффективно фосфорилирует глюкозу до глюкозо-6-фосфата, обеспечивая нормогликемию в системе общего кровотока. Далее глюкозо-6-фосфат может метаболизироваться по нескольким направлениям.

Участие глюкозо-6-фосфата в метаболизме углеводов



3. **Синтез и распад гликогена.** Гликоген печени выполняет роль депо глюкозы в организме. после приема пищи избыток углеводов откладывается в печени в виде гликогена, уровень которого составляет примерно 6 % от массы печени (100-150 г). В промежутках между приемами пищи, а также в период «ночного голодания» пополнения пула глюкозы в крови за счет всасывания из кишечника не происходит. В этих условиях активируется распад гликогена до глюкозы, что поддерживает уровень гликемии. Запасы гликогена истощаются к концу 1-х суток голодания.

Схема реакций синтеза гликогена в печени.

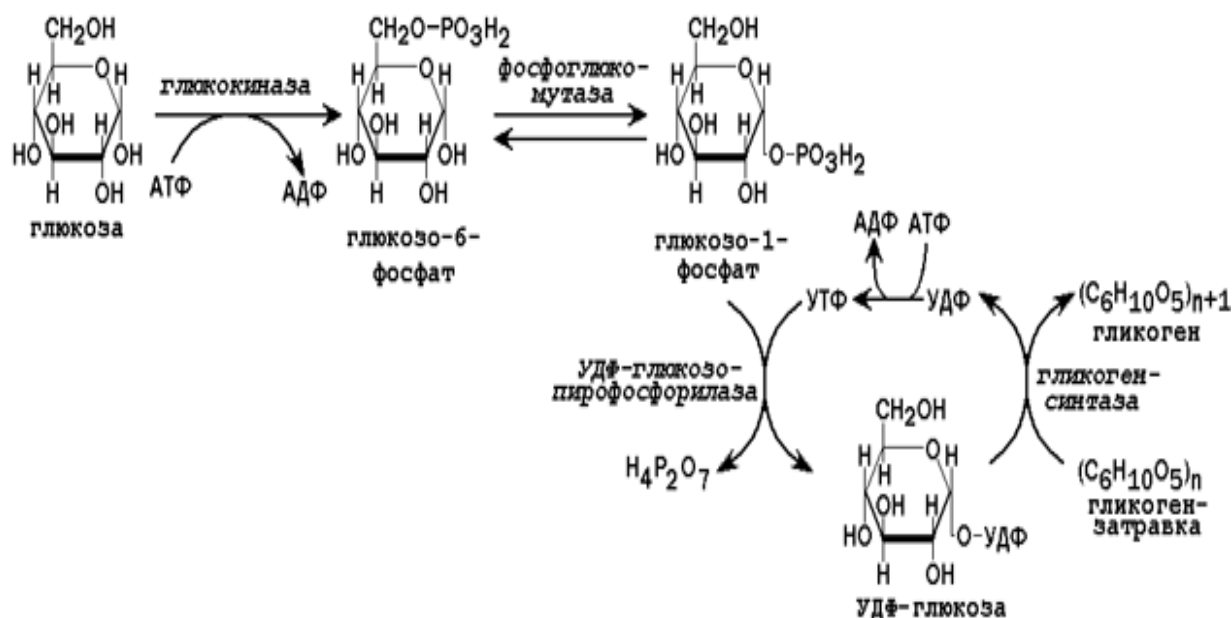
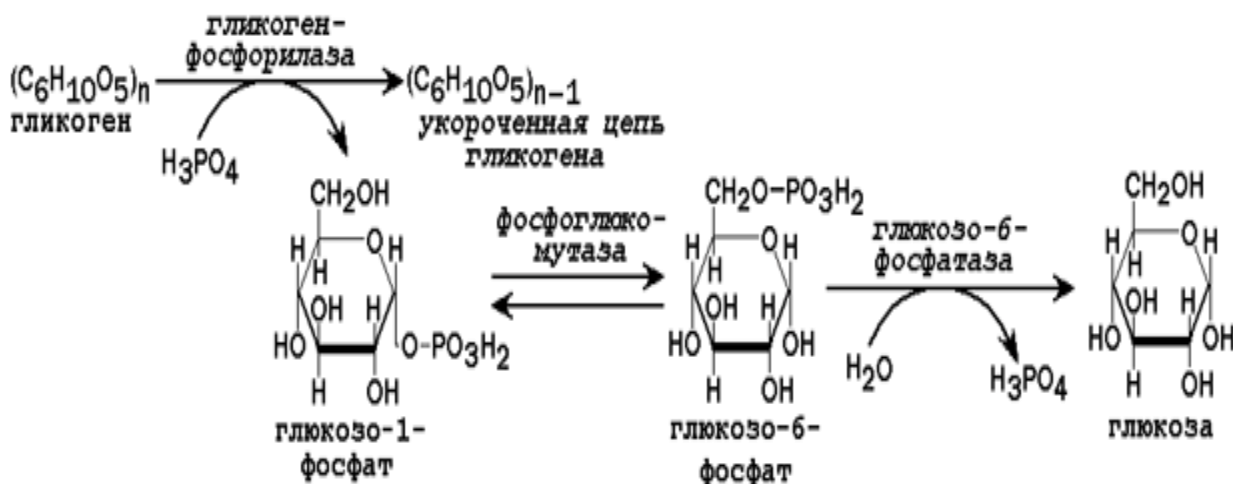


Схема реакций мобилизации гликогена в печени.



3. В печени активно протекает глюконеогенез – синтез глюкозы из неуглеводных предшественников (лактат, пируват, глицерол, гликогенные аминокислоты). Благодаря глюконеогенезу в организме взрослого человека образуется примерно 70 г глюкозы в сутки. Активность глюконеогенеза резко возрастает при голодании на 2-е сутки, когда запасы гликогена в печени исчерпаны.

Благодаря глюконеогенезу печень участвует в цикле кори – процессе превращения молочной кислоты, образующейся в мышцах, в глюкозу.

4. В печени осуществляется превращение фруктозы и галактозы в глюкозу.

5. В печени происходит синтез глюкуроновой кислоты.

Роль печени в липидном обмене.

Печень участвует во всех этапах липидного обмена, начиная с переваривания липидов и заканчивая специфическими метаболическими превращениями отдельных липидных фракций:

- синтез желчных кислот и образование желчи;
- β -окисление жирных кислот;
- биосинтез жирных кислот;
- образование кетонных тел;
- распад и синтез фосфолипидов;
- синтез холестерина и образование его эфиров; соотношение эфиры холестерина/свободный холестерин в норме составляет примерно 0,5 – 0,7 %; снижение этого коэффициента до 0,3 – 0,4 % наблюдается при поражениях печени и является неблагоприятным признаком;
- основное место синтеза липопротеинов очень низкой плотности и липопротеинов высокой плотности;
- гидроксилирование витамина d по 25-му положению.

Роль печени в обмене аминокислот и белков.

Печень играет центральную роль в обмене белков и других азотсодержащих соединений. она выполняет следующие функции:

- синтез специфических белков плазмы: - в печени синтезируется: 100 % альбуминов, 75 – 90 % α -глобулинов, 50 % β -глобулинов, единственный орган, где синтезируются белки свертывающей системы крови – протромбин, фибриноген, проконвертин, проакцелерин;
- активно протекают реакции трансаминирования и дезаминирования аминокислот;
- биосинтез мочевины происходит исключительно в печени;
- образование мочевой кислоты происходит в основном в печени, так как здесь много фермента ксантиноксидазы, при участии которого продукты

распада пуриновых оснований (гипоксантин и ксантин) превращаются в мочевую кислоту;

- синтез креатина и холина.

Роль печени и в синтезе креатина

Существует два источника креатина (метилгуанидинуксусной кислоты) в организме – экзогенный креатин (преимущественно из мясных продуктов и др.) и эндогенный креатин (синтезируется в тканях). В синтезе креатина участвуют три аминокислоты – глицин, аргинин, метионин. В результате реакции трансамидирования с аргинина на глицин образуется гуанидинуксусная кислота. Этот процесс происходит в почках, но не в печени и не в сердечной мышце. В печени осуществляется завершающий этап синтеза креатина путем метилирования гуанидиноацетата. Донором метильных групп является аденозиноцистеин. Из печени креатин с током крови поступает в мышечную ткань.

Обмен аминокислот в печени (схема).



Роль печени в белковом обмене.

Печень играет центральную роль в обмене белков в организме, она осуществляет синтез специфических белков плазмы: всех альбуминов (13–18 г в сутки), 75–90 % α -глобулинов, 50 % β -глобулинов, γ -глобулинов (совместно с системой макрофагов), протромбина, фибриногена, проконвертина и проакцелерина. В печени происходит образование мочевины и мочевой кислоты; синтезируются креатин и холин; протекают процессы переаминирования и деаминации аминокислот, (что важно для взаимопревращений аминокислот, глюконеогенеза и образования кетонных тел). Уровень аминокислот в плазме крови регулируется печенью. В сутки подвергается распаду 70 г аминокислот, при этом освобождается NH_3 . В норме концентрация NH_3 в крови поддерживается

на уровне, не превышающем 60 мкмоль/л (3 ммоль/л – летальна). Основным процессом обезвреживания NH_3 в организме является биосинтез мочевины в орнитиновом цикле. Наиболее интенсивно он протекает в печени.

Вначале из аммиака и бикарбоната (с затратой 2 моль АТФ) при участии карбамоилфосфатсинтазы, локализованной в митохондриях печени, синтезируется карбамоилфосфат – активная форма аммиака, макроэрг, который участвует в синтезе пиримидинов, аргинина и др. От карбамоилфосфата карбамоильная группа переносится на орнитин с образованием цитруллина. Эта реакция катализируется орнитинкарбамоилтрансферазой. Еще одна NH_2 -группа будущей молекулы мочевины поступает от аспарагиновой кислоты, образующейся в результате переаминирования между глутаминовой и щавелевоуксусной кислотами. Затем NH_2 -группа аспарагиновой кислоты конденсируется с карбамильной группой цитруллина при участии АТФ, реакция катализируется аргининосукцинатсинтазой. В результате образуется аргининосукцинат, обратимо расщепляющийся до аргинина и фумарата. Под действием аргиназы от аргинина отщепляется гуанидиновая группа, образуется мочевина и орнитин, который снова входит в цикл. В небольших количествах аргиназа присутствует в почках, мозгу, молочных железах, семенниках, коже. Фермент из печени млекопитающих активируется ионами Ca^{2+} или Mn^{2+} . Сильными ингибиторами аргиназы являются орнитин и лизин, конкурирующие с аргинином. Таким образом, для синтеза одной молекулы мочевины нужны две молекулы NH_3 , одна молекула CO_2 и три молекулы АТФ. Количество выделяемой из организма мочевины находится в зависимости от количества белков в пище и у взрослого человека в норме составляет в среднем 25–35 г/сут. Орнитиновый цикл мочевинообразования имеет большое значение не только для поддержания концентрации аммиака на стационарном уровне, но и для удаления метаболического бикарбоната. У большинства животных основным источником метаболического бикарбоната являются аминокислоты. HCO_3^- и NH_4^+ образуются при окислении аминокислот приблизительно в эквимольных количествах. В организме человека (массой 70 кг) ежедневно образуется около моля HCO_3^- , подлежащего выведению, иначе бы pH увеличился до 8,0. Влияние HCO_3^- на pH не может компенсироваться буферными системами (они защищают только от колебаний pH), и не могут противостоять непрерывному добавлению бикарбоната. Эффективным способом удаления бикарбоната является протонирование HCO_3^- , преводящее к образованию CO_2 и удаление последнего с выдыхаемым воздухом. Донором протонов может служить NH_4^+ . Однако перенос протонов с NH_4^+ на HCO_3^- требует преодоления высокого термодинамического барьера. Эта проблема в организме решается путем сопряжения процесса, идущего с гидролизом АТФ. Таким механизмом служит орнитиновый цикл мочевинообразования, в котором синтез 1 моль мочевины сопровождается введением 2 моль HCO_3^- .

Один ион HCO_3^- включается в молекулу мочевины, другой – просто протонируется с образованием CO_2 :

В аспекте кислотно-щелочной регуляции важно то, что при синтезе 1 моль мочевины происходит перенос 2 моль H^+ с NH_4^+ на HCO_3^- . Процесс термодинамически выгоден, поскольку цикл мочевинообразования, питаемый АТФ, работает как протонный насос, переносящий протоны от NH_4^+ на HCO_3^- через высокий энергетический барьер. При этом удаляются оба конечных

продукта катаболизма аминокислот (белков). Механизм использования мочевины у животных во время спячки имеет важное адаптационное значение. Мочевина во время спячки не накапливается, несмотря на продолжающийся катаболизм белков и аминокислот. Это обусловлено не более эффективным ее выделением из организма, а быстрым катаболизмом. При исследовании, проведенном на мелких животных (сусликах), было показано, что при анабиозе цикл мочевинообразования продолжается, он необходим для предотвращения защелачивания внутренней среды из-за накопления ионов бикарбоната. Однако количество выделяемой почками мочевины не соответствует количеству белка, подвергшегося деградации, оно существенно меньше. Оказалось, что мочевина, образовавшаяся в печени, может вторично использоваться. Это сводит к минимуму ее вредное воздействие, поддерживает кислотно-щелочной баланс и сохраняет в организме воду. Другой возможный путь утилизации глюкозы – выделение мочевины со слюной. У крупных животных (бурого медведя) при спячке интенсивность метаболизма снижается, но составляет приблизительно 4000 ккал/сут. Расчет сделан на основании расходования жировых запасов. Медведь не пьет, не ест, не испражняется и не выделяет мочу. Медведица рождает и выкармливает детенышей. Несмотря на это, конечные продукты белкового обмена не накапливаются, концентрация аминокислот, белка, мочевины, мочевой кислоты, объем крови и воды не изменяется. Синтез мочевины несколько снижается за счет уменьшения скорости окислительного пути использования аминокислот и активации биосинтетического – биосинтез белка (особенно у медведицы, родившей и выкармливающей медвежат) возрастает почти в три раза. Однако она образуется в тех количествах, которые могут вызвать интоксикацию, и подлежит удалению из организма. И у крупных млекопитающих во время спячки азот мочевины используется вторично.

Синтезированная мочевина кровью доставляется в слюнные железы, экскретируется в слюну и поступает в желудочно-кишечный тракт. Под действием микрофлоры кишечника она расщепляется, освободившийся аммиак частично всасывается в кровь через воротную вену и поступает в печень, где используется на аминирование органических субстратов. Аммиак также потребляется микроорганизмами для синтеза азотсодержащих соединений. Освободившиеся из них в процессе пищеварения аминокислоты всасываются, поступают в кровоток и используются на нужды организма. Такая организация катаболизма жиров и белков позволяет организму медведя во время спячки функционировать как относительно замкнутая система, при этом поддерживается гомеостазис. У человека и приматов в печени и частично в слизистой кишечника образуется небольшое количество мочевой кислоты в результате деградации пуриновых нуклеотидов. За сутки в организме взрослого человека в норме в среднем образуется 400–600 мг мочевой кислоты. У большинства млекопитающих мочевая кислота превращается в аллантоин под действием уриказы. У приматов и человека (как у птиц и рептилий) аллантоин не образуется, конечным продуктом катаболизма пуринов является мочевая кислота.

Участие печени в обмене витаминов.

Все жирорастворимые витамины (А, D, Е, К, F) и водорастворимые витамины (В₁₂, фолиевая кислота, В₁, В₆, РР и др.) всасываются в кишечнике, поступают в воротную вену, доставляются в печень и там депонируются. В печени осуществляется синтез никотиновой кислоты, активация фолиевой кислоты,

которая с помощью витамина С восстанавливается в тетрагидрофолиевую кислоту, фосфорилирование витаминов В₁ и В₆ в тиаминдифосфат и пиридоксальфосфат соответственно. Каротины при участии каротиндиоксигеназы преобразуются в витамин А. Витамин Д подвергается первому гидроксилированию на пути синтеза гормона кальцитриола. Витамины РР, В₂, пантотеновая кислота включаются в соответствующие нуклеотиды (НАД⁺, НАДФ⁺, ФМН, ФАД, КоА-SH). Витамин К окисляется до пероксида служит коферментом в посттрансляционной модификации белковых факторов свертывания крови. В печени синтезируются белки – транспортеры витаминов (например, ретинолсвязывающий белок, витамин Е-связывающий белок и др.). Жирорастворимые витамины, продукты их преобразований и некоторые водорастворимые выделяются из организма в составе желчи.

Участие печени в водно-минеральном обмене.

Печень дополняет деятельность почек в поддержании водно-солевого равновесия. Она задерживает ионы Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺ и воду и выделяет их в кровь, депонирует макро- (K, Na, Ca, Mg, Fe) и микро- (Cu, Mn, Zn, Co, As, Cd, Pb, Se) элементы и участвует в их распределении по другим тканям с помощью транспортных белков. Для накопления и переноса железа гепатоциты синтезируют белки транспортеры – ферритин и трансферрин. В ретикулоэндотелиоцитах печени и селезенки образуется водонерастворимый железосодержащий протеиновый комплекс – гемосидерин. В гепатоцитах синтезируется церулоплазмин, который, кроме других функций, выполняет роль транспортного белка ионов меди. В печени ион цинка включается в алкогольдегидрогеназу, необходимую для биотрансформации этанола. Поступившие в гепатоциты соединения селена преобразуются в Se-содержащие аминокислоты и с помощью специфической т-РНК включаются в различные Se-протеины: глутатионпероксидазу, 1-иодтиронин-5'-деиодиназу, Se-протеин Р. Последний считают основным транспортером этого микроэлемента. В печени сера аминокислот окисляется до сульфатов, которые в виде фосфоаденозилфосфосульфатов используются в реакциях сульфирования эндогенных субстратов, а также в процессах биотрансформации ксенобиотиков. Печень способна служить временным депо воды, особенно при отеках (количество H₂O может составлять до 80 % от массы органа).

Обезвреживающая функция печени

В печени происходит детоксикация различных веществ.

Печень является главным органом, где происходит обезвреживание естественных метаболитов (билирубин, гормоны, аммиак) и чужеродных веществ. чужеродными веществами, или ксенобиотиками, называют вещества, поступающие в организм из окружающей среды и не используемые им для построения тканей или в качестве источников энергии. К ним относят лекарственные препараты, продукты хозяйственной деятельности человека, вещества бытовой химии и пищевой промышленности (консерванты, красители).

Обезвреживание нормальных метаболитов.

1. Обезвреживание пигментов.

В клетках ретикулоэндотелиальной системы печени протекает катаболизм гема до билирубина, конъюгация билирубина с глюкуроновой кислотой в гепатоцитах и распад в гепатоцитах поступающего из кишечника уробилиногена до непигментных продуктов.

2. Обезвреживание аммиака.

Аммиак – высокотоксичное соединение, особо опасное для мозга. основным механизмом обезвреживания аммиака в организме является биосинтез мочевины в печени. мочевина – малотоксичное соединение и легко выводится из организма с мочой.

3. Инактивация гормонов.

Печени принадлежит значительная роль в инактивации гормонов. многие пептидные гормоны гидролизуются в печени при участии протеолитических ферментов. например, фермент инсулиназа гидролизует пептидные цепи а и в инсулина. Катаболизм адреналина и норадреналина происходит в печени путем дезаминирования моноаминоксидазой, метилирования и конъюгации с серной и глюкуроновой кислотами. продукты метаболизма выводятся с мочой.

Обезвреживание ксенобиотиков.

Обезвреживание большинства ксенобиотиков происходит в 2 фазы:

1. фаза химической модификации;
2. фаза конъюгации.

Химическая модификация – это процесс ферментативной модификации исходной структуры ксенобиотика, в результате которой происходит:

- разрыв внутримолекулярных связей;
- присоединение к молекуле дополнительных функциональных групп (-СН, -ОН, -NH₂),
- удаление функциональных групп путем гидролиза.

Типы модификаций:

- окисление (микросомальное, пероксисомальное);
- восстановление;
- изомеризация;
- ацетилирование, метилирование, гидроксילирование;
- гидролиз и т.д.

Система обезвреживания включает множество разнообразных ферментов (оксидоредуктазы, изомеразы, лиазы, гидролазы), под действием которых практически любой ксенобиотик может быть модифицирован. наиболее активны ферменты метаболизма ксенобиотиков в печени.

В результате химической модификации, как правило, ксенобиотики становятся более гидрофильными, повышается их растворимость, и они легче выделяются из организма с мочой. Кроме этого, дополнительные функциональные группы необходимы, чтобы вещество вступило в фазу конъюгации.

Конъюгация – процесс образования ковалентных связей между ксенобиотиком и эндогенным субстратом. образование связей происходит, как правило, по он- или NH₂-группе ксенобиотика. образовавшийся конъюгат малотоксичен и легко выводится из организма с мочой.

Выделяют глюкуронидную, сульфатную, тиосульфатную, ацетильную конъюгации. В них принимают участие эндогенные соединения, образующиеся в организме с затратой энергии: УДФ-глюкуронат, ФАФС, тиосульфат, ацетил-КоА.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний.

1. Приведите примеры фазы химической модификации обезвреживания ксенобиотиков (реакции окисления, восстановления и гидролиза).
2. Приведите примеры фазы конъюгации обезвреживания ксенобиотиков (конъюгация с глюкуроновой кислотой, серной кислотой, сульфатами, глицерином; реакции ацилирования).

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1.

Определение мочевины в моче

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

Методика выполнения: Пипетки и пробирки должны быть обязательно сухими. В пробирку наливают микропипеткой 0,2 мл мочи, добавляют 1,2 мл 2%-ного раствора парадиметиламинобензальдегида и тщательно перемешивают. Через 15 минут пробу фотометрируют в сухих кюветах шириной 3 мм с синим светофильтром против воды. По калибровочному графику определяют концентрацию мочевины в 100 мл мочи. Рассчитывают мочевины в г/сут. Коэффициент пересчета в единицы СИ (ммоль/сут.) равен 16,65. В N за сутки выделяется 20-30 грамм или 333-583 ммоль/л, мочевины.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

Самостоятельная работа студентов

1. Роль печени в обмене азотистых оснований нуклеиновых кислот.
2. Нарушения синтеза мочевины (энзимопатии).
3. Микросомальное окисление.

Литература.

Обязательная

1. «БИОХИМИЯ» Учебник для вузов /под ред.Е.С.Северина.- М.: ГЭОТАР- МЕД, 2012.-784 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998.- 740 с.

3. Биохимия. С упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина– М: «Гэотар-мед», 2008.- 380 с.
4. В.П. Комов, В.Н. Шведова «Биохимия», - М., «Дрофа», - 2004 г., - 620 с.
5. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 с.
6. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека – М.:Наука 1980
7. Уайт А и соавт. Основы биохимии – М.:Мир 1979

Дополнительная

1. В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович «Биологическая химия» под ред. А.Д. Тагановича- Москва, Минск, - 2008, - 687 с.
2. Ю.К. Василенко «Биологическая химия», - М., «МЕДпресс-инфо», - 2011, - 432 с.

ЗАНЯТИЕ № 9.

Тема: Биохимия печени. Катаболизм гема, образование желчных пигментов (билирубина), его обезвреживание в печени. «Прямой» и «непрямой» билирубин. Нарушение обмена билирубина. Диагностическое значение определения билирубина в крови и моче. Обезвреживание в печени продуктов гниения аминокислот, поступающих из кишечника. Биохимические методы диагностики заболевания печени. Количественное определение холестерина в сыворотке крови энзиматическим калориметрическим методом.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

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

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

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.

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 O₂

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

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.
9. Напишите реакцию окисления субстрата НАД⁺-зависимой дегидрогеназой.
10. Напишите реакцию окисления НАДН флавиновым ферментом.
11. Напишите реакцию окисления ФМН Н₂ с помощью убихинона.
12. Напишите окисление восстановленного убихинона.
13. Что такое цитохромы? Какие разновидности участвуют в цепи транспорта электронов? Чем цитохромоксидаза отличается от цитохромов?
14. Что такое эндогенная вода? Сколько ее образуется за сутки в организме человека? Какова роль каталазы и глутатионпероксидазы?
15. Что мы понимаем под окислительным фосфорилированием? Что такое коэффициент фосфорилирования P/O?
16. В чем суть химиосмотической теории сопряжения окисления с фосфорилированием.
17. Что такое трансмембранный электрохимический градиент? Из каких компонентов он складывается?
18. Какие участки дыхательной цепи обеспечивают сопряжение окисления и фосфорилирования?
19. Что представляет собой сопрягающее устройство?
20. Какие вещества являются разобщающими агентами?
21. Что представляет собой укороченная Ц.Т.Э.?
22. Сколько молекул АТФ возникает при прохождении по ней 2 электронов?
23. Что такое короткие нефосфорилированные цепи и где они функционируют?

Актуальность темы занятия

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Проведение лабораторных работ и оформление протоколов

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1.

Самостоятельная работа студентов

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

1.

Список используемой литературы

Обязательный:

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия, Москва, 1998- 740 с.
2. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. Под ред. проф. Е.С.Северина и проф. А.Я.Николаева. – М.: «Гэотар-мед», 2001.- 441 с.
3. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В. Биохимия. - М.: Медицина, 2000.- 164 с.
4. Дзугкоева Ф.С., Калоева Л.А., Каряева Э.А., Гурина А.Е., Баллаева С.А. «Обмен веществ (учебно-методическое пособие)» с грифом Учебно-методическое объединение МЗ РФ, Владикавказ, 2003, 170 стр.
5. Конспект лекций.

Дополнительный:

1. Ленинджер Л. Биохимия.- Москва, 1986 (Т.1,2,3)
2. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия.- М., Гэотар, Медицина, 2000.- 120 с.
3. Биохимические основы патологических процессов (под ред. Е.С.Северина).- М.: Медицина, 2000.- 304 с.
4. Вельтишев Ю.В., Князев Ю.А. «Обмен веществ у детей». Москва, 1983

ЗАНЯТИЕ № 10.

Тема: Биохимия межклеточного матрикса и соединительной ткани. Коллаген – особенности аминокислотного состава, первичной и пространственной структуры. Роль аскорбиновой кислоты в гидроксировании пролина и лизина. Проявления недостаточности витамина С. Особенности биосинтеза и созревания коллагена. Строения и функций эластина. Гликозаминогликаны и пртеогликаны. Строение и функции. Роль глюкуроновой кислоты в организации межклеточного матрикса. Адгезивные белки межклеточного матрикса: фибронектин и ламинин, их строение и функции. Роль этих белков в межклеточных взаимодействиях и развитии опухолей, структурная организация межклеточного матрикса. Изменения соединительной ткани при старении, коллагенозах. Роль коллагеназы при заживлении ран.Проба с цетилтриметиламмонийбромидом (ЦТАБ) на гликозаминогликаны.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

5. Дидактические:

Студент должен знать:

1. Роль мембран в метаболизме и их разнообразие
2. Строение и состав мембраны эукариотических клеток;
3. Функции клеточных мембран;
4. Основные принципы организации мембранных липидов и белков, липопротеиновый комплекс клеточных мембран;
5. Молекулярная организация биологических мембран;
6. Биосинтез биологических мембран.
7. Методы выделения мембран: разрушение клеток, разделение мембран;

разделение и анализ липидных компонентов мембран; выделение и модификацию мембраносвязанных компонентов.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать роль мембран в регуляции метаболизма, транспорте веществ в клетку и удалении метаболитов.
2. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

6. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

7. Обучающие:

Основные вопросы

1. История открытия мембран, разнообразие мембран.
2. Методы выделения мембран: разрушение клеток, разделение мембран; разделение и анализ липидных компонентов мембран; выделение и модификацию мембраносвязанных компонентов
3. Молекулярная организация биологических мембран.
4. Мембранные липиды: характеристика, строение, функции.
5. Мембранные белки: характеристика, строение, функции.
6. Мембранные углеводы: характеристика, строение, функции.
7. Модели движения мембранных компонентов. Текучесть мембран. Вращение мембранных белков.
8. Латеральная диффузия белков в мембранах.
9. Динамические свойства остова мембранных белков и их боковых цепей.
10. Мембранные белки – ферменты.
11. Взаимодействие низкомолекулярных соединений с мембранами (адсорбция лигандов на бислой; проницаемость липидных мембран для неэлектролитов и ионов; электрические свойства мембран; мембранный потенциал).
12. Биосинтез биологических мембран (биосинтез и распределение мембранных липидов; общие особенности экзоцитозного пути; характерные пути биосинтеза мембранных белков; сборка мультисубъединичных комплексов; обновление компонентов мембран).
13. Модификаторы мембран; искусственные мембраны

Наглядные пособия: таблицы

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.

5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов – 15 мин.**
6. **Выставление оценок – 3 мин.**

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Актуальность темы занятия

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Самостоятельная работа студентов

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

Список используемой литературы

Обязательный:

1. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
2. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
3. Северин Е.С, Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
4. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

1. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
2. Страйер. Руководство по биохимии.
3. Ленинджер. Биохимия.
4. Вельтищев. Обмен веществ у детей.
5. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

ЗАНЯТИЕ №11.

Тема: Биохимия мышц. Особенности состава мышечной ткани. Важнейшие белки миофибрилл: миозин, актин, тропамиозин, тропонин. Молекулярные механизмы мышечного сокращения. Роль градиента одновалентных ионов и ионов кальция в регуляции мышечного сокращения. Саркоплазматические белки: миоглобин, его строение и функции, экстрактивные вещества мышц. Особенности энергетического обмена в мышцах; роль креатинфосфата. Биохимические изменения при дистрофиях и денервации мышц. Определение активности АЛТ и АСТ.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

1. Строение и функционирование белковых каналов
2. Облегченная диффузия веществ.
3. Перенос веществ через мембраны (активный транспорт – первичный активный транспорт, вторичный активный транспорт; пассивный транспорт).
4. Перенос через мембрану макромолекул и частиц (эндоцитоз, экзоцитоз).
5. Трансмембранная передача сигналов.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать роль мембран в регуляции метаболизма, транспорте веществ в клетку и удалении метаболитов.
2. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

14. История открытия мембран, разнообразие мембран.
15. Методы выделения мембран: разрушение клеток, разделение мембран; разделение и анализ липидных компонентов мембран; выделение и модификацию мембраносвязанных компонентов
16. Молекулярная организация биологических мембран.
17. Мембранные липиды: характеристика, строение, функции.
18. Мембранные белки: характеристика, строение, функции.
19. Мембранные углеводы: характеристика, строение, функции.
20. Модели движения мембранных компонентов. Текучесть мембран. Вращение мембранных белков.
21. Латеральная диффузия белков в мембранах.
22. Динамические свойства остова мембранных белков и их боковых цепей.
23. Мембранные белки – ферменты.
24. Взаимодействие низкомолекулярных соединений с мембранами (адсорбция лигандов на бислой; проницаемость липидных мембран для неэлектролитов и ионов; электрические свойства мембран; мембранный потенциал).
25. Биосинтез биологических мембран (биосинтез и распределение мембранных липидов; общие особенности экзоцитозного пути; характерные пути биосинтеза мембранных белков; сборка мультисубъединичных комплексов; обновление компонентов мембран).
26. Модификаторы мембран; искусственные мембраны

Наглядные пособия: *таблицы*

План (хронокарта) занятия.

1. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
2. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
3. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
4. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
5. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
6. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Актуальность темы занятия

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Самостоятельная работа студентов

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

Список используемой литературы

Обязательный:

5. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
6. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
7. Северин Е.С., Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
8. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

6. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
7. Страйер. Руководство по биохимии.
8. Ленинджер. Биохимия.
9. Вельтищев. Обмен веществ у детей.
10. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

ЗАНЯТИЕ № 12.

Тема: Биохимия нервной системы. Особенности химического состава нервной ткани. Миелиновые мембраны: особенности состава и структуры. Энергетический обмен нервной ткани. Обмен пирувата и полиневриты. Биохимия возникновения и проведения нервного импульса. Молекулярные механизмы синаптической передачи. Медиаторы: ацетилхолин, катехоламины, серотонин, гамма-

аминомасляная кислота, глутаминовая кислота, глицин, гистамин. Нарушение обмена биогенных аминов при психических заболеваниях. Предшественники катехоламина и ингибиторы моноаминоксидазы в печени при депрессивных состояниях. Молекулярные механизмы памяти. Белки – «молекула памяти». Физиологические пептиды мозга. Определение активности холинэстеразы в сыворотке крови

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

6. Строение и функционирование белковых каналов
7. Облегченная диффузия веществ.
8. Перенос веществ через мембраны (активный транспорт – первичный активный транспорт, вторичный активный транспорт; пассивный транспорт).
9. Перенос через мембрану макромолекул и частиц (эндоцитоз, экзоцитоз).
10. Трансмембранная передача сигналов.

Студент должен уметь:

3. Интерпретировать роль мембран в регуляции метаболизма, транспорте веществ в клетку и удалении метаболитов.
4. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

27. История открытия мембран, разнообразие мембран.
28. Методы выделения мембран: разрушение клеток, разделение мембран; разделение и анализ липидных компонентов мембран; выделение и модификацию мембраносвязанных компонентов
29. Молекулярная организация биологических мембран.
30. Мембранные липиды: характеристика, строение, функции.
31. Мембранные белки: характеристика, строение, функции.
32. Мембранные углеводы: характеристика, строение, функции.
33. Модели движения мембранных компонентов. Текучесть мембран. Вращение мембранных белков.
34. Латеральная диффузия белков в мембранах.
35. Динамические свойства остова мембранных белков и их боковых цепей.
36. Мембранные белки – ферменты.
37. Взаимодействие низкомолекулярных соединений с мембранами (адсорбция лигандов на бислой; проницаемость липидных мембран для неэлектролитов и ионов; электрические свойства мембран; мембранный

потенциал).

38. Биосинтез биологических мембран (биосинтез и распределение мембранных липидов; общие особенности экзоцитозного пути; характерные пути биосинтеза мембранных белков; сборка мультисубъединичных комплексов; обновление компонентов мембран).

39. Модификаторы мембран; искусственные мембраны

Наглядные пособия: таблицы

План (хронокарта) занятия.

7. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
8. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
9. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
10. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
11. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
12. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Актуальность темы занятия

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Самостоятельная работа студентов

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

Список используемой литературы

Обязательный:

9. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
10. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
11. Северин Е.С., Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
12. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

11. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
12. Страйер. Руководство по биохимии.
13. Ленинджер. Биохимия.
14. Вельтищев. Обмен веществ у детей.

ЗАНЯТИЕ № 13.

Тема: Фармацевтическая биохимия. Биохимия и фармация. Биохимические методы стандартизации контроля качества лекарств и биорегуляторов (гормонов, ферментов и т.д). основные принципы разработки и конструирования систем для биотестирования гормонов. Применение ферментов в медицине и фармацевтической промышленности. Ферментативный анализ биологических субстратов. Ферментативный анализ биологических субстратов. Ферменты как аналитические реагенты. Преимущества иммобилизованных ферментов. Биохимические основы генно-инженерной технологии, ее применение для синтеза инсулина, интерферонов и др. лекарственных средств. Обнаружение пенициллина реакцией с гидроксиамином.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

11. Строение и функционирование белковых каналов
12. Облегченная диффузия веществ.
13. Перенос веществ через мембраны (активный транспорт – первичный активный транспорт, вторичный активный транспорт; пассивный транспорт).
14. Перенос через мембрану макромолекул и частиц (эндоцитоз, экзоцитоз).
15. Трансмембранная передача сигналов.

Студент должен уметь:

5. Интерпретировать роль мембран в регуляции метаболизма, транспорте веществ в клетку и удалении метаболитов.
6. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие выводы.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

1. История открытия мембран, разнообразие мембран.
2. Методы выделения мембран: разрушение клеток, разделение мембран; разделение и анализ липидных компонентов мембран; выделение и модификацию мембраносвязанных компонентов
3. Молекулярная организация биологических мембран.
4. Мембранные липиды: характеристика, строение, функции.
5. Мембранные белки: характеристика, строение, функции.

6. Мембранные углеводы: характеристика, строение, функции.
7. Модели движения мембранных компонентов. Текучесть мембран. Вращение мембранных белков.
8. Латеральная диффузия белков в мембранах.
9. Динамические свойства остова мембранных белков и их боковых цепей.
10. Мембранные белки – ферменты.
11. Взаимодействие низкомолекулярных соединений с мембранами (адсорбция лигандов на бислой; проницаемость липидных мембран для неэлектролитов и ионов; электрические свойства мембран; мембранный потенциал).
12. Биосинтез биологических мембран (биосинтез и распределение мембранных липидов; общие особенности экзоцитозного пути; характерные пути биосинтеза мембранных белков; сборка мультисубъединичных комплексов; обновление компонентов мембран).
13. Модификаторы мембран; искусственные мембраны

Наглядные пособия: *таблицы*

План (хронокарта) занятия.

13. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
14. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
15. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
16. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
17. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
18. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Актуальность темы занятия

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Самостоятельная работа студентов

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

Список используемой литературы

Обязательный:

13. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
14. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.

15. Северин Е.С, Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.

16. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

16. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.

17. Страйер. Руководство по биохимии.

18. Ленинджер. Биохимия.

19. Вельтишев. Обмен веществ у детей.

20. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.

ЗАНЯТИЕ № 14.

Тема: Фармацевтическая биохимия. Биохимические аспекты повышения биодоступности лекарственных препаратов. Липосомы как носители лекарств. Биотрансформация лекарственных веществ в организме. Основные закономерности метаболизма биогенных и синтетических лекарственных средств. Локализация метаболических превращений лекарств в организме. Структурная организация и функциональная роль ЭПР печени в биотрансформации лекарств.. Характеристика реакций конъюгации. Биохимические основы индивидуальной вариабельности метаболизма лекарств. Иммуитет как функция химического гомеостаза. Методы исследования биотрансформации лекарств в организме. Качественные реакции на тетрациклин и кортизол. Обнаружение пиридоксалево́й кислоты в моче.

Цели обучения: дидактические, воспитательные, обучающие.

I. Дидактические:

Студент должен знать:

16. Строение и функционирование белковых каналов

17. Облегченная диффузия веществ.

18. Перенос веществ через мембраны (активный транспорт – первичный активный транспорт, вторичный активный транспорт; пассивный транспорт).

19. Перенос через мембрану макромолекул и частиц (эндоцитоз, экзоцитоз).

20. Трансмембранная передача сигналов.

Студент должен уметь:

7. Интерпретировать роль мембран в регуляции метаболизма, транспорте веществ в клетку и удалении метаболитов.

8. Интерпретировать полученные данные и делать соответствующие ВЫВОДЫ.

II. Воспитательные: воспитывать чувство долга и ответственности, гуманное отношение к людям, формировать качества личности студента

III. Обучающие:

Основные вопросы

14. История открытия мембран, разнообразие мембран.
15. Методы выделения мембран: разрушение клеток, разделение мембран; разделение и анализ липидных компонентов мембран; выделение и модификацию мембраносвязанных компонентов
16. Молекулярная организация биологических мембран.
17. Мембранные липиды: характеристика, строение, функции.
18. Мембранные белки: характеристика, строение, функции.
19. Мембранные углеводы: характеристика, строение, функции.
20. Модели движения мембранных компонентов. Текучесть мембран. Вращение мембранных белков.
21. Латеральная диффузия белков в мембранах.
22. Динамические свойства остова мембранных белков и их боковых цепей.
23. Мембранные белки – ферменты.
24. Взаимодействие низкомолекулярных соединений с мембранами (адсорбция лигандов на бислой; проницаемость липидных мембран для неэлектролитов и ионов; электрические свойства мембран; мембранный потенциал).
25. Биосинтез биологических мембран (биосинтез и распределение мембранных липидов; общие особенности экзоцитозного пути; характерные пути биосинтеза мембранных белков; сборка мультисубъединичных комплексов; обновление компонентов мембран).
26. Модификаторы мембран; искусственные мембраны

Наглядные пособия: таблицы

План (хронокарта) занятия.

19. **Организационная часть** (проверить готовность аудитории к занятию, внешний вид студентов, отметить присутствующих) – 2 мин.
20. **Проверка исходного уровня знаний** (фронтальный опрос студентов по вопросам) – 15 мин.
21. **Разбор основных вопросов темы (актуальность темы)** – 30 мин.
22. **Проверка конечного уровня знаний** – 15 мин.
23. **Проведение лабораторных работ и оформление протоколов** – 15 мин.
24. **Выставление оценок** – 3 мин.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Актуальность темы занятия

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Самостоятельная работа студентов

Задания для внеаудиторной самостоятельной работы студентов

Список используемой литературы

Обязательный:

17. Березов Т.Т. Биохимия., 1998г.
18. Северин Е.С. Биохимия., 2003г.
19. Северин Е.С, Николаев А.Я. Биохимия, практический курс с упражнениями и задачами., 2001г.
20. Методические разработки кафедры биохимии СОГМА для студентов.

Дополнительный:

21. Мак-Мюррей. Обмен веществ у людей.
22. Страйер. Руководство по биохимии.
23. Ленинджер. Биохимия.
24. Вельтищев. Обмен веществ у детей.
25. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.