

**Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова
МЗО Украины
Кафедра биологической и общей химии**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ ДЛЯ
ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

Методические разработки составлены сотрудниками кафедры биологической и общей химии ВНМУ в соответствии с учебным планом, разработанным на основе Европейской кредитно-трансферной системы (ECTS) для высших медицинских учебных заведений Украины III-IV уровней аккредитации для специальностей "Лечебное дело" 7.12010001, "Педиатрия" 7.12010002 направления подготовки 1101 "Медицина" в соответствии с образовательно-квалификационными характеристиками (ОКХ) и образовательно-профессиональными программами (ОПП) подготовки специалистов, утвержденными приказом МОН Украины от 16.04.03 № 239.

Обсуждены и приняты на заседании кафедры биологической и общей химии, протокол № 1 от 21.08.2016 года

Авторы:

Д.мед.н. Заичко Н.В., проф. Луцюк Н.Б., доц. Тертышная Е.В., доц. Мельник А.В., доц. Качула С.А., доц. Ладутько С.В., доц. Лычик Г.З., доц. Истошин В.М., доц. Йолтуховский Н.М., ст.преп. Колошко Е.Н.

Рецензенты:

Заведующий кафедрой патологической физиологии ВНМУ им. Н.И. Пирогова
д.мед.н. Рыкало Н.А.

Профессор кафедры фармакологии ВНМУ им. Н.И. Пирогова
д.мед.н. Волощук Н.И.

ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

Общие закономерности метаболизма

1. Вступительное занятие. Предмет, задачи биохимии. Методы биохимических исследований. Аминокислоты (проверка исходного уровня знаний). Правила техники безопасности
2. Биомолекулы. Простые и сложные белки: строение, классификация, физико-химические свойства, биологическое значение. Уровни структурной организации белков
3. Основные понятия энзимологии. Ферменты: номенклатура и классификация, химическая природа, строение и механизм действия
4. Свойства ферментов. Кинетика и энергетика ферментативных реакций. Принципы определения и единицы ферментативной активности
5. Регуляция ферментативной активности. Активаторы и ингибиторы ферментов
6. Клеточная организация ферментативной активности. Изоферменты, мультиферментные комплексы. Основы медицинской энзимологии
7. Кофакторы: определение, классификация по механизму действия и химической природе. Невитаминные, витаминopodobные и витаминные кофакторы I группы
8. Кофакторы II группы. Коферментные функции водо- и жирорастворимых витаминов
9. Общие пути метаболизма. Окислительное декарбоксилирование пирувата. Цикл трикарбоновых кислот Кребса
10. Биологическое окисление. Тканевое дыхание
11. Окислительное фосфорилирование
12. Итоговое занятие «Общие закономерности метаболизма»
<i>Метаболизм углеводов, липидов и их регуляция</i>
13. Углеводы: определение, классификация, биологическое значение. Пищеварение углеводов в ЖКТ. Пищевые волокна. Качественные реакции на моносахариды
14. Промежуточный обмен углеводов. Анаэробный гликолиз. Спиртовое брожение. Определение пирувата и лактата
15. Аэробное окисление углеводов. Эффект Пастера. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы. Количественное определение глюкозы в моче по Альтгаузену
16. Глюконеогенез. Метаболизм фруктозы и галактозы. Определение фруктозо-1,6-дифосфата
17. Гликогенез и гликогенолиз. Гликогенозы, агликогенозы. Гликоконъюгаты. Гликозидозы (мукополисахаридозы). Поляриметрия. Экспресс-метод определения содержания глюкозы в моче
18. Регуляция и патология углеводного обмена. Количественное определение глюкозы в крови
19. Липиды: определение: классификация, строение, биологическое значение. Биомембраны. Перекисное окисление липидов, каскад арахидоновой кислоты. Определение малонового диальдегида в крови
20. Переваривание липидов в ЖКТ и всасывание продуктов гидролиза. Желчные кислоты. Транспортные формы липидов. Влияние желчи на активность липазы
21. Промежуточный обмен липидов. Липолиз: β -окисление жирных кислот и окисление глицерола. Гормональная регуляция липолиза. Демонстрация кислых свойств жирных кислот. Определение суммы триглицеридов и фосфоглицеридов
22. Липогенез: биосинтез жирных кислот, триглицеридов и фосфоглицеридов. Определение йодного числа жира
23. Метаболизм кетоновых тел. Кетогенные и антикетогенные факторы. Метаболизм сфинголипидов. Сфинголипидозы. Определение содержания кетоновых тел в моче.
24. Холестерол: строение, обмен, норма содержания в крови. Регуляция и патология липидного обмена. Качественное и количественное определение холестерина
25. Итоговое занятие «Метаболизм углеводов, липидов и их регуляция»

Тема 1 «Вступительное занятие. Предмет, задачи биохимии. Методы биохимических исследований. Аминокислоты (проверка исходного уровня знаний). Правила техники безопасности»

1. Актуальность темы: Биохимия – это наука, которая изучает химический состав, обмен веществ и энергии, а также молекулярные основы функционирования живых организмов. Биохимия раскрывает молекулярные механизмы развития патологических состояний, дает возможность патогенетически обосновать выбор методов диагностики и лечения заболеваний, поэтому является теоретической базой для патологической физиологии и клинических дисциплин. Биохимические методы исследования широко используются для диагностики заболеваний, контроля эффективности лечения.

2. Общая цель занятия: объяснить общие требования кафедры, по организации учебного процесса, показать место биохимии среди других медико-биологических дисциплин и ее значение в системе высшего медицинского образования.

3. Конкретные цели: уметь

- анализировать этапы становления биохимии как фундаментальной медико-биологической науки и учебной дисциплины
- трактовать задачи основных разделов биохимии (статической, динамической, функциональной, медицинской и клинической биохимии)
- объяснять методологию биохимических исследований
- объяснять классификацию, структуру, физико-химические свойства аминокислот

4. Литература:

Основная:

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин М.« Биологическая химия», 1998 М., стр. 15-18, 33-43. 1990, стр. 13-15, 28-37.
- 4.2. И.В.Савицкий «Биологическая химия», К., 1982, стр. 5-6.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко «Биохимия», К., 1988, стр.6-12.
- 4.4 Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная:

- 4.5. А. Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985, в 3-х томах
- 4.6. А.М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии, Одесса, 1994, 415 с.

5. Основные вопросы занятия:

1. Организация учебного процесса на кафедре: штаты, учебники, студенческий кружок, виды самостоятельной и научной работы
2. Поведение в учебной биохимической лаборатории и правила техники безопасности
3. Определение биохимии как науки, объекты и задачи биохимии
4. Разделы биохимии, достижения и перспективы
5. Роль биохимии в исследовании молекулярно-генетических механизмов возникновения болезней
6. Аминокислоты - классификация, строение, физико-химические свойства

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Достижения биохимии в XXI веке
2. Место биохимии в системе фундаментальных медико-биологических дисциплин

7. Лабораторная работа: Качественные реакции на белки и аминокислоты

Работа 1. Биуретовая реакция

Принцип. В щелочной среде в присутствии солей меди белок образует окрашенное комплексное соединение. Биуретовая реакция обусловлена наличием в молекуле белка

пептидных групп.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
Определение растворённых пептидов биуретовой реакцией		
1	1% раствор белка	1мл
2	10% раствор NaOH	5 капель
3	1% раствор CuSO ₄	1-2 капли
Регистрация окраски (<i>указать цвет</i>)		

Работа 2. Нингидриновая реакция

Принцип. Реакция обусловлена наличием α -аминогрупп у аминокислот в молекуле белка. При нагревании белка с водным раствором нингидрина аминокислоты окисляются с образованием карбон диоксида, аммиака и соответствующего альдегида. Восстановленный нингидрин конденсируется с аммиаком и молекулой окисленного нингидрина, образуя краситель типа мурексида.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Фильтровальная бумага
Выявление свободных аминокислот нингидриновой реакцией		
1	1% раствор белка	1 капля
Высушивают над электроплиткой		
2	0,1% раствор нингидрина	1 капля
Высушивают над электроплиткой		
Регистрация окраски		

Работа 3. Диазореакция

Принцип. При добавлении к раствору белка диазореактива (сульфаниловая кислота, растворённая в концентрированной хлоридной кислоте) происходит взаимодействие последнего с аминокислотами тирозином, триптофаном, гистидином с образованием окрашенных азосоединений.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1	1% раствор белка	0,5 мл
2	10% раствор натрия карбоната	8 капель
3	Диазосмесь	16 капель
Регистрация окраски через 10 минут		

Работа 4. Реакция Фоля

Принцип. При добавлении к раствору белка, который содержит серосодержащие аминокислоты (цистеин, метионин), гидроксида натрия и свинец (II) ацетата с последующим кипячением, образуется свинец (II) сульфид (PbS), который выпадает в осадок.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1	5% раствор плюмбум(II)ацетата	2 капли
2	30% раствор NaOH	по каплям до полного растворения осадка
3	1% раствор белка	Равный объём
Кипячение на водяной бане (100 °C)		
Регистрация окраски осадка		

Работа 5. Ксантопротеиновая реакция

Принцип. При добавлении к раствору белка, который содержит ароматические аминокислоты (фенилаланин, тирозин, триптофан), концентрированной азотной кислоты образуются нитропроизводных аминокислот, которые в щелочной среде образуют окрашенные соли хиноидной структуры.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1	1% раствор белка	1 мл
2	Концентрированная HNO_3	5 капель
<i>Осторожно</i> нагреть на водяной бане до появления окраски, после чего пробирку охладить		
3	Концентрированный раствор NH_3	10 капель
Регистрация окраски		

Тема 2. «Биомолекулы. Простые и сложные белки: строение, классификация, физико-химические свойства, биологическое значение. Уровни структурной организации белков»

1. Актуальность темы: состав живых организмов существенно отличается от химического состава компонентов неживой природы на Земле, поскольку возникновение жизни было связано с отбором определенных химических элементов. Биомолекулы - соединения, входящие в состав живых организмов и составляют сущность обмена веществ и физиологических функций живых клеток, среди них главными молекулами являются белки.

2. Общая цель занятия: трактовать строение и значение простых и сложных белков живого организма. Знать физико-химические свойства и уровни структурной организации белков

3. Конкретные цели: уметь

- объяснять происхождение основных классов биомолекул
- трактовать строение, физико-химические свойства и биологическое значение простых и сложных белков
- описать уровни структурной организации белков
- пользоваться формулами аминокислот для построения пептидов

4. Литература:

Основная:

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин "Биологическая химия" 1998 М., стр. 19-32, 44-77. 1990, стр. 16-29, 37-76.
- 4.2. И.В.Савицкий "Биологическая химия" 1982, К., стр. 18-36, 98-126, 162-172.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко "Биохимия" 1988, К., стр. 15-34, 42, 55-72, 79-102.
- 4.4 Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная:

- 4.5. А. Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985, в 3-х томах
- 4.6. А.М. Горячковский "Справочное пособие по клинической биохимии, Одесса, 1994, 415 с.

5. Основные вопросы занятия:

1. Особенности химического состава живых организмов
2. Простые и сложные белки: строение, классификация, биологическое значение
3. Физико-химические свойства белков. денатурация белков
4. Уровни структурной организации белковой молекулы

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Современные теории происхождения биомолекул
2. Нуклео- и хромопротеины: строение, биологическое значение

7. Лабораторная работа: «Реакции осаждения белков»

Работа 1. Осаждение белков при нагревании

Принцип. Почти все белки денатурируют при нагревании до 56° С и выше. Механизм тепловой денатурации связан с изменением структуры белковой молекулы, в результате чего белок теряет свои нативные свойства, уменьшается его растворимость и разрушается гидратная оболочка. Наиболее полное и быстрое осаждение проходит в изоэлектрической точке белка, т.е. при значении рН, когда коллоидные частицы белка являются электронейтральной и наименее устойчивыми. Для большинства белков изоэлектрическая точка находится в слабо кислой среде. В сильно кислых растворах (за исключением растворов азотной, трихлорацетатной кислот) при нагревании белок не выпадает в осадок, потому что частицы белка перезаряжаются (или усиливается существующий заряд), что повышает их устойчивость в растворе. Но белки могут осаждаться в сильно кислых растворах при нагревании, если добавить достаточное количество любой нейтральной соли - электролита. Ионы соли адсорбируются на частицах белка и нейтрализуют заряд, поэтому белок выпадает в осадок.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка				
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
1	1% раствор белка, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
2	3% раствор ацетатной кислоты, капли	-	2	-	-	-
3	10% раствор ацетатной кислоты, капли	-	-	3	3	-
4	NaCl, кристаллики	-	-	-	Несколько	-
5	10% раствор NaOH, капли	-	-	-	-	3
Содержимое всех пробирок кипятят на водяной бане (100°С)						
Регистрация наличия осадка (+ или -)						

Работа 2. Осаждение белков солями тяжелых металлов

Принцип. При действии солей тяжелых металлов на растворы белка происходит денатурация белковой молекулы, что обусловлено адсорбцией тяжелого металла на поверхности белковой молекулы с образованием нерастворимых комплексов.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка		
		№ 1	№ 2	№ 3
1	1% раствор белка, мл	1	1	1
2	10% раствор аргентум (I) нитрата, капли	2	-	-
3	5% раствор плюмбум (II) ацетата, капли	-	2	-
4	5% раствор купрум (II) сульфата, капли	-	-	2
Регистрация наличия осадка				

Работа 3. Осаждение белков реактивами на алкалоиды

Принцип. Осаждения белков реактивами на алкалоиды обусловлено наличием в молекуле белка гетероциклических групп, аналогичных тем, которые находятся в молекуле алкалоидов (пирольных, индольных, имидазольных и других). Более полное осаждение

наблюдается при перезарядке белковой молекулы на положительный заряд (подкисление), что облегчает взаимодействие белка с отрицательно заряженными ионами осаждающего вещества. На этом методе основано применения танина и других алкалоидов качестве вяжущих средств в клинической практике.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка		
		№ 1	№ 2	№ 3
Осаждение белков реактивами на алкалоиды				
1	1% раствор белка, мл	1,0	1,0	1,0
2	2% раствор ацетатной кислоты, капли	2	2	2
3	5% раствор танина, капли	3	-	-
4	10% раствор пикриновой кислоты, капли	-	5	-
5	5% раствор железосинеродистого калия, капли	-	-	3
Регистрация наличия осадка				

Работа 4. Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами

Принцип. Осаждения белка концентрированными минеральными кислотами (кроме фосфатной кислоты) происходит в результате дегидратации белковых частиц и нейтрализации их зарядов. *Эта реакция лежит в основе определения белка в моче методом Стольникова*

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1.	Концентрированная HNO_3 , капли	16
2.	1% раствор белка (<i>наслаивать по стенке пробирки под углом 45°</i>), капли	8-10
Регистрация наличия осадка		

Работа 5. Осаждение белков органическими кислотами

Принцип. Белки из раствора могут осаждаться органическими кислотами, однако различные органические кислоты действуют по-разному. Механизм осаждения белков органическими кислотами объясняется дегидратацией белковой молекулы и нейтрализацией заряда.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1	№ 2
1	1% раствор белка, мл	1,0	1,0
2	10% раствор трихлорацетатной кислоты, капли	3	-
3	10% раствор сульфосалициловой кислоты, капли	-	3
Регистрация наличия осадка			

Работа 6. Высаливание белков

Принцип. Высаливанием называется процесс осаждения белков из их водных растворов нейтральными растворами концентрированных солей щелочных и щелочноземельных металлов: натрий сульфатом, аммоний сульфатом, магний сульфатом, натрий хлоридом и др. При добавлении достаточно больших количеств этих солей к раствору белка происходит дегидратация белковой молекулы и нейтрализация заряда. Высаливания белков является обратным процессом: после удаления соли путем диализа или разведенным водой белок снова растворяется и восстанавливает нативные свойства. Этот метод применяется для разделения белков биологических жидкостей.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
---	---	----------

1	1% раствор белка, мл	1,0
2	80% раствор аммоний сульфата, капли	3
Регистрация наличия осадка		
3	H ₂ O, мл	4,0
Регистрация исчезновения осадка		

Работа 7. Осаждение белков органическими растворителями

Принцип. Белки осаждаются во многих органических растворителях (спирт, ацетон, эфир). Органические растворители дегидратируют частицы белка и тем самым снижают их устойчивость в растворе. Кратковременное воздействие органического растворителя сохраняет белок в его естественном состоянии, длительная - ведет к денатурации белка.

Ход работы (алгоритм приведен в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1.	1% раствор белка, капли	5
2.	Раствор C ₂ H ₅ OH, мл	1,0
Регистрация наличия осадка		

Тема 3: «Основные понятия энзимологии. Ферменты: номенклатура и классификация, химическая природа, строение и механизм действия»

1. Актуальность темы: ферменты (энзимы) – это высокоспециализированный класс веществ белковой природы или фрагменты РНК (рибозимы), которые используются организмами для ускорения практически всех реакций синтеза, распада и взаимопревращения химических соединений. В 1961г. Международным союзом биохимии и молекулярной биологии все ферменты были разделены на 6 классов по типу химических реакций, что облегчило понимание механизма действия различных ферментов. По химической природе ферменты являются преимущественно белками и поэтому имеют высокую молекулярную массу, способны к диализу, проявляют амфотерные свойства, электрофоретическую подвижность, подлежат денатурации под действием физических и химических факторов. Важным доказательством белковой природы ферментов является выделение их в кристаллической форме. По строению ферменты подразделяются на простые (состоят только из аминокислот) и сложные (содержащие белковую часть - апофермент и небелковой части - кофактор). Фермент взаимодействует с химическими соединениями (субстратами) определенным участком - активным центром, в котором выделяют каталитический участок (где происходит акт катализа) и контактный (где фермент связывается с субстратом). У некоторых (аллостерических = регуляторных) ферментов могут быть аллостерические (регуляторные) центры, на которые действуют различные регуляторы (аллостерические эффекторы) и изменяют активность ферментов. Механизм действия ферментов состоит в специфическом взаимодействии активного центра фермента с субстратом, образованием фермент-субстратных комплексов и последующим высвобождением продуктов реакции.

2. Общая цель занятия: уметь использовать знания о классификации ферментов, их химической природе и строении для обоснования механизма действия и понимания роли ферментов в обеспечении жизнедеятельности организма.

3. Конкретные цели: знать

- основные понятия энзимологии (фермент, субстрат, продукт реакции)
- роль ферментов в процессах жизнедеятельности
- принципы номенклатуры и классификации ферментов по типу химической реакции
- химическую природу и строение ферментов
- механизм действия ферментов

4. Литература:

Основная:

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин “Биологическая химия”, 1990, М., стр. 92-108, 112-115, 126-129. 1983 стр. 114-119,141-148, 161-165.
- 4.2. И.В.Савицкий “Биологическая химия” 1982, К., стр. 256-257, 270-272, 277-284.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко “Биохимия” 1988, К., стр. 128-130,135-138,163-166.
- 4.4. Лекции, читаемые на кафедре.

Дополнительная:

- 4.5. Е.С. Северин «Биохимия», Москва, 2006, 747 с.
- 4.6. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М., Мир, 1985, в 3-х томах.
- 4.7. Д. Мецлер « Биохимия», М., Мир, 1980, в 3-х томах

5. Основные вопросы темы:

1. Понятие о ферментах, субстраты, продукты реакции. Биологическое значение ферментов
2. Номенклатура и классификация ферментов
3. Химическая природа ферментов и ее доказательства
4. Строение ферментов (простых и сложных)
5. Активный центр ферментов: определение, строение, структурные участки и их функции
6. Аллостерические центры: определение, строение, пространственное расположение и функции Понятие аллостерический эффект и регуляторные ферменты
7. Механизм действия ферментов: основные этапы

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. История развития ферментологии.
2. Механизм действия ферментов трипсина и холинэстеразы.

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Фермент производит перенос структурного фрагмента одного субстрата на другой с образованием двух продуктов. Назовите класс этого фермента:
 - А. изомеразы
 - В. оксидоредуктазы
 - С. лигазы
 - Д. трансферазы
 - Е. гидролазы
2. Фермент L-глутамат: аммиак-лигаза, что катализирует образование глутамина, относится к классу:
 - А. трансфераз
 - В. синтетаз
 - С. изомераз
 - Д. оксидоредуктаз
 - Е. гидролаз
3. Ферменты, участвующие в синтезе веществ с использованием энергии, относятся к классу:
 - А. оксидоредуктаз
 - В. трасфераз
 - С. гидролаз
 - Д. лигаз
 - Е. лиаз

4. Фермент гистидиндекарбоксилаза, что катализирует превращение гистидина в вазоактивный медиатор гистамин, относится к классу:

- А. лиаз
- В. оксидоредуктаз
- С. трансфераз
- Д. гидролаз
- Е. изомераз

7. Лабораторная работа: Открытие действия ферментов пепсина и липазы

Работа №1. Открытие действия фермента пепсина

Принцип. Пепсин является протеазой, что гидролизует белки до пептидов. Протеолитическую активность пепсина определяют по его способности расщеплять пептидные связи фибрина в кислой среде. При этом нерастворимый в воде фибрин гидролизуется до растворимых пептидов, которые выявляются биуретовой реакцией.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1 (контроль)	№ 2 (опыт)
1 этап. Протеолиз фибрина под действием пепсина			
1	Фибрин (маленький кусочек)	добавить	добавить
2	Раствор пепсина 0,2% в 0,2% HCl	-	1 мл
3	Дистиллированная вода	1 мл	-
Инкубация пробирок в термостате при 38-40 °С в течение 30 мин			
2 этап. Выявление растворённых пептидов биуретовой реакцией			
4	Раствор NaOH 10%	5 капель	5 капель
5	Раствор CuSO ₄ 1%	1-2 капли	1-2 капли
Регистрация окраски			

Работа 2. Открытие действия фермента липазы (3.1.1.3)

Принцип. Липаза является гидролазой, расщепляющей сложнэфирные связи триглицеридов до глицерола и свободных жирных кислот в щелочной среде. Эстеразную активность липазы можно обнаружить с накоплением продуктов гидролиза жиров молока - жирных кислот, которые смещают рН в кислую сторону. При этом бледно-розовый цвет индикатора фенолфталеина (щелочная среда) постепенно исчезает (кислая среда).

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1 (контроль)	№ 2 (опыт)
Гидролиз жира молока под действием липазы			
1	Молоко	10 капель	10 капель
2	Раствор панкератина (липаза) 3%	-	5 капель
3	Дистиллированная вода	5 капель	-
4	Раствор фенолфталеина 1%	1 капля	1 капля
5	Раствор Na ₂ CO ₃ 1% Внимание! Не добавлять избыток Na₂CO₃	по каплям до появления бледно-розовой окраски	по каплям до появления бледно-розовой окраски
Инкубация пробирок в термостате при 38-40 °С в течение 30 мин			
Регистрация окраски			

Тема 4: «Свойства ферментов. Кинетика и энергетика ферментативных реакций. Принципы определения и единицы ферментативной активности»

1. Актуальность темы: в отличие от неорганических катализаторов ферменты проявляют высокую каталитическую активность при температуре 38-40°C (в диапазоне температуры тела) и в пределах нейтральных значений рН среды (в диапазоне внутриклеточных значений рН). Ферменты отличаются высокой специфичностью (избирательностью) действия в отношении химической природы субстрата. Некоторые из них способны катализировать превращение только одного химического вещества (абсолютная специфичность) и определенных стереоизомеров (стереоструктурная специфичность), тогда как большинство ферментов катализируют превращение определенных групп веществ с одинаковым типом химических связей (относительная специфичность). Отличием ферментов от неорганических катализаторов есть зависимость их активности от ряда факторов, которые изучает ферментативная кинетика. Активность ферментативной реакции зависит от химической природы реагирующих веществ (фермента, субстратов), и условий их взаимодействия (концентрации, рН среды, температуры, наличия активаторов и ингибиторов). Активность ферментов можно определить по скорости исчезновения субстратов или накопления продуктов в ходе реакции (при оптимальных условиях их действия).

2. Общая цель занятия: уметь объяснять основные свойства ферментов, кинетику и энергетику ферментативных реакций, применять эти знания для объяснения роли ферментов в обеспечении жизнедеятельности организма и биомедицинской практике.

3. Конкретные цели: знать

- отличия ферментов от небиологических катализаторов
- свойства ферментов как биокатализаторов, условия их действия
- особенности кинетики и энергетики ферментативных реакций
- принципы и единицы определения ферментативной активности

4. Литература:

Основная

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин “Биологическая химия”, 1990, М., стр. 108-115, 124-125. 1983 стр.119-129, 158-159.
- 4.2. И.В.Савицкий “Биологическая химия” 1982, К., стр.257-259, 269, 273-277.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко “Биохимия” 1988, К., стр.1 30-134,153-161.
- 4.4 Лекции, читаемые на кафедре.

Дополнительная

- 4.5. Ж. Крю «Биохимия», М. Мир, 1979.
- 4.6. Д. Мецлер «Биохимия», М., Мир, 1980, в 3-х томах.
- 4.7. Е.С. Северин «Биохимия», Москва, 2006, 747 с.

5. Основные вопросы темы:

1. Свойства ферментов как биокатализаторов: специфичность действия, ее виды; термоллабильность, зависимость активности от рН среды.
2. Понятие о кинетике ферментативных реакций (зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, фермента, константы Михаэлиса).
3. Понятие об энергетике ферментативных реакций (энергетический барьер и энергия активации).
4. Принципы определения и единицы ферментативной активности.

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Свойства ферментов совместные с небиологическими катализаторами
2. Методы определения константы Михаэлиса. График зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в обратных координатах Лайнуивера-Берка.

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Оптимум pH для действия пепсина:
 - A. 2-3
 - B. 3-4
 - C. 1-2
 - D. 4-5
 - E. 6-8
2. Абсолютная специфичность свойственна ферменту:
 - A. амилазе
 - B. пепсину
 - C. уреазе
 - D. алкогольдегидрогеназе
 - E. фосфатазе
3. Из приведенных утверждений верно:
 - A. Km не зависит от pH, температуры и ионной силы ферментативной реакции
 - B. Vmax не зависит от концентрации фермента
 - C. Km зависит от концентрации фермента
 - D. Km равна концентрации субстрата, при которой скорость ферментативной реакции составляет половину от Vmax
 - E. Km равна концентрации субстрата, при которой скорость ферментативной реакции является максимальной

8. Лабораторная работа: Свойства ферментов (специфичность действия, зависимость ферментативной активности от pH среды и температуры - термолабильность)

8.1. Специфичность действия ферментов

Принцип. Амилаза (3.2.1.1.) слюны ускоряет гидролиз только полисахаридов (крахмала), не влияет на дисахариды. Сахараза (3.2.1.26.), содержащаяся в дрожжевом экстракте, расщепляет только сахарозу. Продуктами гидролиза поли- и дисахаридов являются моносахариды, в частности, глюкоза, которая может быть открыта реакцией Троммера. Положительная реакция Троммера свидетельствует о полном гидролизе крахмала и сахарозы под действием соответствующих ферментов. Положительная реакция с йодом указывает на отсутствие гидролиза крахмала.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

Реактивы, последовательность добавления	Пробирки							
	№1		№2		№3		№4	
1% раствор крахмала, мл	5,0		5,0		-		-	
2% раствор сахарозы, мл	-		-		5,0		5,0	
Слюна, мл	1,0		-		1,0		-	
Экстракт дрожжей, мл	-		1,0		-		1,0	
Инкубация пробирок в термостате при 38-40°C в течение 20 мин								
Содержимое каждой пробирки делят на две части								
	№1	№1a	№2	№2a	№3	№3a	№4	№4a
Раствор йода, капли	1		1		1		1	
Реакция з йодом (“+”или “-“)								
10% раствор NaOH, капли		10		10		10		10
1% раствор CuSO ₄ , капли		3		3		3		3
Реакция Троммера (“+”или“-“)								

8.2. Зависимость ферментативной активности от температуры

Принцип. Температура, при которой наблюдается максимальная скорость ферментативной реакции, называется оптимальной и чаще равна 37-40° С. При повышении температуры скорость большинства ферментативных процессов начинает уменьшаться. Это объясняется тепловой денатурацией белковой молекулы фермента и потерей каталитической активности.

Ход работы.

Реактивы, последовательность добавления	Пробирки	
	№1	№2
Слюна	0,2 мл	0,2 мл
Кипячение на водяной бане в течение 5 мин	-	+
Крахмал, 1% раствор	1 мл	1 мл
Инкубация пробирок в термостате при 37 °С в течение 10 хв		
Раствор йода, капли	1	1
Регистрация окраски		

8.3. Влияние рН среды на активность ферментов

Принцип. Влияние рН на активность ферментов объясняется тем, что белковая молекула фермента является амфотерным полиэлектролитом и его каталитическая активность зависит от степени ионизации функциональных групп, которые входят в его активный центр. Смещение рН от оптимума нарушает связь между белковой частью ферментов и их простетическими группами, тормозит связь субстрата с ферментом. рН среды, при которой активность фермента является максимальной, называют рН-оптимум.

Ход работы.

Реактивы, последовательность добавления	Пробирки		
	№1	№2	№3
Крахмал, 0,5% раствор, мл	5,0	5,0	5,0
Фосфатный буфер, рН 5,6, мл	1,0		
Фосфатный буфер, рН 6,8, мл		1,0	
Фосфатный буфер, рН 8,1, мл			1,0
Слюна (амилаза), мл	1,0	1,0	1,0
Инкубация пробирок в термостате 37°С в течение 20 мин			
Раствор йода, капли	1	1	1
Регистрация окраски			

Тема 5: «Регуляция ферментативной активности. Активаторы и ингибиторы ферментов»

1. Актуальность темы: на активность ферментов значительно влияет наличие в среде активаторов (веществ, увеличивающих скорость реакции) и ингибиторов (веществ, тормозящих скорость реакции). По механизму действия ингибиторы ферментов подразделяются на неконкурентные и конкурентные. Последние широко используются в качестве лекарственных препаратов (сульфаниламиды, прозерин, непрямые антикоагулянты и др.). Ферментативная активность регулируется также концентрацией субстрата и фермента, с помощью химических модификаций молекул ферментов, а также на генетическом уровне (за счет изменения количества молекул ферментов).

2. Общая цель занятия: усвоить закономерности влияния активаторов, ингибиторов и

других факторов на скорость ферментативных реакций

3. Конкретные цели: знать

- классификацию и принципы действия активаторов ферментов
- типы торможения ферментативных реакций
- классификацию и принципы действия ингибиторов ферментов
- использование ингибиторов ферментов в медицинской практике
- виды регуляции ферментативной активности

4. Литература:

Основная:

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин “Биологическая химия”, М. 1990.- стр. 115-124. 1983.- стр.137-141.
- 4.2. И.В.Савицкий “Биологическая химия” 1982, К., стр. 257-259, 269, 273-277.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко “Биохимия” 1988, К., стр.130-134,153-161.
- 4.4. Лекции, читаемые на кафедре.

Дополнительная:

- 4.5. А.Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985 г., в 3-х томах.
- 4.6. А.М.Горячковский «Справочное пособие по клинической биохимии», Одесса, 1994 г., 415с.
- 4.7. Е.С.Северин «Биохимия», Москва, 2006 г., 747с

5. Основные вопросы темы

1. Активаторы ферментов: определение, представители, механизм действия.
2. Типы торможения ферментативных реакций. Ингибиторы ферментов: определение, представители, механизм действия.
3. Использование ингибиторов ферментов в медицинской практике.
4. Принципы и виды регуляции активности ферментов.

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Влияние конкурентных и неконкурентных ингибиторов на кинетику ферментативных реакций.

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1».

1. Цианиды блокируют действие цитохромоксидазы, соединяясь с ионами железа, входящими в активный центр фермента. Какой вид торможения (ингибирования) имеет место?
 - A. Конкурентное
 - B. Аллостерическое
 - C. Неконкурентное
 - D. Обратное
 - E. Бесконкурентное
2. В среду, содержащую сукцинат и фермент сукцинатдегидрогеназу (СДГ), добавили ингибитор малонат. При увеличении концентрации субстрата активность фермента возобновилась. Назовите тип ингибирования:
 - A. Аллостерическое
 - B. Необратимое
 - C. Обратимое неконкурентное
 - D. Обратное
 - E. Обратимое конкурентное
3. Одним из путей регуляции активности ферментов в организме человека является их ковалентная модификация. Какой вариант ковалентной модификации имеет место при регуляции активности ферментов гликогенфосфоорилазы и гликогенсинтетазы?
 - A. АДФ-рибозилирование

- В. Метилирование
- С. Фосфорилирование-дефосфорилирование
- Д. Гидролиз
- Е. Сульфирование

4. Препараты ртути, мышьяка, висмута являются ингибиторами ферментов, имеющих тиоловые группы (SH-группы) в активных центрах. Какую аминокислоту используют для реактивации этих ферментов?

- А. Глицин
- В. Валин
- С. Цистеин
- Д. Глутамат
- Е. Серин

5. Пациенту для снижения артериального давления назначен каптоприл - ингибитор АПФ, который превращает ангиотензин I в ангиотензин II (профермент в фермент) путем:

- А. Метилирования
- В. Фосфорилирования
- С. Дезаминирования
- Д. Ограниченного протеолиза
- Е. Декарбоксилирования

8. Лабораторная работа: Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы слюны

Принцип. Влияние натрия хлорида (NaCl) и меди (II) сульфата (CuSO₄) на активность амилазы слюны определяется по изменению скорости гидролиза крахмала под действием фермента. Скорость исчезновения субстрата (крахмала) из среды оценивали по реакции с йодом.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

Реактивы, последовательность добавления	Пробирки		
	№1	№2	№3
Вода, мл	1,0	-	-
NaCl, 1% раствор, мл	-	1,0	-
CuSO ₄ , 1% раствор, мл	-	-	1,0
Слюна, мл	1,0	1,0	1,0
Крахмал, 1% раствор, мл	1,0	1,0	1,0
Раствор йода, капли	1	1	1
Регистрация окраски			

Тема 6: «Клеточная организация ферментативной активности. Изоферменты, мультиферментные комплексы. Основы медицинской энзимологии»

1. Актуальность темы: главным признаком живых организмов является постоянный обмен веществ, происходящий при участии ферментов. Наследственные пороки обмена веществ являются результатом дефектов генов, отвечающих за синтез определенных белков-ферментов. Нарушения метаболизма в некоторых случаях проявляются возникновением тяжелых энзимопатий. Определение активности ферментов в биожидкостях организма позволяет провести диагностику различных болезней. Ферменты широко используются в качестве лекарственных средств. Это подчеркивает необходимость знаний медицинской энзимологии для врача.

2. Общая цель занятия: уметь использовать сведения о ферментах для диагностики заболеваний, энзимотерапии и раскрытия механизмов развития энзимопатий.

3. Конкретные цели: знать

- клеточную организацию ферментативной активности в соответствии с функций органелл
- устройство изоферментов и мультиферментов, примеры, их роль в обмене веществ
- диагностическую ценность определения спектра изоферментов в дифференцировке заболеваний
- причины возникновения молекулярных (наследственных) болезней - энзимопатий
- нормальные показатели активности некоторых ферментов и их изменения при заболеваниях (энзимодиагностика)
- принципы использования ферментов, коферментов и ингибиторов в качестве лекарственных препаратов (энзимотерапия)

4. Литература:

Основная

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин “Биологическая химия”, 1990, М., стр.102-104, 126, 129-132.1983г. стр. 129-132,165-167.
- 4.2. И.В.Савицкий “Биологическая химия” 1982, К., стр.284-285,297-306.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко “Биохимия” 1988, К., стр.132-134.
- 4.4. Лекции, читаемые на кафедре.

Дополнительная

- 4.5. А. Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985 г., в 3-х томах.
- 4.6. А.М. Горячковский «Справочное пособие по клинической биохимии», Одесса, 1994 г., 415с.
- 4.7. Е.С. Северин «Биохимия», Москва, 2006 р., 747с

5. Основные вопросы темы:

1. Клеточная организация ферментов в зависимости от характеристик органелл, мембранозависимых ферментов
2. Изоферменты, определения, строение, примеры. Клиническое значение определения изоферментов в крови
3. Мультиферменты, определения, строение, примеры, значение. полиферментные системы
4. Медицинская энзимология, определения, направления: энзимопатология, энзимодиагностики, энзимотерапия

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Подготовить реферат на тему: «Основные направления медицинской энзимологии».

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1».

1. У мужчины 50-ти лет, долгое время злоупотреблявшего алкоголем, возникла сильная боль в животе. Врач заподозрил острый панкреатит. Увеличение активности какого фермента в крови подтвердит этот диагноз?
 - А. Трансаминазы
 - В. Амилазы
 - С. Липазы
 - Д. Лактатдегидрогеназы
 - Е. Креатинфосфкиназы
2. Во время питания новорожденного ребенка молоком матери появились рвота, метеоризм, понос. О наследственной недостаточность которого фермента следует думать?

- A. Лактазы
- B. Мальтазы
- C. Изомеразы
- D. Олиго-1,6-гликозидазы
- E. Пепсина

3. Изоферменты широко используют в диагностике заболеваний. Так, при инфаркте миокарда анализируют изоферментный состав:

- A. Аланинаминотрансферазы
- B. Аспаргатаминотрансферазы
- C. Лактатдегидрогеназы
- D. Малатдегидрогеназы
- E. Протеинкиназы

4. Из гомогенатов тканей выделены ферментные белки, катализирующие взаимное превращение лактата и пирувата. Белки отличаются по электрофоретической подвижности и молекулярной массе. Такие ферменты называют:

- A. Кофакторы
- B. Холоферменты
- C. Коферменты
- D. Изоферменты
- E. Проферменты

5. Назовите фермент из перечисленных, относящийся к мультиферментному комплексу:

- A. Малатдегидрогеназа
- B. Пируватдекарбоксилаза
- C. Лактатдегидрогеназа
- D. Пируватдегидрогеназа
- E. Алкогольдегидрогеназа

8. Лабораторная работа: Определение активности амилазы в моче методом Вольгемута

Принцип. Метод количественного определения активности амилазы мочи по методу Вольгемута заключается в том, что находят наименьшее количество фермента, которое полностью расщепляет всю количество добавленного крахмала. Для этого сначала проводят пошаговое разведение мочи, а после проведения реакции рассчитывают активность амилазы в 1 мл цельной мочи. Амилазная активность мочи в норме колеблется от 16 до 64 единиц.

Ход работы. В 7 пробирок наливают по 1 мл 0,85% раствора натрия хлорида. В первую пробирку наливают 1 мл исследуемой мочи, перемешивают, 1 мл смеси переносят в 2 пробирку, со второй пробирки 1 мл смесь переносят в 3-ю пробирку и т.д. Из седьмой пробирки 1 мл смеси выливают. В каждую пробирку наливают по 2 мл 0,1% раствора крахмала, перемешивают и ставят на 30 минут в термостат при температуре 38°C, после чего добавляют в каждую пробирку по 1 капли раствора йода. Определяют разведение мочи (P) в последней пробирке с желтой окраской.

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7
Разведение мочи	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Окраска после добавления йода							

Активность амилазы рассчитывают по формуле $A = 2 \times P$, где 2 - количество 0,1% раствора крахмала в мл, используемый в опыте. Пример расчета: если последняя пробирка, в которой появилось желтое окрашивание - третья, то разведение мочи в ней равняется 1:8, а активность амилазы $A = 2 \times 8 = 16$.

Расчёт:

$$A = 2 \times P =$$

Тема 7: «Кофакторы: определение, классификация по механизму действия и

химической природе. Невитаминные, витаминоподобные и витаминные кофакторы I группы»

1. Актуальность темы: Большинство ферментов является двухкомпонентными, то есть состоят из белковой части (апофермента) и небелковой части - кофактора. Апофермент отвечает за специфичность действия фермента, а кофакторы входят в состав каталитического активного центра и непосредственно участвуют в превращении субстратов (катализе). В зависимости от вида связи с апоферментом кофакторы делятся на коферменты (нековалентно связаны с белковой частью) и простетические группы (крепко, ковалентно связанные с белковой частью). По химической природе кофакторы классифицируют на витаминные, витаминоподобные и невитаминные. По механизму действия кофакторы делятся на 2 группы: I) переносчики электронов, протонов и атомов водорода; II) переносчики отдельных химических групп атомов. Кофакторы I группы обеспечивают деятельность оксидоредуктаз (КФ1) и широко применяются в практической медицине как лекарственные препараты для улучшения тканевого дыхания и других окислительно-восстановительных процессов.

2. Общая цель занятия: знать строение сложных ферментов и роль кофакторов в их функционировании; усвоить структуру кофакторов I группы, их участие в окислительно-восстановительных процессах в организме и направления биомедицинского применения.

3. Конкретные цели: знать:

- структуру сложных ферментов, роль апофермента и кофактора в их функционировании
- классификации кофакторов по химической природе и механизму действия
- устройство и механизм действия представителей кофакторов I группы - переносчиков электронов, протонов и атомов водорода.

4. Литература:

Основная:

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин "Биологическая химия", 1990, М., стр.97-98, 149-152, 162, 166, 167. 1983 г., стр. 122-124.
- 4.2. И.В.Савицкий "Биологическая химия" 1982, К., стр. 259-264.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко "Биохимия" 1988, К., стр. 166-169.
- 4.4. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная:

- 4.5. А. Ленинджер "Основы биохимии", М., Мир, 1985 г., в 3-х томах.
- 4.6. А.М. Горячковский "Справочное пособие по клинической биохимии", Одесса, 1994 г.
- 4.7. Ж. Крю "Биохимия", М., Мир, 1979 г.
- 4.8. Д. Мецлер «Биохимия», М., Мир, 1980 г., в 3-х томах

5. Основные вопросы темы:

1. Структура сложных ферментов
2. Роль апофермента и кофактора в биологическом катализе
3. Классификация кофакторов: по механизму действия; по химической природе
4. Структура и биологическое значение невитаминных кофакторов I группы: гема, глутатиона
5. Структура и биологическое значение витаминоподобным кофакторов I группы: убихинона, липоевой кислоты, тетрагидробиоптерина (ТГБП), хиноновых коферментов
6. Структура и биологическое значение витаминных кофакторов I группы: никотинамидных (НАД, НАДФ), флавиновых (ФМН, ФАД), 5-дезоксадеозилкобаламина, аскорбиновой кислоты и токоферола

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Применение коферментов I группы в практической медицине

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

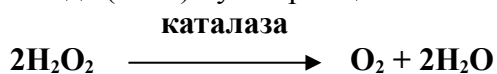
Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Гиповитаминоз С приводит к уменьшению образования органического матрикса, задержке процессов реминерализации, нарушение синтеза коллагена, так как этот витамин как кофактор участвует в процессах:
 - А. Трансаминирования аланина и аспартата
 - В. Карбоксилирования пролина и лизина
 - С. Дезаминирования глутамата и аспартата
 - Д. Гидроксилирования пролина и лизина
 - Е. Аминирования лизина и пролина
2. У экспериментальных животных из питания исключили липоевую кислоту, при этом у них наблюдалось торможение пируватдегидрогеназного мультиферментного комплекса. Липоевая кислота для этого фермента является:
 - А. Продуктом
 - В. Субстратом
 - С. Ингибитором
 - Д. Аллостерическим регулятором
 - Е. Коферментом
3. При малярии назначают препараты - структурные аналоги витамина В2 (рибофлавина). Нарушение синтеза каких ферментов вызывают эти препараты?
 - А. Пептидаз
 - В. Цитохромоксидаз
 - С. ФАД-зависимых дегидрогеназ
 - Д. НАД-зависимых дегидрогеназ
 - Е. Аминотрансфераз

8. Лабораторная работа: Количественное определение активности каталазы. Качественные реакции на витамин С.

1. Количественное определение активности каталазы (1.11.1.6) крови по методу Баха и Зубковой

Принцип. Фермент каталаза в большом количестве содержится в эритроцитах и в других тканях и жидкостях организма. Биологическая роль каталазы заключается в обезвреживании водород пероксида (H_2O_2) путем расщепления его на молекулярный кислород и воду:



Активность фермента выражают каталазной числом и показателем каталазы.

Каталазное число (КЧ) - это количество мг H_2O_2 , которое разлагает 1 мкл крови за определенный промежуток времени. Количество разложившегося H_2O_2 , определяют по разнице между объемами калий перманганата, затраченными на титрование контрольной и опытной проб.

Показатель каталазы - это отношение каталазного числа к числу миллионов эритроцитов в 1 мкл исследуемой крови.

Ход работы.

1 этап готовят лаборанты: в мерную колбу на 100 мл наливают 10 мл дистиллированной воды, вносят микропипеткой 0,1 мл крови. Пипетку промывают несколько раз этим же раствором. Воду доливают до метки 100 мл и получают основной раствор крови (1:1000), который используют для определения каталазного числа.

2 этап выполняют студенты:

№	Реактивы, последовательность	Колбы
---	------------------------------	-------

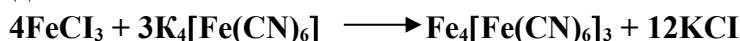
	добавления	№ 1 (контроль)	№ 2 (опыт)
1	Дистиллированная вода, мл	7,0	7,0
2	Основной раствор крови, мл	1,0	1,0
3	1% раствор гидроген пероксида, мл	2,0	2,0
4	10% раствор H ₂ SO ₄ , мл	3,0	-
Инкубация при комнатной температуре в течение 30 мин.			
5	10% раствор H ₂ SO ₄ , мл	-	3,0
Титруют содержимое обеих колб 0,1М раствором калий перманганата до появления розовой окраски			
6	Отметить объём раствора калий перманганата, который пошёл на титрование, мл	V ₁ =	V ₂ =

Расчёт: КЧ = 1,7·(V₁ - V₂), где 1,7 – количество мг H₂O₂, что содержится в 1 мл 0,1М раствора. В норме КЧ составляет 10 - 15 единиц.

$$\text{КЧ} = 1,7 \cdot (V_1 - V_2) =$$

2. Реакция на витамин С

Принцип. Аскорбиновая кислота в щелочной среде восстанавливает калий гексациано(III)феррат (красную кровяную соль K₃[Fe(CN)₆]) до калий гексациано(II)феррата (жёлтой кровяной соли K₄[Fe(CN)₆]); последнюю определяют раствором феррум (III) хлорида.



Ход работы:

№	Реактивы, последовательность добавления	Опытная пробирка
1	1% раствор витамина С	5 капель
2	10% раствор NaOH	1 капля
3	5% раствор калий гексациано(III)феррата	1 капля
4	10% раствор HCl	3 капли
5	1% раствор FeCl ₃	1 капля
6	Перемешивают, появляется осадок, наблюдают за изменением окраски	

3. Йодная проба на аскорбиновую кислоту

Принцип. Аскорбиновая кислота восстанавливает молекулярный йод до йодоводородной кислоты.

Ход работы:

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирки	
		№ 1 (контроль)	№ 2 (опыт)
1	Дистиллированная вода	10 капель	10 капель
2	0,1% раствора йода в калий йодиде	2 капли	2 капли
3	Дистиллированная вода	10 капель	-
4	Экстракт шиповника	-	10 капель
Перемешивают, появляется осадок, наблюдают за изменением окраски в обеих пробирках			

Тема 8 «Кофакторы II группы. Коферментные функции водо- и жирорастворимых витаминов»

1. Актуальность темы: Кофакторы II группы являются переносчиками отдельных химических групп. Они классифицируются по химической природе на невитаминные, витаминоподобные и витаминные (последних среди коферментов больше всего). Необходимость знаний коферментных функций витаминов имеет значение для медицины, поскольку практически все они используются в качестве лекарственных средств.

2. Общая цель: уметь применить знания о структуре и функциях кофакторов II группы для раскрытия механизмов действия ферментов и лекарственных средств на основе этих

кофакторов.

3. Конкретные цели: знать

- структуру и механизм действия основных представителей кофакторов II группы
- участие в метаболизме кофакторов II группы

4. Литература:

Основная:

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин “Биологическая химия”, 1998, М, стр. . 210, 216, 220, 226-237. 1990, стр. 98, 138, 143, 147, 152, 154-161.
- 4.2. И.В.Савицкий “Биологическая химия” 1982, К., стр. 265-267.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко “Биохимия” 1988, К., стр. 169-186,186-196.
- 4.4. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная:

- 4.5. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М., Мир, 1985г., в 3-х томах.
- 4.6. А.М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии”, Одесса, 1994 г.
- 4.7. Ж. Крю “Биохимия”, М., Мир, 1979 г.
- 4.8. Д. Мецлер «Биохимия», М., Мир, 1980 г., в 3-х томах

5. Основные вопросы темы:

1. Структура, механизм действия, биологическое значение невитаминных кофакторов II группы: фосфатов углеводов и фосфатов нуклеозидов.
2. Структура, механизм действия и биологическое значение витаминоподобных и витаминных кофакторов II группы: карнитина, тиаминдифосфата (ТДФ), коэнзима ацилирования (КоА), пиридоксальфосфата (ПАЛФ), биоцитина, тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК), метилкобаламина, витаминов А, К.

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Роль коферментов ПАЛФ, ТГФК и метилкобаламина в процессах кроветворения
2. Применение карнитина в клинической практике и спортивной медицине

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. В клинику поступил 1-летний ребенок с признаками поражения мышц конечностей и туловища. После обследования обнаружен дефицит карнитина в мышцах. Биохимической основой этой патологии является нарушение процесса:
 - А. Регуляции уровня Са²⁺ в митохондриях
 - В. Транспорта жирных кислот в митохондрии
 - С. Субстратного фосфорилирования
 - Д. Утилизации молочной кислоты
 - Е. Окислительного фосфорилирования
2. По клиническим показаниям больному назначен пиридоксальфосфат для коррекции процессов:
 - А. Синтеза пуриновых и пиримидиновых оснований
 - В. Окислительного декарбоксилирования кетокилот
 - С. Дезаминирования пуриновых нуклеотидов
 - Д. Трансаминирования и декарбоксилирование аминокислот
 - Е. Синтеза белков
3. У новорожденного ребенка появились симптомы геморрагической болезни в связи с гиповитаминозом К. Развитие болезни обусловлено тем, что витамин К:
 - А. Тормозит синтез гепарина
 - В. Есть кофактором протромбина
 - С. Есть специфическим ингибитором антитромбина
 - Д. Влияет на протеолитическую активность тромбина

- Е. Есть кофактором γ -глутаминилкарбоксилазы
4. При лечении многих болезней используют фармацевтический препарат кокарбоксилазу (тиаминпирофосфат) для обеспечения клеток энергией. При этом активируется процесс:
- Декарбоксилирование аминокислот
 - Дезаминирования глутамата
 - Окислительного декарбоксилирования пирувата
 - Дезаминирования биогенов аминов
 - Окислительного фосфорилирования
5. У 37-летнего больного на фоне длительного применения антибиотиков повышена кровоточивость при незначительных повреждениях. Отмечается снижение активности факторов свертывания крови II, VII, X, удлинение времени свертывания крови. Обусловлены эти изменения недостаточностью витамина:
- А
 - К
 - Д
 - С
 - Е

8. Лабораторная работа: Качественные реакции на витамины В₂, В₆, А и Е.

1. Реакция на витамин В₂

Принцип. Реакция основывается на свойстве витамина В₂ легко восстанавливаться в присутствии молекулярного водорода. При этом образуется его лейкоформа.

Ход работы:

№	Реактивы, последовательность добавления	Опытная пробирка
1	Раствор витамина В ₂	10 кр
2	HCl (конц.)	5 кр
3	Zn (металлич.)	опускают
4	Выделяется водород, который восстанавливает рибофлавин. Отмечают изменение окраски	

2. Реакция на витамин В₆

Принцип. Витамин В₆ с феррум(III) хлоридом образует соединения наподобие феррум фенолята.

Ход работы:

№	Реактивы, последовательность добавления	Опытная пробирка
1	1% раствор витамина В ₆	5 капель
2	1% раствор FeCl ₃	1 капля
3	Перемешивают, наблюдают за изменением окраски	

3. Реакция на витамин А

Принцип: в основе реакции лежит окисление витамина А концентрированной серной кислотой

Ход работы

№	Реактивы, последовательность добавления	Опытная пробирка
1	Раствор витамина А	2 капли
2	H ₂ SO ₄ (конц.)	1 капля
3	Перемешивают, наблюдают за изменением окраски	

4. Выявление витамина Е реакцией с феррум (III) хлоридом

Принцип: альфа-токоферол окисляется феррум хлоридом до токоферилхинону.

Ход работы

:№	Реактивы, последовательность добавления	Опытная пробирка(должна быть сухой!!!)
1	0,1% раствор токоферола	5 капель
2	1% раствор FeCl ₃	8 капель
3	Перемешивают, нагревают, наблюдают за изменением окраски	

5. Выявление витамина К (викасола) реакцией с анилином

Принцип. Взаимодействие 2-метил-1,4-нафтохинона с анилином приводит к образованию 2-метил-3-фениламино-1,4-нафтохинона.

Ход работы:

№	Реактивы, последовательность добавления	Опытная пробирка
1	0,05% спиртовой раствор викасола	16 капель
2	0,05% раствор анилина	2 капли
3	Перемешивают, наблюдают за изменением окраски	

Тема 9 «Общие пути метаболизма. Окислительное декарбоксилирование пирувата. Цикл трикарбоновых кислот Кребса»

1. Актуальность темы: одним из основных свойств живых систем является постоянный обмен веществ и энергией с окружающей средой. В клетках живых организмов непрерывно проходят процессы синтеза (анаболизм) и распада (катаболизм) биомолекул, единство которых обеспечивает поддержание гомеостаза. Основной ферментативной системой клеток, которая объединяет пути катаболизма биомолекул (белков, жиров, углеводов), является цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) Кребса. Изучение особенностей функционирования ЦТК необходимо для оценки его роли в энергообеспечении клеток и понимания молекулярных механизмов возникновения патологий, сопровождающихся гипоэнергетическими состояниями.

2. Общая цель занятия: усвоить общие пути катаболизма биомолекул в живой клетке, а также последовательность реакций и биологическое значение цикла трикарбоновых кислот как универсального пути окислительного катаболизма биомолекул.

3. Конкретные цели: уметь

- трактовать биохимические закономерности обмена веществ, особенности катаболических, анаболических и амфиболических путей метаболизма
- анализировать закономерности функционирования цикла трикарбоновых кислот и механизмы его регуляции
- объяснять строение и значение пируват- и α-кетоглутаратдегидрогеназного мультиферментных комплексов
- раскрывать суть и значение анаэробных реакций ЦТК

4. Литература:

Основная

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин “Биологическая химия“ 1998, М., стр. 343-353, 1990г. 204-212, 259-267, 1983г. стр. 268-279, 345-353
- 4.2. И.В.Савицкий “Биологическая химия” 1982, К., стр. 306-317.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко “Биохимия” 1988, К., стр. 341-348.
- 4.4. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

- 4.5. А. Ленинджер “Основы биохимии», М., Мир, 1985 г., в 3-х томах.
- 4.6. Д. Мецлер «Биохимия», 1980 г., М., Мир, в 3-х томах.

5. Основные вопросы занятия:

1. Характеристика аутотрофных и гетеротрофных организмов. Обмен веществ у гетеротрофов и его основные этапы
2. Понятие о внутриклеточном метаболизме и метаболических путях. Основные этапы катаболизма биомолекул. Центральные метаболиты обмена веществ
3. Окислительное декарбоксилирование пирувата: определение, локализация в клетке, строение мультиферментного комплекса, схема реакции, биологическое значение и регуляция
4. Цикл трикарбоновых кислот Кребса (ЦТК): определение, локализация, механизм, последовательность реакций, биологическое значение, энергетический баланс и регуляция
5. Анаэробные реакции ЦТК и их биологическая роль

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Методы изучения обмена веществ
2. Роль нарушений функционирования цикла трикарбоновых кислот в развитии патологий

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Центральным промежуточным продуктом всех видов обмена (белков, липидов, углеводов) являются:
 - A. Лактат
 - B. Сукцинил-КоА
 - C. Щавелевоуксусная кислота
 - D. Ацетил-КоА
 - E. Цитрат
2. Количество молекул АТФ, которое может синтезироваться при полном окислении ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот?
 - A. 1
 - B. 3
 - C. 5
 - D. 8
 - E. 12
3. В больницу попала работница химического предприятия с признаками отравления. В волосах женщины найдено повышенную концентрацию арсената, который блокирует липоевую кислоту. Укажите, нарушение какого процесса является вероятной причиной отравления
 - A. Окислительного декарбоксилирования ПВК
 - B. Микросомального окисления
 - C. Восстановление метгемоглобина
 - D. Восстановление органических пероксидов
 - E. Обезвреживание супероксидных ионов
4. Цикл трикарбоновых кислот представляет собой конечный общий путь окисления энергетически богатых молекул (углеводов, аминокислот, жирных кислот). Укажите, с какой кислотой вступает в первую реакцию в ЦТК ацетил КоА:
 - A. Щавелевоуксусной
 - B. Цитратной
 - C. Изоцитратной
 - D. Фумаровой
 - E. Яблочной
5. При сердечных заболеваниях для улучшения энергообеспечения за счет интенсификации окислительных процессов применяют кокарбоксилазу (тиаминпирофосфат). Укажите, какой метаболический процесс она активирует
 - A. Окислительное фосфорилирование
 - B. Субстратное фосфорилирование

- С. Окислительное декарбоксилирование пирувата
- D. Дегидрирования сукцината
- E. Фосфорилирования фруктозо-6-фосфата

8. Лабораторная работа: Определение активности сукцинатдегидрогеназы

Принцип: Сукцинатдегидрогеназа катализирует дегидрирование сукцината (янтарной кислоты) с образованием фумарата (фумаровой кислоты). Кофактором фермента есть ФАД, который в ходе реакции превращается в ФАДН₂. Последний восстанавливает метиленовую синьку и превращает ее в бесцветное лейкосоединение.

Ход работы. В фарфоровой ступке растирают 1 г ткани печени крысы с 20 мл дистиллированной воды для получения гомогената. Далее в две пробирки (контрольную и опытную) вносят реактивы как описано в таблице:

Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
	Контрольная	Опытная
Гомогенат, мл	2,0	2,0
Фосфатный буфер, рН = 7,4, мл	1,0	1,0
Раствор янтарной кислоты (Сн=0,01М), мл	1,0	1,0
Метиленова синька, капли	2,0	2,0
Концентрированная хлоридна кислота, капли	5,0	-
Содержимое обеих пробирок перемешивают и заливают подогретым агар-агаром на высоту 1см. Пробирки помещают в стаканчики со льдом для застывания агар-агара		
Инкубация в термостате при 37°C в течение 30-45 мин		
Регистрация окраски		

Тема 10 «Биологическое окисление. Тканевое дыхание»

1. Актуальность темы: тканевое дыхание - это процесс окисления биомолекул, который позволяет аэробным организмам значительную долю свободной энергии субстратов использовать на генерацию макроэргических связей в молекуле АТФ. Изучение материала по данной теме позволяет объяснить роль кислорода в жизнедеятельности организма, использования его в терапии больных с нарушением дыхания и кровообращения, а также механизм действия различных биологически активных веществ (тироксина, адреналина), антибиотиков и ядовитых веществ.

2. Общая цель занятия: усвоить основные принципы организации дыхательной цепи митохондрий, роль окислительно-восстановительных ферментов в тканевом дыхании и влияние на этот процесс биологически активных и токсичных веществ.

3. Конкретные цели: уметь

- трактовать типы реакций биологического окисления
- объяснять строение дыхательной цепи и назначение его основных компонентов (ферментов, коферментов и электронотранспортных белков)
- анализировать структуру и биологическую роль комплексов дыхательной цепи
- объяснять механизм возникновения и биологическую роль редокс-потенциала в дыхательной цепи
- анализировать механизмы воздействия лекарственных препаратов, биологически активных и токсических веществ на процессы тканевого дыхания

4. Литература:

Основная

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин «Биологическая химия» М., 1998 г., стр. 305-311, 1990г. 213-223, 1983г. стр. 280-290.

4.2. И.В.Савицкий “Биологическая химия” 1982, К., стр. 318-327.

4.3. Н.Е.Кучеренко “Биохимия” 1988, К., стр. 354-363.

4.4. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.5. А. Ленинджер “Основы биохимии», М., Мир, 1985г., в 3-х томах

4.6. Д. Мецлер «Биохимия», М., Мир, 1980 г., в 3-х томах

5. Основные вопросы занятия:

1. Биологическое окисление: определение, реакции, теории (Баха, Палладина, Виланда, Варбурга)
2. Строение и маркерные ферменты митохондрий
3. Понятие о тканевом дыхании и дыхательной цепи. Компоненты дыхательной цепи
4. Комплексы дыхательной цепи: название, состав и биологическое значение. Полная и укороченная дыхательная цепь
5. Редокс-потенциал: определение, механизм возникновения и биологическое значение
6. Продукты тканевого дыхания (вода, углекислый газ, супероксидный анион-радикал, водород пероксид) и пути их образования. Вспомогательные ферменты тканевого дыхания
7. Патология тканевого дыхания. Ингибиторы дегидрогеназ и ферментов дыхательной цепи на этапах окислительного фосфорилирования

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Дыхательная цепь в качестве мишени действия лекарственных препаратов
2. Современные представления об организации дыхательной цепи митохондрий как единого мультиферментного комплекса
7. **Задания для закрепления материала и самоконтроля:**

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. У мужчины 30 лет гипоэнергетическое состояние, связанное с нарушением функционального состояния цитохромов дыхательной цепи митохондрий, которые по химической природе являются:
 - А. Липопротеинами
 - В. Гемпротеинами
 - С. Флавопротеинами
 - Д. Гликопротеинами
 - Е. Ретинолпротеинами
2. Больному, страдающему бессонницей, назначено снотворное класса барбитуратов. Назовите фермент митохондрий, для которого этот препарат является ингибитором.
 - А. Сукцинатдегидрогеназа
 - В. Цитохромоксидаза
 - С. НАДН-дегидрогеназа
 - Д. Изоцитратдегидрогеназа
 - Е. α -кетоглутаратдегидрогеназа
3. При отравлении угарным газом у человека подавляется тканевое дыхание. Назовите фермент дыхательной цепи, активность которого резко снижается в этих условиях.
 - А. Цитохром с
 - В. Сукцинатдегидрогеназа
 - С. НАДН-дегидрогеназа
 - Д. Цитохром b1
 - Е. Цитохром aa3
4. В больницу доставлен больной с отравлением инсектицидом - ротеноном. Участок митохондриальной цепи переноса электронов блокируется этим веществом?
 - А. НАДН - коэнзим Q редуктаза
 - В. Сукцинат - коэнзим Q редуктаза

- C. Коэнзим Q - цитохром C редуктаза
- D. Цитохром C оксидаза
- E. АТФ-синтетаза

5. При патологических процессах, сопровождающихся гипоксией, проходит неполное восстановление молекулы кислорода в дыхательной цепи и накопление пероксида водорода. Укажите фермент, который обеспечивает его разрушение.

- A. Аконитаза
- B. Цитохромоксидаза
- C. Сукцинатдегидрогеназа
- D. α -Кетоглутаратдегидрогеназа
- E. Каталаза

6. Исследования последних десятилетий показали, что непосредственными «исполнителями» апоптоза в клетке являются особые ферменты - каспазы. В образовании одного из них участвует цитохром C. Укажите его функцию в нормальной клетке

- A. Фермент дыхательной цепи переноса электронов
- B. Фермент ЦТК
- C. Фермент β -окисления жирных кислот
- D. Компонент $H +$ АТФ-азной системы
- E. Компонент пируватдегидрогеназной системы

7. Цианид калия, который является ядом, попал в организм пациента и вызвал смерть через несколько минут. Наиболее вероятной причиной его токсического действия были нарушения активности:

- A. АТФ-синтетазы
- B. Каталазы
- C. Цитохромоксидазы
- D. НАДФН-дегидрогеназы
- E. Нарушение синтеза гемоглобина

8. Судебно-медицинский эксперт при вскрытии трупа 20-летней девушки установил, что смерть наступила в результате отравления цианидами. Нарушение какого процесса вероятно было причиной смерти девушки?

- A. Тканевого дыхания
- B. Синтеза гемоглобина
- C. Транспорта кислорода гемоглобином
- D. Синтеза мочевины
- E. Транспорта водорода малат-аспартатных челноком

8. Лабораторная работа: Сопоставление редокс-потенциала рибофлавина и метиленовой сини. Определение активности пероксидазы крови

8.1. Сопоставление редокс-потенциала рибофлавина и метиленовой сини.

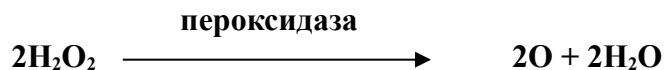
Принцип. Восстановление метиленовой сини водородом, который образуется при взаимодействии цинка с соляной кислотой, происходит раньше, чем восстановление рибофлавина, ведь редокс-потенциал метиленовой сини ($E_0 = +0,11$ В) больше, чем у рибофлавина ($E_0 = -0,02$ В). При отсутствии водорода первым окисляется восстановленный рибофлавин, а потом начинается окисления лейкометиленовой сини.

Ход работы. В пробирку вносят 4-6 капель дистиллированной воды, 2 капли рибофлавина и по каплям раствор метиленовой сини до образования синей или зеленовато-синей окраски раствора. Затем в пробирку вносят кусочек цинка и каплю концентрированной соляной кислоты, при этом начинается выделение пузырьков водорода. Поставьте пробирку в штатив и наблюдайте за изменением окраски течение 15-20 мин.

8.2. Определение активности пероксидазы (1.11.1.7.) в крови

Принцип. Активность пероксидазы определяют по скорости окисления красителя

индигокармина атомарным кислородом, который образуется при расщеплении водород пероксида.



Ход работы. В пробирку вносят 2 мл ацетатного буфера, 3 мл исследуемой пробы крови (разведение 1:1000), 2 мл дистиллированной воды и 8 капель раствора индигокармина ($C_n = 0,001$ м). Потом добавляют 2 мл раствора водород пероксида ($C_n = 0,2$ м) и перемешивают. Далее фиксируют отрезок времени (в секундах), за который синяя окраска индигокармина перейдет в желтую. В норме активность пероксидазы в крови составляет 30-50 с.

Вывод (укажите активность пероксидазы в опытной пробе крови и сравните её с нормативными показателями):

Тема 11 «Окислительное фосфорилирование»

1. Актуальность темы: окислительное фосфорилирование - основной процесс в клетках высших животных, который обеспечивает организм универсальным источником энергии в форме АТФ. Изучение темы студентам-медикам необходимо для понимания молекулярных механизмов воздействия токсических веществ, некоторых лекарственных средств (дикумарина, фенилина, салицилатов), эндогенных метаболитов (жирных кислот, билирубина) и гормонов (прогестерона, тироксина) на процессы образования АТФ.

2. Общая цель занятия: усвоить биологическую роль АТФ, основные постулаты хемиосмотической теории Митчелла и механизмы нарушения синтеза АТФ под влиянием ингибиторов и разъединителей.

3. Конкретные цели: уметь

- объяснять строение и принципы функционирования H^+ -АТФ-синтетазы
- интерпретировать молекулярный механизм образования АТФ
- анализировать основные положения хемиосмотической теории Митчелла
- трактовать условия эффективного сопряжения окисления и фосфорилирования
- объяснять механизм действия ингибиторов окислительного фосфорилирования и разъединителей тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

4. Литература:

Основная

- 4.1. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин «Биологическая химия», 1998, стр. 311-314 1990, 221-225 1983, стр. 290-298
- 4.2. И.В.Савицкий «Биологическая химия» 1982, К., стр. 327-334.
- 4.3. Н.Е.Кучеренко «Биохимия» 1988, К., стр. 348-354, 360-378.
- 4.4. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

- 4.5. А. Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985 г., в 3-х томах
- 4.6. Д.Мецлер «Биохимия», М., Мир, 1980 г., в 3-х томах

5. Основные вопросы занятия:

1. Понятие о биоэнергетике. Макроэргические соединения: определение, представители, биологическое значение
2. Окислительное фосфорилирование: определение, локализация. Строение H^+ -АТФ-синтетазы
3. Механизм окислительного фосфорилирования. Основные положения хемиосмотической теории Митчелла
4. Пункты сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.

Коэффициент окислительного фосфорилирования (P/O, P/2e-)

5. Ингибиторы окислительного фосфорилирования. Разъединители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Роль разъединителей тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в регуляции термогенеза
2. История развития учения об окислительном фосфорилировании

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

7.2. Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Под действием некоторых веществ происходит блокирование окислительного фосфорилирования в митохондриях, однако потребление кислорода происходит и субстрат окисляется. Укажите соединение, которое разъединяет этот процесс.
 - A. Вазопрессин
 - B. Окситоцин
 - C. Тироксин
 - D. Эстрадиол
 - E. Соматостатин
2. Известно, что некоторые химические вещества разъединяют тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование. Назовите это соединение.
 - A. CO
 - B. 2,4-динитрофенол
 - C. Антимидин А
 - D. Молочная кислота
 - E. Ацетил-КоА
3. У пациента после введения ему больших доз тироксина повысилась температура тела. Гипертермия в этом случае обусловлена разъединением процессов тканевого дыхания и:
 - A. β -окисления жирных кислот
 - B. Окислительного дезаминирования аминокислот
 - C. Перекисного окисления липидов
 - D. Окислительного декарбоксилирования пирувата
 - E. Окислительного фосфорилирования
4. Антибиотик олигомицин до недавнего времени использовали при лечении туберкулеза. Назовите процесс, который ингибирует этот препарат в туберкулезной палочке.
 - A. Анаэробный гликолиз
 - B. Субстратное фосфорилирование
 - C. Окислительное фосфорилирование
 - D. Активный транспорт веществ через мембраны
 - E. Фагоцитоз
5. Процесс синтеза АТФ, который сопряжён с реакциями окисления с участием системы дыхательных ферментов митохондрий, называется:
 - A. Свободным окислением
 - B. Субстратным фосфорилированием
 - C. Окислительным фосфорилированием
 - D. Фотосинтетическим фосфорилированием
 - E. Перекисным окислением
6. У больных с тиреотоксикозом наблюдается гипертермия, булимия, снижение веса, что связано с нарушением:
 - A. Реакций ЦТК
 - B. Распада АТФ

- C. Синтеза жиров
- D. Сопряжения окисления и фосфорилирования
- E. Реакций β -окисления жирных кислот

8. Лабораторная работа: Количественное определение АТФ в биологических жидкостях

Принцип. Содержание АТФ в фильтрате эритроцитов определяют после кислотного гидролиза по приросту неорганического фосфата (уровень фосфата оценивают по цветной реакции с аммоний молибдатом в присутствии восстановителя аскорбиновой кислоты).

Ход работы: алгоритм работы приведен в таблице.

Реактивы, последовательность добавления	Пробирки	
	№1	№2
Фильтрат эритроцитов, мл	0,5	0,5
Дистиллированная вода, мл	1,0	1,0
Кипячение на водяной бане (7 мин.)	-	+
Аммоний молибдат (2,5% раствор), мл	0,25	0,25
Аскорбиновая кислота (1% свежеприготовленный раствор)	0,25	0,25
Инкубация в течение 5 мин.		
Пробы фотоколориметрируют при длине волны 590 нм в кювете 0,3см против дистиллированной воды		
Экстинция	E ₁ =	E ₂ =
Количество АТФ в мкмоль (определяется по калибровочному графику)	C ₁ =	C ₂ =

Расчёт. Количество АТФ в фильтрате эритроцитов рассчитывается по формуле:

$$X = \frac{(C_2 - C_1) \cdot 0,5 \cdot 2000}{2 \cdot 10 \cdot 1000} \text{ ммоль/л, где}$$

C₂ - количество АТФ (в мкмоль) в фильтрате эритроцитов после гидролиза;

C₁ - количество АТФ (в мкмоль) в фильтрате эритроцитов до гидролиза;

2 - коэффициент перерасчета неорганического фосфата в АТФ;

10, 1000, 2000 - коэффициенты пересчета в ммоль / л;

0,5 - объем фильтрата эритроцитов в мл.

В норме в фильтрате эритроцитов содержание АТФ составляет 0,9-1,5 ммоль / л.

$$X = \text{_____} = \text{_____} \text{ ммоль/л}$$

Тема 12: Итоговое занятие "Общие закономерности метаболизма"

Теоретические вопросы

1. Определение биохимии как науки, объекты, задачи, разделы и методы биохимии.
2. Понятие о ферментах, субстратах, продуктах реакции. Биологическое значение ферментов. Номенклатура и классификация ферментов.
3. Химическая природа ферментов и ее доказательства. Строение ферментов (простых и сложных). Роль апофермента и кофактора в биологическом катализе
4. Активный центр ферментов: определение, строение, структурные участки и их функции
6. Аллостерические центры: определение, строение, пространственное расположение и функции Понятие аллостерический эффект и регуляторные ферменты
7. Свойства ферментов как биокатализаторов: специфичность действия, ее виды; термолабильность, зависимость активности от рН среды.
8. Механизм действия ферментов: основные этапы. Понятие об энергетике ферментативных реакций (энергетический барьер и энергия активации).
9. Понятие о кинетике ферментативных реакций (зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, фермента, константы Михаэлиса). Принципы

- определения и единицы ферментативной активности
10. Активаторы и ингибиторы ферментов: определение, представители, механизм действия. Типы торможения ферментативных реакций. Использование ингибиторов ферментов в медицинской практике.
 11. Принципы и виды регуляции активности ферментов. Клеточная организация ферментов в зависимости от характеристик органелл, мембранозависимых ферментов
 12. Изоферменты, определение, строение, примеры. Клиническое значение определения изоферментов в крови. Мультиферменты, определение, строение, примеры, значение. Полиферментные системы.
 13. Медицинская энзимология, определение, направления: энзимопатология, энзимодиагностика, энзимотерапия.
 14. Классификация кофакторов: по механизму действия; по химической природе. Структура и биологическое значение невитаминных кофакторов I группы: гема, глутатиона.
 15. Структура и биологическое значение витаминopodobных кофакторов I группы: убихинона, липоевой кислоты, тетрагидробиоптерина (ТГБП), хиноновых коферментов.
 16. Структура и биологическое значение витаминных кофакторов I группы: никотинамидных (НАД, НАДФ), флавиновых (ФМН, ФАД), 5-дезоксаденозилкобаламина, аскорбиновой кислоты и токоферола.
 17. Структура, механизм действия, биологическое значение невитаминных (фосфатов углеводов и фосфатов нуклеозидов) и витаминopodobных (карнитина) кофакторов II группы
 18. Структура, механизм действия и биологическое значение витаминных кофакторов II группы: тиаминдифосфата (ТДФ), коэнзима ацилирования (КоА), пиридоксальфосфата (ПАЛФ), биоцитина, тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК), метилкобаламина, вит. А, К.
 19. Обмен веществ у гетеротрофов и его основные этапы. Понятие о внутриклеточном метаболизме и метаболических путях. Основные этапы катаболизма биомолекул. Центральные метаболиты обмена веществ
 20. Окислительное декарбоксилирование пирувата: локализация в клетке, строение мультиферментного комплекса, схема реакции, биологическое значение и регуляция
 21. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) Кребса: определение, локализация, механизм, последовательность реакций, биологическое значение, энергетический баланс и регуляция. Анаэробные реакции ЦТК и их биологическая роль
 22. Биологическое окисление: определение, реакции, теории (Баха, Палладина, Виланда, Варбурга). Строение и маркерные ферменты митохондрий
 23. Понятие о тканевом дыхании и дыхательной цепи. Компоненты дыхательной цепи.
 24. Комплексы дыхательной цепи: название, состав и биологическое значение. Полная и укороченная дыхательная цепь. Вспомогательные ферменты тканевого дыхания
 25. Редокс-потенциал: определение, механизм возникновения и биологическое значение
 26. Патология тканевого дыхания. Ингибиторы дегидрогеназ и ферментов дыхательной цепи на этапах окислительного фосфорилирования
 27. Понятие о биоэнергетике. Макроэргические соединения: определение, представители, биологическое значение
 28. Окислительное фосфорилирование: определение, локализация. Строение H^+ -АТФ-синтетазы
 29. Механизм окислительного фосфорилирования. Основные положения хемиосмотической теории Митчелла. Пункты сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Коэффициент окислительного фосфорилирования (P/O, P/2e-)
 30. Ингибиторы окислительного фосфорилирования. Разъединители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ

Тема 13 « Углеводы: определение, классификация, биологическое значение. Пищеварение и всасывание углеводов в ЖКТ. Пищевые волокна»

1. Актуальность темы: углеводы - это биоорганические соединения, по химическому строению являющиеся альдегидо- и кетон- производными многоатомных спиртов ($C_n(H_2O)_m$). Содержание углеводов в организме человека является невысоким и составляет около 2% сухой массы. Они выполняют жизненно важные энергетические (гликоген, глюкоза) и структурные (гетерополисахариды) функции. Суточная потребность в углеводах составляет 450-500 г. Наибольшую пищевую ценность имеют поли- (крахмал, гликоген) и дисахариды (сахароза, лактоза, мальтоза). Пищеварение углеводов обеспечивают ферменты - гликозидазы, недостаточность которых вызывает заболевания.

2. Общая цель занятия: трактовать строение, классификацию, биологическое значение углеводов; усвоить механизмы пищеварения и всасывания углеводов, знать роль их нарушений в развитии заболеваний.

3. Конкретные цели: знать:

- определение, классификацию, строение, биологическое значение углеводов
- пищевое значение углеводов различных классов, роль пищевых волокон
- ферменты и механизмы пищеварения углеводов
- всасывание продуктов гидролиза углеводов в кишечнике и их транспорт в клетки
- клинико-биохимические признаки недостаточности дисахаридаз

4. Литература:

Основная

- 4.1. Т.Т. Березов, Б.Ф.Коровкин «Биолог. химия», 1998, стр. 226-240
- 4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

- 4.3. А.Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985, в 3-х томах

5. Основные вопросы занятия:

1. Углеводы: определение, классификация, строение, биологическое значение моно-, ди-и полисахаридов
2. Пищевое значение углеводов: суточная потребность и энергетическая ценность, роль моно-, ди-и полисахаридов в питании
3. Пищевые волокна: представители, биологическая роль, норма в рационе и пищевые источники
4. Пищеварение углеводов: характеристика ферментов-гликозидаз (α -амилаза, сахараза, лактаза и др.), Их субстратов и продуктов гидролиза в различных отделах ЖКТ. пристеночное пищеварение
5. Всасывания продуктов гидролиза углеводов в кишечнике и их транспорт в клетки
6. Недостаточность дисахаридаз: причины и клинико-биохимическая характеристика

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Углеводы и их производные как лекарственные средства
2. Гликемический индекс продуктов и его биологическое значение
3. Белки-транспортёры системы ГЛЮТ и их роль в патологии

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Для проведения анализа кровь пациента отобрали в присутствии гепарина. Этот антикоагулянт по химической структуре относится к:
 - A. Гликозаминогликанам
 - B. Простым белкам
 - C. Триацилглицеролам
 - D. Гемпротеинам
 - E. Фосфолипидам
2. У новорожденного после перехода на смешанное питание наблюдаются диарея, метеоризм и отставание в развитии. Чем может быть обусловлен это состояние?
 - A. Низкой активностью лактазы
 - B. Низкой активностью сахаразы и изомальтазы
 - C. Кислотной диспепсией
 - D. Низкой активностью амилазы
 - E. Нарушением переваривания белков
3. В значительной популяции людей, особенно у народов Африки и Азии генетически закреплена ферментативная недостаточность. Недостаток какого фермента в кишечном соке определяет неспособность этих людей переваривать лактозу?
 - A. Галактозидазы
 - B. Глюкоамилазы
 - C. Мальтазы
 - D. Трегалозы
 - E. Глюкозидазы
4. Во время питания новорожденного ребенка молоком матери, появлялись рвота, метеоризм, понос. О наследственной недостаточность которого фермента следует думать?
 - A. Мальтазы
 - B. Лактазы
 - C. Изомеразы
 - D. Олиго-1,6-глюкозидазы
 - E. Пепсина
5. Который гликозаминогликан является наиболее типичным для костной ткани и выполняет ведущую роль в формировании хрящевой и костной ткани?
 - A. гепарин
 - B. гиалуроновая кислота
 - C. дерматансульфат
 - D. кератансульфат
 - E. хондроитинсульфат

8. Лабораторная работа: Качественные реакции на моносахариды

Работа 8.1. Проба Фелинга

Принцип. Моносахариды благодаря наличию альдегидной группы способны восстанавливать ионы металлов в щелочной среде. Проба Фелинга состоит в восстановлении глюкозой в щелочной среде Cu^{2+} до Cu^{1+} с последующим осаждением меди(I) оксида (красно-кирпичный цвет) при нагревании. В состав реактива Фелинга входит меди(II) сульфат, натрий гидроксид и сегнетова соль (NaK -тарtrat), которая стабилизирует катионы Cu^{2+} и препятствует образованию меди(II) оксида. Проба Фелинга может использоваться для открытия глюкозы в моче.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1	№ 2
Образование реактива Фелинга			
1	7% раствор Cu_2SO_4 , капли	5	5
2	Щелочной раствор сегнетовой соли	5	5

Выявление глюкозы в моче			
3	Моча здорового человека, мл	1	-
3	Моча больного, мл	-	1
Осторожно нагреть на водяной бане (100°C) до появления осадка			
Регистрация осадка (указать цвет)			

Работа 8.2. Проба Ниландера

Принцип. Глюкоза (альдоза) в щелочной среде восстанавливает висмут(II) гидроксид до металлического висмута, который при нагревании выпадает в осадок. Проба Ниландера позволяет выявлять глюкозу в моче в присутствии другого восстановителя - мочевиной кислоты. Поскольку катионы висмута не восстанавливаются мочевиной кислотой, в отличие от катионов Cu^{2+} , проба Ниландера лучше выявляет глюкозу в моче, чем проба Фелинга. Реактив Ниландера содержит висмут нитрат, натрий гидроксид и сегнетовую соль.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1	№ 2
1	Моча здорового человека, мл	1	-
2	Моча больного, мл	-	1
3	Реактив Ниландера, капли	16	16
Осторожно нагреть на водяной бане (100°C) до появления осадка			
Регистрация наличия осадка (указать цвет)			

Работа 8.3. Реакция Селиванова

Принцип. Фруктоза и другие кетогексозы дают вишнево-красное окрашивание при нагревании их с **реактивом Селиванова** (соляная кислота и резорцин). Окраска возникает при реакции резорцина с оксиметилфурфуролом - продуктом, образующимся в результате дегидратации кетоз в присутствии минеральных кислот при нагревании.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1	№ 2
1	1% раствор фруктозы, мл	1	-
2	1% раствор глюкозы, мл	-	1
3	Реактив Селиванова, капли	16	16
Осторожно нагреть на водяной бане (100°C) до появления окрашивания			
Регистрация наличия осадка (указать цвет)			

Работа 8.4. Реакция Биала

Принцип. При нагревании с сильными минеральными кислотами происходит дегидратация пентоз и образуется фурфурол. Последний реагирует с орцином с образованием соединения сине-зеленого цвета. **Реактив Биала** состоит из соляной кислоты, орцина, феррум (III) хлорида и воды.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1	№ 2
1	Реактив Биала, капли	10	10
Нагреть на водяной бане (100°C) 3 минуты			
2	1% раствор арабинозы, мл	0,5	-
3	1% раствор глюкозы, мл	-	0,5
Перемешать и нагревать на водяной бане (100°C) 5-6 минут			
Регистрация наличия осадка (указать цвет)			

Тема 14. « Промежуточный обмен углеводов: анаэробный гликолиз, спиртовое брожение

»

1. Актуальность темы: гликолиз - важный катаболический путь углеводного обмена, в процессе которого глюкоза превращается в молочную кислоту и синтезируется АТФ. Происходит в анаэробных условиях, поэтому в организме человека протекает в клетках с низким насыщением кислородом: роговице глаза, активно работающих мышцах, опухолевых клетках и т.д.. У микроорганизмов анаэробное расщепление глюкозы может происходить не только с образованием лактата, но и с образованием этанола и CO_2 - спиртовое брожение.

2. Общая цель занятия: усвоить понятие промежуточного обмена углеводов, механизм и биологическое значение анаэробного расщепления глюкозы.

3. Конкретные цели:

- знать основные пути внутриклеточного метаболизма углеводов
- знать определение, механизм и биологическое значение гликолиза
- уметь объяснять регуляцию гликолиза
- уметь рассчитывать энергетический баланс анаэробного окисления глюкозы
- знать определение, механизм и биологическое значение спиртового брожения
- уметь объяснять различия процессов гликолиза и спиртового брожения

4. Литература:

Основная

4.1. Т.Т. Березов, Б.Ф.Коровкин «Биолог. химия», 1998, стр.327-334

4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.3. А.Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985, в 3-х томах

4.4.А.М.Горячковский «Справочное пособие по клинической биохимии», Одесса, 1994

5. Основные вопросы занятия:

1. Промежуточный обмен углеводов: определение, основные пути.
2. Гликолиз: определение, локализация в клетке, биологическое значение.
3. Механизм гликолиза: этапы, реакции, ферменты, коферменты.
4. Гликолитического оксидоредукция, субстратное фосфорилирование.
5. Энергетический баланс и регуляция гликолиза.
6. Роль гликолиза в патологии (злокачественные опухоли, сахарный диабет, гемолиз эритроцитов)
7. Спиртовое брожение: определение, механизм (сходство и различие гликолизом), биологическое значение.

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Брожение: виды, биологическое значение. История открытия гликолиза
2. Гликолиз и канцерогенез. Работы О. Варбурга

7. Задания для закрепления материала

7.3. Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Показано, что содержание нейроспецифические эналазы в коре больших полушарий головного мозга больше, чем в стволе головного мозга. Исходя из этих данных, активность какого метаболического процесса имеет преимущество в коре по сравнению со стволом головного мозга?

- A. Гликолиза
 - B. Гликогенолиза
 - C. Липолиза
 - D. Синтеза гликогена
 - E. Синтеза миелина
2. У людей после продолжительной физической нагрузки возникают интенсивные боли в мышцах. Что может быть наиболее вероятной причиной этого?
- A. Усиленный распад мышечных белков
 - B. Накопление креатинина в мышцах
 - C. Накопление в мышцах молочной кислоты
 - D. Повышенная возбудимость мышц
 - E. Повышение содержания АДФ в мышцах
3. Анаэробное расщепление глюкозы до молочной кислоты регулируется соответствующими ферментами. Укажите, какой фермент является главным регулятором этого процесса?
- A. Альдолаза
 - B. Глюкозо-6-фосфатизомераза
 - C. Фосфофруктокиназа
 - D. Энолаза
 - E. Лактатдегидрогеназа
4. В цитоплазме миоцитов растворено большое количество метаболитов окисления глюкозы. Назовите один из них, который непосредственно превращается в лактат.
- A. Пируват
 - B. Оксалоацетат
 - C. Глицерофосфат
 - D. Глюкозо-6-фосфат
 - E. Фруктозо-6-фосфат
5. После продолжительной физической нагрузки во время занятия по физической культуре у студентов развилась мышечная крепатура. Причиной ее возникновения стало накопление в скелетных мышцах молочной кислоты. Она образовалась после активации в организме студентов:
- A. Гликолиза
 - B. Глюконеогенеза
 - C. Пентозофосфатного цикла
 - D. Липолиза
 - E. Гликогенеза

8. Лабораторная работа: «Количественное определение пирувата и лактата»

Работа 8.1. Количественное определение пирувиноградной кислоты в биологических жидкостях

Принцип. Пирувиноградная кислота (ПВК) является одним из центральных метаболитов обмена веществ. Для количественного определения ПВК используется цветная реакция с 2,4-динитрофенилгидразином. В результате взаимодействия образуется продукт красного цвета. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию ПВК в опытной пробе и определяется фотоколориметрически.

Клинико-диагностическое значение. В крови здорового человека содержится 45-115 мкмоль/л ПВК; с мочой выделяется - 15-25 мг в сутки. Содержание ПВК повышается в крови при недостатке витамина В1, липоевой кислоты, заболеваниях печени, инсулинзависимом сахарном диабете, респираторном алкалозе, гиперфункции гипофизарно-надпочечниковой и симпатико-адреналовой систем. Содержание ПВК резко повышается в спинномозговой жидкости при травмах ЦНС и воспалительных процессах мозга (менингит, абсцесс).

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1 (опытная)	№ 2 (контрольная)
1	Сыворотка крови, мл	0,2	-
2	Дистиллированная вода, мл	-	0,2
3	0,2% раствор 2,4-динитрофенилгидразина, мл	0,1	0,1
Инкубация 20 минут при комнатной температуре			
4	5% раствор NaOH, мл	0,5	0,5
Инкубация 15 минут при комнатной температуре			
5	Дистиллированная вода, мл	1,8	1,8
ФЭК, длина волны $\lambda=490$ нм, кювета 0,5 см			
6	Показатель экстинкции		

Расчёт: $C = 46 \cdot \Delta D =$ _____ мкмоль/л

ΔD – экстинция; 46 – коэффициент перерасчёта.

Работа 8.2. Выявление молочной кислоты в желудочном соке по реакции Уффельмана

Принцип. Молочная кислота в присутствии фенолята железа (реактив Уффельмана, что окрашен в фиолетовый цвет) образует лактат железа желто-зеленого цвета. В норме молочная кислота содержится в желудочном содержимом в незначительных количествах и пробой Уффельмана не определяется. Проба становится положительной при накоплении продуктов метаболизма раковых клеток.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1	№ 2
1	1% раствор фенола, мл	1,0	1,0
2	1% раствор хлорида железа (III), капли	2	2
3	Нормальный желудочный сок, капли	5	-
4	Патологический желудочный сок, капли	-	5
Регистрация окрашивания			

Тема 15: « Аэробное окисление глюкозы. Эффект Пастера. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы »

1. Актуальность темы: аэробное окисление глюкозы (полное окисление глюкозы до CO_2 и воды) - главный энергопоставляющий процесс в организме человека. Его энергетический выход намного больше гликолитического и составляет 36-38 молекул АТФ. В присутствии кислорода в клетках тормозится анаэробный гликолиз и активируется аэробное окисление глюкозы (эффект Пастера). Альтернативным путем окисления глюкозы является апотомический или пентозофосфатный путь (ПФП), в котором образуются фосфопентозы и НАДФН₂. Нарушение аэробного окисления глюкозы является причиной энергодифицита и ацидоза при многих заболеваниях. Наследственный дефект фермента ПФП - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы ведет к гемолизу эритроцитов.

2. Общая цель занятия: знать механизмы, биологическое значение и роль в патологии аэробного и пентозофосфатного путей окисления глюкозы.

3. Конкретные цели:

- знать основные этапы аэробного окисления глюкозы, их локализацию в клетке, уметь рассчитать энергетический баланс
- трактовать различия биоэнергетики аэробного и анаэробного окисления углеводов, эффект Пастера, челночные механизмы транспорта восстановительных эквивалентов
- знать основные этапы, механизм, ферменты и коферменты ПФП
- трактовать пути использования метаболитов ПФП
- уметь объяснять регуляцию и патологию аэробного и пентозофосфатного путей окисления глюкозы

4. Литература:

Основная

4.1. Т.Т. Березов, Б.Ф.Коровкин «Биолог. химия», М.,1998, стр.338-353

4.2 Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.3. А.Ленинджер «Основы биохимии», М.,Мир, 1985, в 3-х томах

4.4. А.М.Горячковский «Справочное пособие по клинической биохимии», Одесса, 1994, 415 с.

5. Основные вопросы темы:

1. Аэробное окисление углеводов: определение, этапы и их локализация в клетке, ферменты, коферменты, энергетический баланс
2. Различия этапов и биоэнергетики аэробного и анаэробного путей катаболизма глюкозы. Эффект Пастера как механизм конкуренции между этими путями
3. Пути и ферменты взаимопревращения пирувата и лактата, регуляция аэробного окисления углеводов
4. Челночные системы транспорта гликолитического НАДН₂: механизм и энергетический выход глицеролфосфатного и малат-аспартатного транспорта
5. ПФП метаболизма глюкозы: определение, этапы, механизм, ферменты, коферменты, продукты и биологическое значение
6. Регуляция и патология ПФП. Энзимопатии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы как причина гемолиза эритроцитов

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

Особенности функционирования ПФП в различных тканях и его роль в патологии

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. У больного 38 лет после приёма аспирина и сульфаниламидов наблюдается усиленный гемолиз эритроцитов, вызванного недостаточностью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. С нарушением образования которого кофермента связана эта патология?
 - A. Убихинон
 - B. НАДФН₂
 - C. ФМНН₂
 - D. ФАДН₂
 - E. Пиридоксальфосфат
2. У 3-летнего ребенка с повышенной температурой тела после приема аспирина наблюдается усиленный гемолиз эритроцитов. Врожденная недостаточность какого фермента могла вызвать у ребенка гемолитическую анемию?
 - A. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы
 - B. Глюкозо-6-фосфатазы
 - C. Гликогенфосфорилазы
 - D. Глицеролфосфатдегидрогеназы

Е. Гамма-глутамилтрансферазы

3. При обследовании пациента выявлено увеличение количества пирувата в крови и снижение активности транскетолазы в эритроцитах. О нехватке какого витамина можно судить по данным биохимическими показателями?

- А. Ретинола
- В. Токоферола
- С. Биотина
- Д. Тиамина
- Е. Пиридоксина

4. Во время бега на длинные дистанции скелетная мускулатура тренированного человека использует глюкозу для получения энергии АТФ для мышечного сокращения. Укажите основной процесс утилизации глюкозы в этих условиях.

- А. Аэробный гликолиз
- В. Анаэробный гликолиз
- С. Гликогенолиза
- Д. Глюконеогенез
- Е. Гликогенез

5. При беге на короткие дистанции у нетренированного человека возникает мышечная гипоксия. К накоплению которого метаболита в мышцах это приводит?

- А. Ацетил-КоА
- В. Кетоновых тел
- С. Лактата
- Д. Глюкозо-6-фосфата
- Е. Оксалоацетата

7. **Лабораторная работа:** Определение глюкозы в моче методом Альтгаузена

Принцип. При кипячении слабо-щелочного раствора глюкозы происходит ее разрушение с образованием различных веществ: метилглиоксаля, молочной кислоты, муравьиной кислоты, ацетатной кислоты, оксибутиролактона и пирокатехина. Последний обуславливает окраску раствора, интенсивность которого пропорциональна содержанию глюкозы. Концентрацию глюкозы в моче находят по цветовой шкале сахариметра.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1	№ 2
1	Моча здорового человека, мл	4,0	-
2	Моча больного, мл	-	4,0
3	10% раствор натрий гидроксида, капли	16	16
Кипятить 2-3 минуты на водяной бане (100°C). Выдержать 10 минут при комнатной температуре. Визуально сравнить с цветной шкалой сахариметра			
Концентрация глюкозы в моче (%)			

Тема 16: «Глюконеогенез. Метаболизм фруктозы и галактозы»

1. Актуальность темы: Главным источником глюкозы как метаболического топлива являются пищевые полисахариды. Впрочем, существуют метаболические пути, например, глюконеогенез, которые обеспечивают организм глюкозой за счет ее синтеза из неуглеводных биомолекул. Такие процессы связывают между собой обмена углеводов, аминокислот и липидов и имеют сложную регуляцию с участием гормонов. Метаболизм других моносахаридов тесно связан с обменом глюкозы. Однако, существуют специфические пути обмена фруктозы и галактозы, нарушение которых ведет к заболеваниям.

2. Общая цель занятия: знать механизмы, биологическое значение, особенности регуляции, признаки нарушений глюконеогенеза и метаболизма фруктозы и галактозы.

3. Конкретные цели:

- знать определение, механизм, регуляцию и биологическое значение глюконеогенеза
- знать субстраты глюконеогенеза и пути их поступления
- знать особенности метаболизма фруктозы и галактозы в организме, клинико-биохимические проявления энзимопатий их обмена

4. Литература:

Основная:

4.1. Т.Т. Березов, Б.Ф.Коровкин «Биолог. химия», 1998, стр.335-338, 353- 357

4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.3. А.Ленинджер «Основы биохимии», М.,Мир, 1985, в 3-х томах

4.4. А.М.Горячковский «Справочное пособие по клинической биохимии»,Одесса,1994

5. Основные вопросы темы:

1. Глюконеогенез: определение, клеточная и органная локализация, субстраты, биологическое значение
2. Механизм, шунтирующие реакции, ферменты, коферменты и регуляция глюконеогенеза
3. Пути поступления субстратов глюконеогенеза: глюкозо-лактатный и глюкозо-аланиновый циклы, челночные системы транспорта оксалоацетата из митохондрий в цитозоль
4. Особенности метаболизма и биологическое значение фруктозы. Наследственные энзимопатии обмена фруктозы (непереносимость фруктозы, фруктоземия)
5. Особенности метаболизма и биологическое значение галактозы. Наследственные энзимопатии обмена галактозы (галактоземия)

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Наследственные нарушения обмена моносахаридов
2. Лекарственные средства, влияющие на глюконеогенез

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Во время голодания мышечные белки распадаются до свободных аминокислот. В какой процесс наиболее вероятно будут вовлекаться эти соединения?

- А. глюконеогенез в печени
- В. глюконеогенез в мышцах
- С. синтез высших жирных кислот
- Д. гликогенолиз
- Е. декарбоксилирование

2. У больного, проходящего курс лечебного голодания, нормальный уровень глюкозы в крови поддерживается главным образом за счет глюконеогенеза. Из какой аминокислоты в печени человека наиболее активно синтезируется глюкоза?

- А. валина
- В. лизина
- С. аланина
- Д. глутаминовой кислоты
- Е. лейцина

3. У 8-месячного ребенка наблюдается рвота, поносы после употребления фруктовых соков. Нагрузка фруктозой ведет к гипогликемии. Наследственная недостаточность какого фермента приведет к гипогликемии?

- A. фруктокиназы
- B. фруктозо-1-фосфатальдолазы
- C. гексокиназы
- D. фосфотрифруктокиназы
- E. фруктозодифосфатазы

4. У мальчика 2 лет наблюдается увеличение в размерах печени и селезенки, катаракта. В крови повышена концентрация сахара, однако тест толерантности к глюкозе в норме. Укажите, наследственное нарушение обмена какого вещества является причиной этого состояния?

- A. галактозы
- B. фруктозы
- C. глюкозы
- D. мальтозы
- E. сахарозы

5. В крови ребенка обнаружено высокое содержание галактозы, концентрация глюкозы снижена. Наблюдается катаракта, умственная отсталость, развивается жировое перерождение печени. Какое заболевание имеет место?

- A. лактоземия
- B. сахарный диабет
- C. галактоземия
- D. стероидный диабет
- E. фруктоземия

8. Лабораторная работа: Количественное определение фруктозо-1,6-дифосфата в биологической жидкости

Принцип. Фруктозо-1,6-дифосфат - один из ключевых метаболитов обмена углеводов. Продуктом кислотного гидролиза фруктозо-1,6-дифосфата является фруктоза. Содержание фруктозо-1,6-дифосфата в биологических жидкостях оценивают по содержанию фруктозы, которая дает цветную реакцию с резорцином.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1	Исследуемая жидкость, мл	1,0
2	0,1% раствор резорцина, мл	1,0
3	30% хлоридная кислота, мл	3,0
Кипятить 8 минут на водяной бане (100 °С). Охладить		
Фотометрировать на ФЭК при $\lambda=490$ нм в кювете $l=1$ см против воды		
Экстинция (ед.опт. плотности)		
Количество фруктозы в пробе, мкмоль/мл (див. калибровочный график)		

Результат:

*Рассчитать количество фруктозо-1,6-дифосфата в биологической жидкости
количество фруктозы в пробе $\times 1,9$ (мкмоль/мл)*

Тема 17: « Синтез и распад гликогена (гликогенез, гликогенолиз). Гликогенозы и агликогенозы. Обмен гликоконъюгатов. Гликозидозы (мукополисахаридозы)»

1. Актуальность темы: Гликоген - гомополисахарид, животный крахмал, выполняет функцию депо главного энергетического субстрата клетки - глюкозы. Врожденные дефекты ферментов обмена гликогена ведут к серьезным нарушениям метаболизма.

Гликозилирование неуглеводных молекул приводит к образованию гликонъюгатов, которые выполняют важные физиологические функции. Нарушение их обмена лежит в основе развития гликозидозов и болезней соединительной ткани.

2. Общая цель занятия: усвоить основные этапы, регуляцию, биологическое значение и проявления энзимопатий обмена гликогена и гликоконъюгатов

3. Конкретные цели:

- знать основные этапы, ферменты, коферменты и регуляцию гликогенеза
- знать основные этапы, ферменты, коферменты и регуляцию гликогенолиза
- трактовать роль гормонов и аденилатциклазной механизма в регуляции обмена гликогена
- знать причины и проявления врожденных энзимопатий обмена гликогена (гликогенозов, агликогенозов)
- знать биологическую роль, особенности синтеза и распада гликоконъюгатов
- знать причины и проявления генетических нарушений катаболизма составляющих гликоконъюгатов - гетерополисахаридозов (гликозидозов)

4. Литература:

Основная:

4.1. Т.Т. Березов, Б.Ф.Коровкин «Биолог. химия», 1998, стр.321-327, 362

4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.3. А.Ленинджер «Основы биохимии», М.,Мир, 1985, в 3-х томах

4.4. А.М.Горячковский «Справочное пособие по клинической биохимии», Одесса,1994,415с

5. Основные вопросы темы:

1. Гликогенез (синтез гликогена): основные этапы, ферменты, коферменты, роль УТФ, регуляция, биологическое значение.
2. Гликогенолиз (распад гликогена): основные этапы, ферменты, регуляция, аденилатциклазной механизм, биологическое значение и энергетика.
3. Различия обмена гликогена и его гормональной регуляции в печени и мышцах
4. Наследственные энзимопатии обмена гликогена (гликогенозы, агликогенозы): основные причины и клинико-биохимические проявления
5. Гликоконъюгаты: представители, особенности биосинтеза и катаболизма углеводных компонентов. Гликозидозы (мукополисахаридозы)

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Биохимическая характеристика мукополисахаридозов - генетических нарушений метаболизма гетерополисахаридов
2. Биохимия групп крови

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Ребенок слабый, апатичный. Печень увеличена и при её биопсии выявлен значительный избыток гликогена. Концентрация глюкозы в крови ниже нормы. В чем причина пониженной концентрации глюкозы в крови этого больного?

- A. Снижена (отсутствует) активность гликогенфосфорилазы в печени.
- B. Снижена (отсутствует) активность гексокиназы.
- C. Повышенная активность гликогенсинтетазы.
- D. Снижена (отсутствует) активность глюкозо-6-фосфатазы.
- E. Дефицит гена, отвечающего за синтез глюкозо-1-фосфатуридинтрансферазы.

2. При исследовании крови у больного выявлена выраженная гипогликемия натощак. В биоптатах печени снижено количество гликогена. Недостаточность какого фермента является причиной заболевания

- A. фосфоорилазы а
- B. гликогенсинтетазы
- C. фруктозодифосфатазы
- D. пируваткарбоксилазы
- E. альдолазы

3. Характерной особенностью гликогеноза является боль в мышцах во время физической работы. В крови отмечается гипогликемия. Врожденная недостаточность какого фермента приводит к этой патологии?

- A. Гликогенфосфоорилазы
- B. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы
- C. Альфа-амилазы
- D. Гамма-амилазы
- E. Лизосомальной гликозидазы

4. У ребенка с точечной мутацией генов обнаружены отсутствие глюкозо-6-фосфатазы, гипогликемия и гепатомегалия. Определите вид патологии, для которой характерны эти признаки?

- A. Болезнь Кори
- B. Болезнь Гирке
- C. Болезнь Аддисона
- D. Болезнь Паркинсона
- E. Болезнь Мак-Ардля

5. У пациентки с постоянной гипогликемией анализ крови после введения адреналина существенно не изменился. Врач предположил нарушения в печени. Об изменении какой функции печени может идти речь?

- A. гликогендепонирующей
- B. холестеринсинтезирующей
- C. кетогенной
- D. гликолитической
- E. экскреторной

7. **Лабораторная работа:** определение содержания глюкозы в моче

Работа 8.1. Поляриметрический метод определения содержания глюкозы в моче

Принцип. В молекуле глюкозы имеется асимметричный атом углерода, поэтому растворы глюкозы вращают плоскость поляризованного луча (справа). Угол вращения пропорционален концентрации глюкозы в исследуемой жидкости, в частности в моче. Определение проводят в специальном приборе - поляриметре (сахариметре).

Ход работы: После установки диска анализатора на нулевой точке шкалы, вынимают трубку из прибора, заполняют ее мочой (без пузырьков воздуха) и снова устанавливают в прибор. При этом в середине поля зрения появляется темная полоса и для равновесия освещения необходимо повернуть диск анализатора по ходу часовой стрелки на определенную величину. Когда такое положение будет найдено, то по шкале определяют угол вращения плоскости поляризованного луча в градусах.

Расчёт: Концентрация глюкозы в моче (%) = число градусов $\times 2 =$ _____ %

Работа 8.2. Экспресс-анализ (скрининговая оценка) содержания глюкозы в моче

Принцип. Для полуколичественного определения (скрининговой оценки) содержания глюкозы в крови и моче используют специальные тест-полоски. Тест-полоски содержат чувствительные к глюкозе реактивы, которые меняют цвет в ней. Интенсивность окраски тест-полоски прямо пропорциональна концентрации глюкозы и регистрируется или специальным прибором - глюкометром (для крови), или визуально - по цветовой шкале (для

мочи). Экспресс-методом можно выявлять глюкозу в моче в диапазоне концентраций 0,1-2,0%.

Клинико-диагностическое значение. Метод позволяет быстро оценить примерный содержание глюкозы в крови и моче и может быть легко выполнен в домашних условиях. Экспресс-анализ позволяет больным сахарным диабетом самостоятельно контролировать содержание глюкозы в моче и крови. Наиболее известной визуальной тест-системой является «Глюкотест». Также существуют тест-системы, которые позволяют наряду с глюкозой проявлять кетоновые тела, белок и другие вещества в моче.

Ход работы: Для определения содержания глюкозы каплю мочи наносят на индикаторную зону тест-полоски «Глюкотест». Через 2 минуты окраски индикатора сравнивают со стандартной цветной шкалой, нанесенной на поверхность футляра, где хранятся тест-полоски.

Тема 18: «Регуляция и патология углеводного обмена»

1. Актуальность темы: регуляция обмена углеводов является сложным процессом, который осуществляется при участии ЦНС, печени, гормонов и метаболитов. Их действие направлено на достижение устойчивого уровня глюкозы в крови (3,33-5,55 ммоль/л), который обеспечивает нормальный энергетический обмен в головном мозге и других тканях. Нарушение регуляции углеводного обмена приводит к развитию сахарного диабета и других патологических состояний, диагностика которых основывается в первую очередь на анализе содержания глюкозы в крови и моче.

2. Общая цель занятия: усвоить механизмы регуляции уровня глюкозы в крови, биохимические показатели углеводного обмена в условиях нормы, причины и клинико-биохимическую характеристику сахарного диабета и других нарушений обмена глюкозы.

3. Конкретные цели:

- знать нормальное содержание, источники поступления и направления использования глюкозы крови
- трактовать понятие нормо-, гипо- и гипергликемии, глюкозурии, почечного порога для глюкозы
- знать и уметь воспроизводить методы определения глюкозы в крови
- знать механизмы регуляции уровня глюкозы в крови ЦНС, гормонами и метаболитами
- трактовать молекулярные механизмы и клинико-биохимические признаки сахарного диабета

4. Литература:

Основная

- 4.1. Т.Т. Березов, Б.Ф.Коровкин «Биолог. химия», 1998, стр.359-362
- 4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

- 4.3. А.Ленинджер «Основы биохимии», М., Мир, 1985, в 3-х томах
- 4.4. А.М.Горячковский «Справочное пособие по клинической биохимии», Одесса, 1994

5. Основные вопросы темы:

1. Норма содержания глюкозы в крови, пути его поступления и направления использования.
2. Биохимические процессы, обеспечивающие постоянство уровня глюкозы в крови.
3. Роль печени и ЦНС в регуляции углеводного обмена.
4. Гормональная регуляция углеводного обмена: действие инсулина, адреналина, глюкагона, глюкокортикоидов, СТГ, АКТГ, тироксина.

5. Методы количественного определения глюкозы в крови и моче.
6. Нарушение обмена углеводов: причины и виды гипер-и гипогликемии, глюкозурии.
7. Сахарный диабет: определение, клинико-биохимические признаки. Понятие о нарушении толерантности к углеводам и сахарные кривые.

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Современные методы оценки обмена углеводов, показатели длительной гипергликемии
2. Клинико-биохимические аспекты сахарного диабета 1 и 2 типа

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

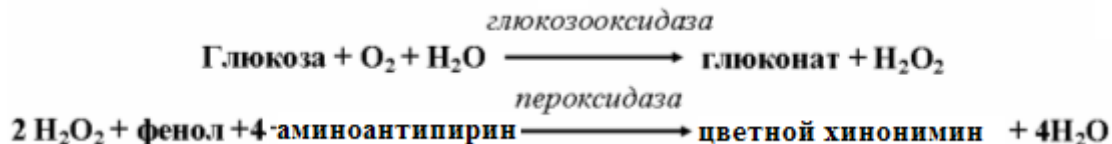
Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Больной страдает сахарным диабетом, гипергликемии натощак более 7,2 ммоль/л. Уровень какого белка плазмы крови позволяет ретроспективно (за предыдущие 4-8 недели до обследования) оценить уровень гликемии
 - A. Гликозилированный гемоглобин
 - B. Альбумин
 - C. Фибриноген
 - D. С-реактивный белок
 - E. Церулоплазмин
2. У женщины 62-х лет развилась катаракта (помутнение хрусталика) на фоне сахарного диабета. Укажите, какой тип модификации белков имеет место при диабетической катаракте
 - A. Фосфорилирование
 - B. Гликозилирование
 - C. АДФ-рибозилирование
 - D. Метилирование
 - E. Ограниченный протеолиз
3. В моче больного выявлены глюкоза, кетоновые тела. Содержание глюкозы в крови 10,1 ммоль/л. Наличие какого заболевания можно предположить?
 - A. агликогеноза
 - B. почечной недостаточности
 - C. сахарного диабета
 - D. мукополисахаридоза
 - E. гликогеноза
4. У пациента К. во время лабораторного обследования выявлено наличие глюкозы в моче при нормальной концентрации ее в плазме крови. Нарушение какого процесса является вероятной причиной этого состояния?
 - A. Канальцевой реабсорбции
 - B. Секрции инсулина
 - C. Клубочковой фильтрации
 - D. Канальцевой секреции
 - E. Секрции глюкокортикоидов
5. Больная 58 лет. Состояние тяжелое, сознание омрачено, кожа сухая, глаза запавшие, цианоз, запах мочёных яблок изо рта. Результаты анализов: глюкоза крови 15,1 ммоль/л, в моче 3,5% глюкозы. Причиной такого положения являются:
 - A. Гипергликемическая кома
 - B. Гипогликемическая кома
 - C. Анафилактический шок
 - D. Уремическая кома
 - E. Гиповолемическая кома

8. Лабораторная работа: Определение концентрации глюкозы в крови глюкозооксидазным

методом

Принцип. Глюкозооксидазный метод является наиболее точным методом определения глюкозы в крови, поскольку базируется на специфической энзимной реакции: глюкоза в присутствии глюкозооксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием водород пероксида. Второй этап метода является неспецифическим: под действием образованного H_2O_2 и пероксидазы фенол конденсируется с 4-аминоантипирином с образованием окрашенного соединения (хиноимина).



Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

Реактивы, последовательность добавления		Пробирка	
		№ 1	№ 2
1	Сыворотка здорового человека, мл	0,02	--
2	Сыворотка больного, мл	--	0,02
3	Энзимный реактив, мл	2,0	2,0
Инкубация 20 минут при комнатной температуре Фотометрировать на ФЭК при $\lambda=540$ нм в кювете $l=0,5$ см против воды			
Экстинция (ед.опт. плотности)		$E_1 =$	$E_2 =$
Содержание глюкозы в крови, ммоль/л			

Расчёт концентрации глюкозы в крови проводят с проводят по формуле:

$$C = E \text{ пробы} \times 33,3 = \underline{\hspace{2cm}} \text{ ммоль/л;}$$

где 33,3 - коэффициент, полученный на основе определения экстинции стандартного раствора глюкозы с концентрацией 10 ммоль/л ($E_{ст.} = 0,3$, коэффициент: $10/0,3 = 33,3$).

Тема 19: « Липиды: определение, структура, классификация, значение. Биомембраны. Каскад арахидоновой кислоты »

1. Актуальность темы: липиды - это большая группа разнообразных по химической природе органических веществ, нерастворимых в воде и растворимых в неполярных растворителях (хлороформ, ацетон, этанол и др.). Биологические функции липидов определяются их строением и физико-химическими свойствами. Например, триацилглицеролов выполняют запасную энергетическую функцию, защищают организм от переохлаждения и механических повреждений, является источником эндогенной воды, растворителем витаминов А, Д, Е, К и т.д.. Сложные липиды (фосфо-и глицеролипиды) в основном выполняют структурную функцию, составляя основу клеточных мембран и рецепторов. Биологические мембраны имеют уникальную жидкостно-мозаичную строение (бимолекулярный слой липидов, в котором расположены белки) и свойства (выборочную проницаемость, текучесть и др.). Липиды и продукты их обмена образуют большую группу биологически активных соединений: половые гормоны, гормоны коры надпочечников, желчные кислоты, жирорастворимые витамины, простагландины и др..

2. Общая цель занятия: трактовать структуру и биологическое значение липидов и их производных; усвоить строение, функции и патологию биологических мембран

3. Конкретные цели: знать:

- классификацию, структуру и биологическую роль представителей отдельных классов липидов

- строение и функции биомембран, виды мембранного транспорта;
- механизм ферментативного и неферментативного перекисного окисления липидов (ПОЛ);
- роль арахидоновой кислоты как предшественника биологически активных соединений - эйкозаноидов

4. Литература:

Основная:

- 4.1. Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин “Биологическая химия”, 1998, М. С. 276-284, 199-202.
4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная:

- 4.3. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М., Мир, 1985, в 3-х томах.
4.4. А. М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии”, Одесса, 1994.
4.5. Ж. Крю “Биохимия”, М., Мир, 1979.
4.6. Д. Мецлер «Биохимия», М., Мир, 1980, в 3-х томах

5. Основные вопросы темы:

1. Определение и классификация липидов.
2. Структура и функции представителей отдельных классов липидов.
3. Биомембраны: строение, биофизические свойства (текучесть, вязкость, асимметрия, латеральная диффузия), функции.
4. Виды мембранного транспорта (пассивный, активный, эндо-и экзоцитоз).
5. Перекисное окисление липидов (ПОЛ): ферментативное и неферментативное.
6. Каскад арахидоновой кислоты. Биологическое и медицинское значение продуктов ее метаболизма.

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

Биологическое значение тканевых гормонов: простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов, простациклинов

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля

7.3. Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Высшие жирные кислоты (ВЖК) необходимы в организме человека для синтеза ряда биологически активных веществ. Но некоторые из них не синтезируются в организме и поэтому должны быть обязательными составляющими продуктов питания. К незаменимым ВЖК относятся:

- А. олеиновая
- В. стеариновая
- С. линоленовая
- Д. пальмитиновая
- Е. пальмитоолеиновая

2. В состав биомембран входят глицерофосфолипиды, формирующие липидный бислой благодаря тому, что их молекулы являются:

- А. гидрофильными
- В. гидрофобными
- С. амфифильных
- Д. циклическими
- Е. неполярными

3. Сфинголипиды - это сложные липиды, которые являются эфирами многоатомного спирта сфингозина и ВЖК. Также в их составе есть остатки холина и фосфорной кислоты. Сфинголипиды присутствуют в организме человека преимущественно в составе:

- А. печени

- В. скелетных мышц
- С. нервной ткани
- Д. соединительной ткани
- Е. плазмы крови

4. В любой клетки организма постоянно образуются активные формы кислорода: супероксидный и гидроксильный радикалы, пероксид водорода. Они образуются в результате:

- А. протонирования молекулярного кислорода
- В. ступенчатого одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода
- С. распада молекулы воды
- Д. синтеза молекулы воды
- Е. реакций дегидратации

5. Резкий рост образования активных форм кислорода (супероксиданион радикала, пероксида водорода, гидроксильного радикала) наблюдается в нейтрофилах во время фагоцитоза. Кроме этого в них с участием фермента миелопероксидазы образуется еще одно вещество с высокой бактерицидным действием. Таким веществом является:

- А. радикал насыщенной жирной кислоты
- В. гидропероксильный радикал
- С. пероксинитрит
- Д. гипохлоританион
- Е. радикал ненасыщенной жирной кислоты

6. Усиление пероксидного окисления липидов и биополимеров является одним из основных механизмов повреждения структуры и функции клеточных мембран и гибели клетки. Причиной этого являются:

- А. усиленное образование свободных радикалов кислорода и угнетение антиоксидантных систем
- В. гиповитаминоз В1
- С. гипервитаминоз В1
- Д. гиповитаминоз В12
- Е. гипервитаминоз В12

7. Мужчина 42 лет страдает ревматоидным артритом В комплекс назначенных ему лечебных препаратов включен аспирин - ингибитор простагландинсинтазы. Из какой кислоты образуются простагландины?

- А. арахидоновой
- В. нейраминовой
- С. линоленовой
- Д. линолевой
- Е. пропионовой

8. Лабораторная работа:

Определение содержания малонового диальдегида в крови

Принцип. При высокой температуре в кислой среде малоновый диальдегид (МДА) реагирует с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного триметинового комплекса, имеет максимум поглощения при длине волны 532 нм. Увеличение концентрации МДА свидетельствует об интенсификации ПОЛ, что может инициировать развитие и прогрессирование лучевой и ожоговой болезни, воспалительных и онкологических процессов и т.п..

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1 (опыт)	№ 2 (контроль)

1	Сыворотка крови, мл	0,5	-
2	Физиологический (0,9%) раствор NaCl, мл	-	0,5
3	20% раствор трихлорацетатной кислоты, мл	1	1
4	2 М раствор HCl, мл	1	1
5	0,5% раствор тиобарбитуровой кислоты, мл	1	1
6	Дистиллированная вода, мл	1	1
Кипятить на водяной бане (100°C) 15 минут. Охладить и профильтровать. Отобратить фильтрат. Фотометрировать на ФЭК при $\lambda=540$ нм в кювете $l=1$ см против воды			
Экстинция (ед.опт. плотности)		$E_1 =$	$E_2 =$
Содержание МДА в сыворотке крови, ед. опт. плотности (в норме < 0,05 е. о. п.)		$E_1-E_2 =$ _____ о. о. щ.	

Тема 20 « Пищеварение липидов в желудочно-кишечном тракте. Роль желчных кислот. Транспортные формы липидов »

1. Актуальность темы: Нейтральные жиры - второй после углеводов источник энергии в пищевом рационе человека. Суточная потребность в них составляет 80-100 г. Пищеварение жиров происходит преимущественно в двенадцатиперстной кишке под влиянием панкреатической липазы, которую активируют желчные кислоты. Продукты гидролиза липидов из ЖКТ транспортируются в кровь и лимфу. Перед поступлением в лимфу в стенке кишечника происходит ресинтез липидов. Транспорт ресинтезованных в кишечнике липидов в лимфу и кровь происходит за счет липопротеинов, которые классифицируются по размеру частиц и физико-химическими свойствами. В крови происходит гидролиз жиров в составе липопротеинов на глицерин и жирные кислоты, которые используются жировой тканью, они депонируются в виде триацилглицеролов, а также сердцем, печенью и другими органами, в которых они окисляются с высвобождением энергии.

2. Общая цель занятия: знать пищевое значение липидов, этапы и механизм их пищеварения в ЖКТ, транспортные формы и пути поступления в клетки и ткани

3. Конкретные цели: знать:

- суточную потребность в липидах и их пищевое значение;
- механизм пищеварения липидов в ЖКТ;
- роль желчных кислот в пищеварении липидов и всасывании продуктов их гидролиза;
- классификацию транспортных форм липидов
- состав и биологическое значение различных классов липопротеинов.

4. Литература:

Основная:

4.1. Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин “Биологическая химия”, 1998, М. С. 286-291, 315-316.

4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная:

4.3. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М., Мир, 1985, в 3-х томах.

4.4. А. М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии”, Одесса, 1994.

4.5. Ж. Крю “Биохимия”, М., Мир, 1979.

5.6. Д. Мецлер «Биохимия», М., Мир, 1980, в 3-х томах

5. Основные вопросы темы:

1. Суточная потребность в липидах и их пищевое значение.
2. Переваривание липидов в желудочно-кишечном тракте: ферменты и особенности гидролиза триацилглицеролов, фосфолипидов, стеридов.
3. Желчные кислоты: структура, схема образования, роль желчных кислот в переваривании липидов и всасывании продуктов их гидролиза.
4. Синтез липидов в кишечнике.
5. Транспортные формы липидов (липопротеины): классификация, состав, физические свойства, биологическое значение.

6. Вопросы для самостоятельной внеаудиторной работы:

Роль транспортных форм липидов в развитии атеросклероза

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. В ходе исследования плазмы крови пациента через 4 часа после приема им жирной пищи установлено, что она является мутной. Наиболее вероятной причиной данного состояния является повышение концентрации в плазме
 - A. ЛПНП
 - B. ЛПВП
 - C. хиломикронов
 - D. холестерина
 - E. фосфолипидов
2. Больной после приема жирной пищи чувствует тошноту, вялость, со временем появились признаки стеатореи. Содержание холестерина в крови 9,4 ммоль/л. Причиной такого положения является дефицит:
 - A. жирных кислот
 - B. желчных кислот
 - C. триацилглицеролов
 - D. фосфоглицеролипидов
 - E. хиломикронов
3. У больного ребенка при анализе крови установлена гиперлипопротеинемия, что передалась по наследству. Обуславливает это явление генетический дефект синтеза фермента:
 - A. протеинкиназы
 - B. гемсинтазы
 - C. триглицеридлипазы
 - D. липопротеинлипазы
 - E. гликозидазы
4. При увеличении в рационе жиров возникает гиперлипидемия, характеризующаяся ростом в сыворотке крови таких транспортных форм липидов как:
 - A. комплекс жирных кислот из альбуминами
 - B. ЛПОНП
 - C. ЛПНП
 - D. ЛПВП
 - E. хиломикроны
5. У больной желчнокаменной болезнью имеет место стеаторея - наличие капель жира в каловых массах. Причиной нарушения гидролиза жиров в кишечнике является дефицит:
 - A. жирных кислот
 - B. желчных кислот
 - C. глицерола
 - D. нейтральных жиров

Е. фосфолипидов

6. В организме человека основным местом депонирования триацилглицеролов (ТАГ) есть жировая ткань. Вместе с тем их синтез происходит в гепатоцитах. В виде чего происходит транспорт ТАГ из печени в жировую ткань?

А. ЛПОНП

В. хиломикронов

С. ЛПНП

Д. ЛПВП

Е. Комплекса с альбумином

7. У больного в крови повышено содержание хиломикронов, особенно после еды, обогащенной жирами. Выявлена гиперлипопротеинемия I типа, которая связана с нарушением синтеза:

А. липопротеинлипазы

В. аденилатциклазы

С. протеинкиназы

Д. фосфолипазы С

Е. простагландинсинтетазы

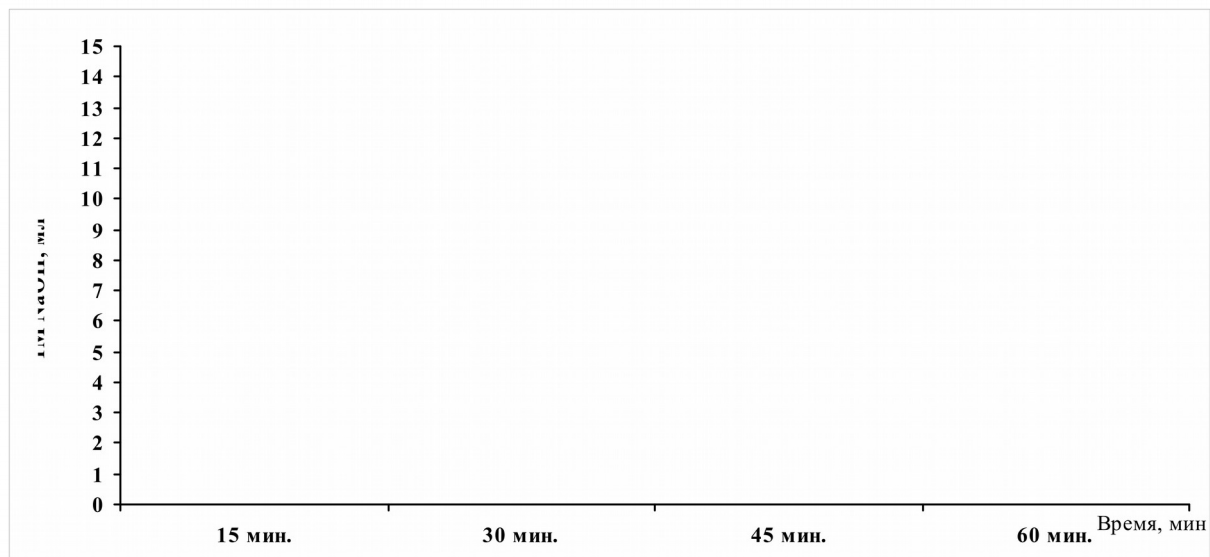
8. Лабораторная работа: Влияние желчи на активность липазы

Принцип. Липаза поджелудочного сока расщепляет жир молока на глицерин и высшие жирные кислоты. Количество жирных кислот определяют титрометрически и выражают в мл 0,1 М раствора гидроксида натрия, пошедший на их нейтрализацию. Влияние желчи на активность липазы оценивают по изменению скорости гидролиза жиров в присутствии липазы.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	№ 1 (опыт)	№ 2 (контроль)
1 этап. Проводить в химических стаканчиках			
1	Кипячёное молоко разведёное водой (1:1), мл	10	10
2	Витяжка из поджелудочной железы, мл	1	1
3	Желчь, капли	10	-
4	H ₂ O, капли	-	10
Для 1-го титрования отобрать по 2 мл смеси из стаканчиков в колбы (контроль, опыт). Стаканчики с остатком смеси поместить в термостат при 38-40°C. Каждые 15 минут из стаканчиков отбирать по 2 мл смеси (пипетками для контроля и опыта) для последующего титрования. Забор проб провести 3-4 раза			
2 этап. Титрование. Проводить в колбах (Колбы перед каждым последующим забором проб тщательно мыть!)			
5	Фенолфталеин, капли	1-2	1-2
6	0,1 М раствор NaOH	титровать до слабо-розового окрашивания	
Результаты титрования: количество 0,1 М NaOH в мл, что пошёл на нейтрализацию жирных кислот			
1	0 мин (1 проба)		
2	15 мин (2 проба)		
3	30 мин (3 проба)		
4	45 мин (4 проба)		

Составить график активности липазы в присутствии желчи и без неё



Тема 21 « Липолиз. Окисление жирных кислот и глицерина»

1. Актуальность темы: Основную массу липидов тела человека составляют триацилглицеролы (нейтральные жиры), что запасаются в большинстве тканей, особенно в жировой. Поскольку жиры выполняют энергетическую функцию, то и обновление липидов и их использование в качестве источника энергии требует предварительного внутриклеточного их гидролиза. При окислении жирных кислот высвобождается значительно больше химической энергии, чем при катаболизме углеводов и белков. Эта энергия используется организмом во время голодания и выполнения тяжелой физической работы.

2. Общая цель: сформировать понятие о путях катаболизма липидов в организме и их использования в качестве источника энергии.

3. Конкретные цели:

- трактовать основные пути использования жиров в организме
- знать механизм, ферменты и продукты внутриклеточного липолиза, роль гормонов в его регуляции
- трактовать роль карнитиновой системы транспорта жирных кислот из цитоплазмы в митохондрии
- знать механизм, ферменты и коферменты β -окисления жирных кислот (насыщенных и ненасыщенных) и глицерола
- уметь рассчитать энергетический баланс полного окисления жирных кислот, глицерола и молекулы нейтрального жира

4. Литература:

Основная

4.1. Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин “Биологическая химия” 1998, М., с. 370-378.

4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.3. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М. Мир, 1985, в 3-х томах

4.4. А. М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии”, Одесса, 1994

4.5. А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов “Основы патохимии” Санкт-Петербург, 2001

5. Основные вопросы занятия:

1. Внутриклеточный липолиз: определение, локализация, биологическое значение.
2. Катаболизм триацилглицеролов: механизм, ферменты, регуляция. Активация гормонзависимого фермента липолиза - триглицеридлипазы.
3. Нейрогуморальная регуляция липолиза: роль адреналина, глюкагона, инсулина, соматотропина.
4. Активация жирных кислот, роль карнитина в транспорте жирных кислот в митохондриях.
5. β -окисление жирных кислот: локализация, последовательность ферментативных реакций, энергетика окисления
6. Особенности окисления ненасыщенных жирных кислот и глицерола и их энергетический баланс.
7. Энергетический баланс полного окисления молекулы нейтрального жира

6. Задания для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Гормональная регуляция липолиза
2. Роль инсулина в регуляции липолиза

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. В клинику попала годовалый ребенок с признаками поражения мышц конечностей и туловища. После обследования обнаружен дефицит карнитина в мышцах. Биохимической основой этой патологии является нарушение процесса:
 - A. субстратного фосфорилирования
 - B. регуляции уровня Ca^{2+} в митохондриях
 - C. транспорта жирных кислот в митохондриях
 - D. утилизации молочной кислоты
 - E. окислительного фосфорилирования
2. В больницу поступил человек, который долгое время находился в стрессовом состоянии. Уровень жирных кислот в крови значительно превышает норму, что вероятнее всего обусловлено повышением активности:
 - A. панкреатической триглицеридлипазы
 - B. тканевой триглицеридлипазы
 - C. липопропротеинлипазы
 - D. ацетил-КоА-карбоксилазы
 - E. фосфолипазы A2
3. Пациентке с ожирением как пищевую добавку рекомендован карнитин, который:
 - A. активирует внутриклеточный липолиз
 - B. усиливает распад холестерина
 - C. активирует жирные кислоты
 - D. способствует распаду глюкозы
 - E. способствует окислению жирных кислот
4. При постоянной физической нагрузке содержание жира в жировых депо уменьшается. Жир выходит в кровь в форме:
 - A. свободных жирных кислот и глицерола
 - B. хиломикронов
 - C. липопротеинов
 - D. кетоновых тел
 - E. глюкозы
5. Инактивирует внутриклеточную триглицеридлипазу путем дефосфорилирования фермент:
 - A. протеинфосфатаза
 - B. аденилатциклаза
 - C. протеинкиназа
 - D. фосфолипаза
 - E. гуанилатциклаза

6. Длительный отрицательный эмоциональный стресс, сопровождающийся выбросом катехоламинов, может вызвать заметное похудение. Это связано с
- А усилением липолиза
 - В нарушением пищеварения
 - С усилением окислительного фосфорилирования
 - Д нарушением синтеза липидов
 - Е усилением распада белков
7. Снижает скорость липолиза в жировой ткани гормон;
- А. инсулин
 - В. адреналин
 - С. гидрокортизон
 - Д. соматотропин
 - Е. норадреналин
8. В крови больных сахарным диабетом наблюдается повышение содержания свободных жирных кислот (НЭЖК). Причиной этого может быть:
- А. повышение активности триглицеридлипазы адипоцитов
 - В. накопление в цитозоле пальмитоил-КоА
 - С. активация утилизации кетоновых тел
 - Д. активация синтеза аполипопротеинов А-1, А-2, А-4.
 - Е. снижение активности фосфатидилхолин-холестерин-ацилтрансферазы крови

8. Лабораторная работа: Определение суммы триглицеридов и фосфолипидов

Принцип. Липиды экстрагируются органическими растворителями (смесью этанола и диэтилового эфира). Липиды с сложноэфирной связью реагируют с гидроксиламином в щелочной среде с образованием гидроксамата, который в кислой среде окрашивается раствором феррум(III) хлорида. В норме количество сложноэфирных связей не более 4 ммоль/л.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка	
		№ 1 (опыт)	№ 2 (контроль)
1	Липидный экстракт, мл	0,2	-
2	H ₂ O, мл	-	0,2
3	13,9% раствор гидроксиламинхлорида, мл	0,5	0,5
4	3,5 М раствор натрия гидроксида (NaOH), мл	0,5	0,5
Икубировать 15 минут при комнатной температуре			
5	12% раствор хлоридной кислоты (HCl), мл	1	1
6	10% раствор FeCl ₃ , мл	0,5	0,5
Фотометрировать на ФЭК при λ=540 нм в кювете l=0,5 см против контроля			
Экстинция (ед.опт. плотности)			-
Содержание суммы триглицеридов и фосфолипидов, ммоль/л			

Расчёт содержания липидов проводят по формуле:

$$C = E \text{ пробы} \times 5,71 = \text{_____} \text{ ммоль/л;}$$

где 5,71 - коэффициент, полученный на основе определения экстинции стандартного раствора липидов с концентрацией 2 ммоль/л (Ест. = 0,35, коэффициент: $2/0,35 = 5,71$).

Тема 22. « Липогенез. Синтез жирных кислот, триацилглицеролов и фосфоглицеролипидов. Липотропные и липогенные факторы»

1. Актуальность темы: биосинтез жирных кислот из глюкозы с последующим их использованием для синтеза триацилглицеролов - это главный путь аккумуляции энергии, поскольку способность большинства клеток образовывать гликоген ограничено. Пищевая глюкоза, количество которой превышает энергетические потребности организма, легко

превращается в жирные кислоты в адипоцитах жировой ткани, гепатоцитах, эпителиальных клетках молочной железы в период лактации. Триацилглицеролы (триглицериды, нейтральные жиры) накапливаются главным образом в адипоцитах жировой ткани и выполняют функцию метаболического топлива. Масса жиров в организме здорового взрослого человека составляет около 12 кг, что достаточно для поддержания жизни при полном голодании около 40 суток. Интенсивный биосинтез жиров также происходит в гепатоцитах, кишечнике, молочной железе во время лактации.

Фосфоглицеролипиды выполняют преимущественно пластическую функцию - входят в состав биологических мембран. Они имеют общее с триглицеридами промежуточное соединение для их синтеза - фосфатидную кислоту, поэтому пути их синтеза рассматриваются вместе

2. Общая цель: сформировать представление о метаболических источниках и путях синтеза насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, триацилглицеролов и фосфоглицеролипидов в живом организме

3. Конкретные цели:

- знать метаболические источники синтеза жирных кислот, челночный механизм транспорта ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль, образования малонил-КоА и роль в этом процессе биотина
- знать ферменты, коферменты, механизм и регуляцию биосинтеза насыщенных жирных кислот, особенности образования ненасыщенных жирных кислот
- трактовать метаболические источники и механизм синтеза нейтральных жиров и фосфоглицеролипидов
- знать примеры и механизм действия липотропных и липогенного факторов

4. Литература

Основная

- 4.1. Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин “Биологическая химия” 1998, М., с. 370-378
- 4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

- 4.3. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М. Мир, 1985, в 3-х томах
- 4.4. А. М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии”, Одесса 1994
- 4.5. А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов “Основы патохимии” Санкт-Петербург, 2001

5. Основные вопросы занятия:

1. Метаболические источники синтеза жирных кислот. Цитратный механизм транспорта ацетил-КоА в цитозоль
2. Синтез малонил-КоА, роль биотина в этом процессе
3. Биосинтез жирных кислот: ферменты, коферменты, строение ацилтранспортирующего протеина, механизм. Особенности образования ненасыщенных жирных кислот
4. Липогенез: механизм образования активной формы глицерола (глицерол-3-фосфата) в жировой ткани и печени, синтез фосфатидной кислоты и ее биологическое значение
5. Липогенез: механизм и регуляция биосинтеза триацилглицеролов
6. Синтез фосфоглицеролипидов (фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина): роль фосфатидной кислоты, ЦТФ и метионина.
7. Липотропные и липогенные факторы: определение, представители, механизм действия и медико-биологического значения

6. Задания для самостоятельной внеаудиторной работы:

1. Биологическое значение полиненасыщенных жирных кислот и их синтез в организме
2. Роль витаминов в биосинтезе фосфоглицеролипидов

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Больному 65 лет с признаками общего ожирения, жировой дистрофией печени рекомендуется диета, обогащенную липотропными веществами, к которым относится:
 - A. витамин С
 - B. метионин
 - C. глюкоза
 - D. оксалоацетат
 - E. цитрат
2. Пациенту пожилого возраста с целью предупреждения развития жировой инфильтрации печени рекомендуется употреблять в пищу творог. Какая незаменимая аминокислота, необходимая для синтеза фосфолипидов, есть в этом продукте?
 - A. валин
 - B. аргинин
 - C. лизин
 - D. метионин
 - E. пролин
3. Линолевая кислота в организме человека:
 - A. синтезируется из арахидоновой кислоты
 - B. синтезируется из пальмитиновой кислоты
 - C. синтезируется из линоленовой кислоты
 - D. не синтезируется
 - E. синтезируется из олеиновой кислоты
4. Активирует липогенез гормон:
 - A. инсулин
 - B. адреналин
 - C. норадреналин
 - D. паратгормон
 - E. глюкагон
5. Для синтеза нейтральных жиров как непосредственные предшественники необходимы:
 - A. ацил-КоА эфиры и глицерол-3-фосфат
 - B. жирные кислоты и глицерин-3-фосфат
 - C. ацил-КоА эфиры и глицерин
 - D. жирные кислоты и глицерин
 - E. ацил-КоА эфиры и фосфоглицерат
6. При непоступлении или недостаточном образовании в организме человека липотропных факторов у него развивается жировое перерождение печени. Какое из приведенных веществ можно отнести к липотропным?
 - A. холин
 - B. холестерин
 - C. триацилглицериды
 - D. жирные кислоты
 - E. рибофлавин
7. Экспериментальному животному давали избыточное количество глюкозы, меченной по углероду, в течение недели. В каком веществе можно обнаружить метку?
 - A. пальмитиновой кислоте
 - B. метионине
 - C. витамине А
 - D. холине
 - E. арахидоновой кислоте

8. Лабораторная работа: Определение йодного числа

Принцип. Определение йодного числа основано на способности ненасыщенных жирных кислот присоединять йод по месту расщепления двойных связей. Йодное число - это количество йода в граммах, присоединяется к 100 г жира. По йодному числу можно определить вид жира.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Колба (на 500мл)	
		№ 1 (опыт)	№ 2 (контроль)
1	Навеска жира, грамм	0,1	-
2	Этанол, мл	5	5
3	Спиртовый раствор йода ($C_{10}H = 0,1$ моль), мл	10	10
4	H ₂ O, мл	до 200 мл	до 200 мл
Интенсивно перемешать. Икубировать 5 минут при комнатной температуре			
Титровать избыток йода 0,1 N раствором натрий тиосульфата в присутствии крахмала			
5	Крахмал, капли	1-2	1-2
6	0,1 N раствор Na ₂ S ₂ O ₃	Титровать до полного исчезновения синего окрашивания смеси	
Результат (объём тиосульфата), мл			

Расчёт йодного числа (x) производят по формуле:

$$(A - B) \cdot 12,692 \cdot 100$$

$$X = \frac{\quad}{0,1 \cdot 1000} \quad , \text{ где:}$$

A - объём тиосульфата, пошедший на титрование контроля B - объём тиосульфата, пошедший на титрование опыта; 12,692 - количество йода (мг), которое оттитровывается 1 мл 0,1 N раствора Na₂S₂O₃, 100 - пересчет на 100 г жира 0,1 - навеска жира в граммах; 1000 - коэффициент перерасчет мг йода в граммы

Физические и химические константы некоторых липидов

Название жира	Показатель преломления	Йодное число
Жир человека	1,452—1,457	62,5—73,3
Сливочное масло	1,475—1,476	26—38
Подсолнечное масло	1,475—1,476	118—120
Рибий жир	1,475—1,485	150—175
Касторовое масло	1,447—1,478	31—91

Йодное число исследуемого жира: _____

Тема 23. « Метаболизм кетоновых тел и сфинголипидов »

1. Актуальность темы: сфинголипиды - сложные липиды биологических мембран, продукты обмена которых служат сигнальными молекулами. Аномальное накопление сфинголипидов в головном мозге (вследствие врожденных нарушений их катаболизма) ведет к тяжелым нервно-психическим расстройствам.

Кетоновые (ацетоновые) тела - производные липидов, которые служат альтернативным метаболическим топливом в организме. Основным путем утилизации ацетил-КоА, образующегося в результате катаболизма жирных кислот, является окисление в ЦТК до CO₂ и H₂O. Однако, в печени существует другой путь использования ацетил-КоА - его превращение в кетоновые тела (кетогенез). Кетоновые тела из гепатоцитов поступают в миокард, мозг, скелетные мышцы, где распадаются с образованием энергии (кетолит). В условиях дефицита оксалоацетата в митохондриях (что бывает при голодании и сахарном диабете) катаболизм ацетил-КоА в ЦТК подавляется, поэтому в гепатоцитах значительно

усиливается кетогенез. Неконтролируемое нарастание кетоновых тел в крови и клетках приводит к метаболическому кетоацидозу, который вызывает расстройства функций клеток головного мозга и даже смерть.

2. Общая цель: сформировать понятие об особенностях метаболизма обмена сфинголипидов и кетоновых тел, биологическую роль, причины и проявления нарушений их обмена

3. Конкретные цели:

- трактовать пути синтеза и распада сфинголипидов в клетках
- знать причины и проявления генетических аномалий метаболизма сфинголипидов
- знать устройство и физиологическую роль кетоновых тел, механизмы их биосинтеза (кетогенез) и утилизации (кетолиз), органную и клеточную локализацию процессов
- трактовать патологию метаболизма кетоновых тел, знать примеры и механизм действия кетогенных и антикетогенных факторов

4. Литература:

Основная

4.1. Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин “Биологическая химия” 1998, М., с. 370-378

4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.3. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М. Мир, 1985, в 3-х томах

4.4. А. М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии”, Одесса, 1994

5. Основные вопросы занятия:

1. Схема синтеза сфинголипидов
2. Катаболизм сфинголипидов
3. Генетические аномалии метаболизма сфинголипидов
4. Кетоновые (ацетоновые) тела: определение, структура, биологическое значение. Норма содержания кетоновых тел в крови.
5. Биосинтез кетоновых тел (кетогенез): субстраты, клеточная и органная локализация, механизм, ферменты, коферменты
6. Распад кетоновых тел (кетолиз): клеточная и органная локализация, механизм, ферменты, коферменты
7. Патология метаболизма кетоновых тел: причины и основные клинико-биохимические проявления (понятие о Кетонемия и кетонурии). Кетогенная и антикетогенно факторы

6. Задания для самостоятельной внеаудиторной работы:

Патология обмена гликолипидов

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. У двухлетнего ребенка отставание в психомоторном развитии, снижение слуха и зрения, увеличены печень и селезенка. Диагностирована наследственная болезнь Нимана-Пика.

Причиной заболевания является генетический дефект:

- A. сфингомиелиназы
- B. глюкозо-6-фосфатазы
- C. амило-1,6-гликозидазы
- D. кислой липазы
- E. ксантиноксидазы

2. При обследовании 6-летнего ребенка обнаружено, что ребенок не фиксирует взгляд, не следит за игрушками, на глазном дне симптом "вишневой косточки". Лабораторные

исследования показали возросший уровень ганглиозидов в мозге, печени и селезенке. У ребенка наследственная болезнь:

- A. Тея-Сакса
- B. Вильсона-Коновалова
- C. Шерешевского-Тернера
- D. Нимана-Пика
- E. Мак-Аргдля

3. У больного при голодании как следствие усиленного распада жирных кислот развился кетоацидоз, который тормозится:

- A. глюкагоном
- B. адреналином
- C. тироксином
- D. соматропином
- E. инсулином

4. У больного сахарным диабетом развилась кетоацидотическая кома. Причиной развития кетонемии являются:

- A. активация окисления жирных кислот в печени
- B. снижение синтеза белков
- C. синтез гликогена в печени
- D. активация глюконеогенеза из аминокислот
- E. усиление катаболизма пуриновых нуклеотидов

5. При дефиците оксалоацетата накапливаются ацетоновые тела потому, что:

- A. тормозится окисление кетоновых тел в тканях
- B. блокируется окисления ацетил-КоА в ЦТК
- C. нарушается их выведение почками
- D. активируется преобразования ацетил-КоА в жирные кислоты
- E. активируется ЦТК

8. Лабораторная работа: Определение содержания кетоновых тел в моче

8.1. Количественное определение кетоновых тел в моче

Принцип. Кетоновые тела реагируют с натрий нитропруссидом с образованием окрашенного соединения. При наложении аммиака на смесь мочи, содержащей кетоновые тела, ацетатной кислоты и нитропрussa натрия, на границе двух фаз образуется фиолетовое кольцо. Эмпирически установлено, что минимальная концентрация кетоновых тел, при которой фиолетовое кольцо визуализируется через 3-4 минуты, составляет 146,2 мкмоль/л. В норме кетоновые тела экскретируются с мочой в количестве 344,3-860,8 ммоль/сутки (20-50 мг/сут).

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирки							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Разведение мочи:		1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
1	H ₂ O, мл	-	1	1	1	1	1	1	1
2	Моча, мл	1	1	Последовательно перенести 1 мл смеси из 2 пробирки в 3-тью, из 3-тней в 4-тую и т. д. Из последней пробирки 1 мл смеси вылить					
3	50% раствор аммоний сульфата (для увеличения плотности), капли	8	8	8	8	8	8	8	8
4	10% раствор натрий нитропрussa, капли	8	8	8	8	8	8	8	8
5	Ацетатная кислота	8	8	8	8	8	8	8	8

	концентрированная, капли								
6	Аммиак, капли (осторожно наслоить!)	16	16	16	16	16	16	16	16
Регистрация наличия кольца									
Расчёт количества кетоновых тел в 1 мл мочи		$C_1 = A \cdot 146,2 \text{ мкмоль/л} = \underline{\hspace{2cm}} \text{ мкмоль/л}$ <p style="text-align: center;">А - разведение мочи в последней пробирке, где регистрируется кольцо</p>							
Экскреция кетоновых тел за сутки, ммоль/сут		$C_1 \cdot 1,5 \text{ (суточный диурез в л)} = \underline{\hspace{2cm}}$ <p style="text-align: center;">ммоль/добу</p>							

8.2. Экспресс-метод определения кетоновых тел в моче

Принцип Для полуколичественного определения (экспресс-анализа) содержания кетоновых тел в моче используют специальные тест-полоски. Тест-полоски содержат чувствительны к кетоновым тел реактивы, которые меняют цвет в их присутствии. Интенсивность окраски тест-полоски прямо пропорциональна концентрации кетоновых тел и регистрируется визуально - по цветовой шкале. Экспресс-методом можно обнаружить кетоновые тела в моче диапазоне 0,3-0,5 мМ. В клинических лабораториях довольно часто используют тест-системы, которые позволяют обнаруживать кетоновые тела в моче одновременно с глюкозой. Примеры тест-систем - Урискан, Урикет, Кетофан, Cormay Uritest и др.. Клинико-диагностическое значение. У здорового человека с мочой выделяется столь малое количество ацетоновых тел, практически она не определяется обычными методами. Кетонурия (резкое увеличение кетоновых тел в моче) наблюдается в результате их усиленного образования и нарушения процесса окисления. Наблюдается при: сахарном диабете, голодании, кахексии, тиреотоксикозах, акромегалии, инфекционных заболеваниях, интоксикациях и т.д..

Ход работы: Для определения содержания кетоновых тел каплю мочи наносят на индикаторную зону тест-полоски. Через 2 минуты окраски индикатора сравнивают со стандартной цветной шкалой, нанесенной на поверхность футляра, где хранятся тест-полоски.

Тема 24. «Обмен холестерина. Регуляция и патология липидного обмена»

1. Актуальность темы: важное место в физиологии и патологии человека занимает метаболизм холестерина, который является важным компонентом биомембран, предшественником желчных кислот, стероидных гормонов и витамина D. Нарушение транспорта холестерина и триацилглицеролов является предпосылкой возникновения многих заболеваний у человека, и прежде всего сердечно-сосудистой патологии.

2. Общая цель: сформировать понятие об основных источниках, биологической роли и особенностях метаболизма холестерина в организме, а также роль нарушений липидного обмена в патологии.

3. Конкретные цели:

- знать строение, основные источники и биологическое значение холестерина;
- знать субстраты, ферменты, коферменты, механизм синтеза холестерина;
- трактовать регуляцию обмена холестерина, роль ГМК-КоА-редуктазы;
- знать пути вывода холестерина из организма;
- знать примеры и клинико-биохимические признаки патологии обмена липидов.

4. Литература:

Основная

4.1. Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин “Биологическая химия” 1998, М., с. 370-378.

4.2. Лекции, читаемые на кафедре

Дополнительная

4.3. А. Ленинджер “Основы биохимии”, М. Мир, 1985, в 3-х томах

4.4. А. М. Горячковский “Справочное пособие по клинической биохимии”, Одесса, 1994

4.5. А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов “Основы патохимии” Санкт-Петербург, 2001

5. Основные вопросы занятия:

1. Холестерин: определение, структура, биологическое значение
2. Биосинтез холестерина: субстраты, ферменты, коферменты, механизм (образование мевалоновой кислоты, роль ГМГ-КоА-редуктазы) и регуляция.
3. Пути выведения холестерина из организма
4. Нейрогуморальная регуляция липидного обмена
5. Патология липидного обмена: атеросклероз, ожирение, желчно-каменная болезнь

6. Задания для самостоятельной внеаудиторной работы:

Роль гормонов жировой ткани - адипокинов в регуляции липидного обмена

7. Задания для закрепления материала и самоконтроля:

Тесты для проверки конечного уровня знаний из банка данных «Крок-1»

1. Врачу необходимо оценить риск возникновения атеросклероза у пациента. Наиболее информативными показателями липидного обмена в этом случае являются:

- A. ЛПНП и ЛПВП
- B. хиломикроны и триглицериды
- C. общие липиды и триглицериды
- D. триглицериды и ЛПОНП
- E. фосфолипиды и жирные кислоты

2. Из анамнеза мужчины 28 лет, у которого обнаружены признаки атеросклероза, выяснилось, что его отец рано умер от инфаркта миокарда. Врач предположил наличие у больного семейной (наследственной) гиперхолестеринемии и атеросклероза. Анализ крови показал значительное увеличение ЛПНП, вероятной причиной которого являются:

- A. отсутствие рецепторов ЛПНП в периферических тканях
- B. отсутствие рецепторов ЛПНП в печени
- C. снижение активности липопротеинлипазы
- D. снижение γ -глобулинов в крови
- E. повышение активности ЛХАТ

3. Жалобы и объективные данные позволяют предположить наличие у больного воспалительного процесса в желчном пузыре, нарушение коллоидных свойств желчи, вероятность образования желчных камней. Главным образом повлиять на их образование может:

- A. холестерин
- B. ураты
- C. оксалаты
- D. хлориды
- E. фосфаты

4. В результате длительного употребления жирной пищи у больного развилась алиментарная гиперлипемия, которая проявляется повышением содержания в крови:

- A. гликолипидов
- B. фосфолипидов
- C. холестерина
- D. триглицеридов
- E. свободных жирных кислот

5. Среди атеросклеротических препаратов, применяемых для профилактики и лечения атеросклероза, является левостатин. Он действует путем:
- А. торможения биосинтеза холестерина
 - В. угнетения всасывания холестерина в кишечнике
 - С. активации метаболизма холестерина
 - Д. стимулирования экскреции холестерина из организма
 - Е. всеми приведенными путями
6. У мужчины 58 лет имеются признаки атеросклеротического поражения сердечно-сосудистой системы. Увеличение какого из перечисленных ниже показателей биохимического анализа крови наиболее характерно для этого состояния?
- А. уровня ЛПВП (альфа-липопротеинов)
 - В. гликопротеинов
 - С. уровня ЛПНП (бета-липопротеинов)
 - Д. активности аланинминотрансферазы
 - Е. активности сукцинатдегидрогеназы
7. Больной страдает гипертонией, атеросклеротическое поражение сосудов. Употребление какого липида ему необходимо снизить в суточном рационе.
- А. лецитина
 - В. олеиновой кислоты
 - С. холестерина
 - Д. моноолеатглицерида
 - Е. фосфатидилсерина
8. При обследовании подростка, страдающего ксантоматозом, обнаружена семейная гиперхолестеринемия. Концентрация каких липопротеинов значительно повышена в крови при данной патологии?
- А ЛПНП
 - В хиломикронов
 - С ЛПОНП
 - Д ЛПВП
 - Е НЭЖК

8. Лабораторная работа: Качественное и количественное определение холестерина

1. Качественная реакция на холестерол с серной кислотой

Принцип. При взаимодействии серной кислоты с холестерином образуются окрашенные продукты распада холестерина.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1	Холестерин (кристаллический)	несколько кристаллов
2	Хлороформ	10 капель
3	Концентрированная сульфатная кислота (осторожно наложить по стенке пробирки)	16 капель
Регистрация окрашивания		

2. Микрометод количественного определения фракций холестерина в сыворотке крови по Станкевичене

Принцип. Определение фракций холестерина основано на реакции их взаимодействия с цветным реактивом (3 части 0,1% раствора феррум хлорида (III) в ледовой ацетатной кислоте и 2 частей концентрированной серной кислоты) при различных температурных условиях. Свободный холестерин вступает в реакцию при комнатной температуре, а эфирносвязанный - при 100° С. В норме общего холестерина в крови содержится 3 - 5 ммоль/л, свободного 1,4-3,0 ммоль/л. **Клинико-диагностическое значение.** Гиперхолестеринемия (увеличение содержания холестерина в крови) - фактор риска развития коронарного атеросклероза, ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда. Высокий уровень холестерина отмечается

при генетических нарушениях обмена липопротеинов - семейной холестеринемии. Вторичная гиперхолестеринемия имеет место при заболеваниях печени, поражениях почек, злокачественных опухолях поджелудочной железы, подагре, гипертонической болезни, ожирении, сахарном диабете.

Ход работы (алгоритм приведён в таблице):

№	Реактивы, последовательность добавления	Пробирка
1 этап. Определение свободного холестерина:		
1	Цветной реактив	2 мл
2	Сыворотка крови	0,04 мл
Смешать, икубировать 1 час при комнатной температуре		
Фотометрировать на ФЭК при $\lambda=540$ нм в кювете 5 мм против контроля (цветной реактив)		
2 этап. Определение общего холестерина:		
Жидкость из кюветы, в которой определяли свободный холестерин, вылить в пробирку. Кипятить 3 минуты (100°C). Охладить. Фотометрировать на ФЭК при $\lambda=540$ нм в кювете 5 мм против контроля		
Результат 1 измерения (свободный холестерин), ед. оп. пл.		$E_1=$
Результат 2 измерения (общий холестерин), ед. оп. пл.		$E_2=$

Количество холестерина в мкг в пробе находят по калибровочному графику:

Свободный холестерин (E_1): _____ мкг; Общий холестерин (E_2): _____ мкг

Расчёт содержания холестерина в сыворотке крови в ммоль / л по формуле:

$$a \cdot 100 \cdot 0,0259$$

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 0,0259}{0,04 \cdot 1000 \text{ ммоль/л}}, \text{ где}$$

a - количество холестерина в мкг (найденная по калибровочному графику);

100 - пересчет на 100 мл крови; 1000 - перерасчет мкг в мг 0,0259 - коэффициент перерасчета мг% в ммоль/л; 0,04 - объем сыворотки крови, мл.

Эфирносвязанный холестерин определяют как разницу между общим и свободным холестерином.

Результат:

Свободный холестерин: _____ ммоль / л

Общий холестерин: _____ ммоль / л

Эфирносвязанный холестерин: _____ ммоль / л

Тема 25. Итоговое занятие «Метаболизм углеводов, липидов и их регуляция»

Теоретические вопросы

1. Углеводы: определение, классификация, строение, биологическое значение
2. Пищевое значение углеводов (суточная потребность, энергетическая ценность, пищевые источники). Пищевые волокна (норма в рационе, значение)
3. Пищеварение углеводов: характеристика ферментов-гликозидаз, пристеночное пищеварение, всасывание продуктов гидролиза. Недостаточность дисахаридаз
4. Анаэробный гликолиз: определение, локализация, механизм. Реакции субстратного фосфорилирования и гликолитической оксидоредукции
5. Регуляция и биологическое значение анаэробного гликолиза. Роль гликолиза в патологии (гипоксия, анемия, канцерогенез)
6. Спиртовое брожение: определение, локализация, механизм, подобие и отличие с гликолизом.
7. Аэробное окисление глюкозы: определение, локализация, основные этапы, энергетический баланс

8. Сравнительная характеристика анаэробного гликолиза и аэробного окисления глюкозы (локализация, механизм, энергетический баланс)
9. Пентозофосфатный цикл: определение, локализация, основные этапы, биологическое значение. Энзимопатии глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы
10. Глюконеогенез: определение, локализация, механизм, регуляция и биологическое значение
11. Субстраты глюконеогенеза. Характеристика и биологическое значение глюкозо-лактатного и глюкозо-аланинового циклов
12. Метаболизм и биологическое значение фруктозы. Наследственные энзимопатии обмена фруктозы
13. Метаболизм и биологическое значение галактозы. Наследственные энзимопатии обмена галактозы
14. Гликогенез (синтез гликогена): определение, локализация, механизм, регуляция и биологическое значение. Агликогенозы
15. Гликогенолиз (распад гликогена): определение, локализация, механизмы, биологическое значение. Аденилатциклазный путь регуляции гликогенолиза. Гликогеноз
16. Гликоконъюгаты: определение, виды, биологическая роль, механизмы синтеза и распада. Гликозидозы (мукополисахаридозы)
17. Нейрогуморальная регуляция углеводного обмена. Роль печени в обмене углеводов
18. Содержимое глюкозы в сыворотке крови в норме и при патологии. Гипо- и гипергликемии, глюкозурии: определение, виды и причины
19. Сахарный диабет: виды, причины, клиническая и биохимическая диагностика
20. Липиды: определение, классификация, строение, биологическое значение отдельных классов
21. Биомембраны: строение, биофизические свойства, функции. Мембранный транспорт
22. Перекисное окисление липидов (ПОЛ). Каскад арахидоновой кислоты. Продукты ПОЛ и их биомедицинское значение
23. Пищевое значение липидов (суточная потребность, энергетическая ценность, пищевые источники)
24. Пищеварение липидов: особенности гидролиза триацилглицеролов, фосфолипидов, стеридов в желудочно-кишечном тракте, всасывание его продуктов гидролиза. Желчные кислоты: виды, образования, биологическое значение
25. Катаболизм триацилглицерола (внутриклеточный липолиз): локализация, механизм, биологическое значение, гормональная регуляция
26. β -окисление жирных кислот: локализация, механизм, основные этапы, роль карнитина
27. Расчет энергетического баланса полного окисления насыщенных, ненасыщенных жирных кислот и триацилглицеролов (нейтральных жиров)
28. Окисление глицерола в аэробных условиях: локализация, механизм, энергетический баланс
29. Биосинтез жирных кислот: локализация, механизм, основные этапы, роль биотина. Характеристика синтазы жирных кислот
30. Особенности синтеза и окисления ненасыщенных жирных кислот. Эссенциальные жирные кислоты и их биологическое значение
31. Липогенез - биосинтез триацилглицеролов (нейтральных жиров): локализация, источники, основные этапы, регуляция, биологическое значение
32. Биосинтез глицерофосфолипидов (фосфоглицеридов): локализация, механизм, регуляция, биологическое значение. Липотропные и липогенные факторы
33. Биосинтез и распад сфинголипида (сфингомиелина, гликолипидов): локализация, механизм, биологическое значение. Сфинголипидозы
34. Кетоновые (ацетоновые) тела: строение, биологическое значение, норма содержания в крови. Кетонемия и кетонурия

35. Кетогенез и кетолиз: определение, локализация, механизмы. Кетогенные и антикетогенные факторы
36. Холестерол: строение, биологическое значение, норма содержания в крови. Гиперхолестеролемиа и ее последствия
37. Биосинтез холестерола: локализация, основные этапы и регуляция. Пути выведения холестерола
38. Транспортные формы липидов: строение, химический состав и значение отдельных классов. Атерогенные и антиатерогенные липопротеины
39. Нейрогуморальная регуляция липидного обмена. Роль печени в обмене липидов.
40. Патология липидного обмена (атеросклероз, ожирение, желчнокаменная болезнь)