

*Аннотация
каждого
раздела*

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
КЫРГЫЗСКО-РОССИЙСКИЙ СЛАВЯНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Э.М. КУЧУК

МЕТОДИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ
ЗАНЯТИЙ
ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

БИШКЕК 2007

УДК 577.1(07)

ББК 28.91

К 95

Кучук Э.М.

К 95 Методические разработки занятий по биологической химии / КРСУ. – Б.: 2006. – 120 с.

ISBN 9967-05-190-6

Методические указания по биохимии предназначены для самостоятельной подготовки студентов и проведения лабораторно-практических и семинарских занятий со студентами лечебного, педиатрического и санитарно-гигиенического факультетов медицинского ВУЗа и медицинского факультета университета.

Рецензенты:

д-р мед. наук, проф. *А.Д. Джумалиев*,

д-р мед. наук, проф. *З.А. Лутинская*,

канд. мед. наук, проф. *А.Г. Зарифьян*

Рекомендовано кафедрой медико-биологических
и медико-психологических дисциплин и утверждено РИСО КРСУ

К 1903010000-06

ISBN 9967-05-190-6

УДК 577.1(07)

ББК 28.91

© КРСУ, 2006

ПРЕДИСЛОВИЕ

Биохимия - молекулярная логика живых организмов. Изучение биохимии, как базовой основы клинических дисциплин, составляет важнейшую задачу в профессиональной подготовке студентов медиков. Немаловажное значение в решении этих задач играют методические указания по проведению лабораторно-практических, семинарских занятий и коллоквиумов. Предлагаемые методические разработки занятий по биохимии составлены в соответствии с программой курса и новейших достижений в области преподавания биохимии.

Материал курса построен с учетом интеграции со смежными дисциплинами медико-биологического профиля, логической взаимосвязи тем различных разделов курса биохимии и значимости изучаемых тем и разделов биохимии при изучении клинических дисциплин.

Методические указания включают описания 36 лабораторно-практических занятий, семинаров и коллоквиумов по 10 разделам курса. В каждом задании поставлены целевые задачи, теоретические вопросы, даны указания по выполнению биохимических исследований, составлению отчетов по работе. Методическую разработку завершают контрольные вопросы и ситуационные задачи, которые рассматриваются на коллоквиуме.

В процессе выполнения практикума каждый студент должен приобрести общие навыки самостоятельной лабораторной работы и практически освоить ряд конкретных приемов биохимического анализа. В большинство занятий внесены элементы научного исследования (решение задач качественного и количественного характера, исследование биологических жидкостей - крови, мочи, желудочного сока, а также органов и тканей экспериментальных животных и т.д.).

В практикум включены современные методы, использующиеся в клинико-лабораторной практике, а так же экспресс-методы скринирующего анализа по выявлению ряда наследственных заболеваний и изучения негативного воздействия факторов окружающей среды на организм.

ОСОБЕННОСТИ РАБОТЫ В БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Работа в биохимической лаборатории, как и в любой химической лаборатории, требует высокой дисциплины труда, знаний правил техники безопасности, умения оказать первую неотложную помощь и принять меры по ликвидации последствий несчастных случаев.

Правила техники безопасности в биохимической лаборатории

1. Студенты проходят инструктаж по технике безопасности в химической лаборатории и только после этого могут быть допущены к лабораторным занятиям.
2. Дежурные студенты следят за порядком в лаборатории и строгим соблюдением техники безопасности.
3. Работы в лаборатории проводят в рабочей одежде - халат, чепчик.
4. Организация рабочего места - рабочий стол должен быть чистым и не загромождаться ненужными в данной работе предметами. Реактивы должны стоять на полках и использоваться по мере необходимости.
5. Работы выполнять последовательно, по предварительно изученным методическим разработкам, аккуратно, без спешки, которая может привести к несчастному случаю.
6. Строго соблюдать меры предосторожности при работе с сильнодействующими реактивами и взрывоопасными веществами. Не пробовать на вкус или нюхать неизвестные вещества.
7. Не проводить произвольного смешивания веществ, не зная результатов реакции. Это может привести к самовоспламенению.
8. Кислоты, щелочи и другие сильнодействующие реактивы отбирать только специальными пипетками со шприцами, с резиновыми баллончиками.
9. В случае попадания щелочей, кислот на лабораторный стол или пол следует их нейтрализовать и лишь затем вытирать.
10. При попадании кислот на одежду следует нейтрализовать их раствором аммиака, затем смыть водой.
11. Концентрированные растворы кислот, щелочей и других сильнодействующих реактивов нельзя выливать в раковину без предварительной нейтрализации.

12. Смешивая концентрированные кислоты с водой, лейте кислоту в воду, а не наоборот.

13. Нельзя оставлять открытыми склянки с концентрированными кислотами, щелочами и другими реактивами на рабочем месте.

14. Пробирки с нагреваемыми растворами следует держать отверстием от себя и окружающих во избежание разбрызгивания жидкости, что может привести к ожогам.

15. Нагревание пробирок необходимо проводить равномерно от верхнего уровня жидкости вниз.

16. Берегите глаза от попадания химических реактивов, особенно сильнодействующих.

17. С огнеопасными реактивами следует работать вдали от огня и работающих нагревательных приборов.

18. При возникновении пожара в лаборатории приступить к его ликвидации специальными или подручными средствами (песок, кошма, огнетушители, вода). При необходимости вызвать пожарную команду.

19. При работе с органическими растворителями следует избегать вдыхания их паров и помнить об их огнеопасности.

20. Во избежание ожогов при нагревании и прокаливании нагреваемых предметов (пробирок и других емкостей) необходимо применять специальные держатели.

21. Категорически запрещается в лаборатории хранить и принимать пищу, курить, прикасаться к губам, глазам, носу грязными руками, карандашом или авторучкой.

22. По окончании работы следует тщательно вымыть руки теплой водой с мылом.

23. По окончании работы дежурные студенты приводят рабочие места в порядок и сдают лабораторию дежурному лаборанту.

Медицинская помощь в химической лаборатории

Для оказания первой помощи во всех лабораториях должны быть бинты, гигроскопическая вата, 3% раствор йода, 2% раствор уксусной кислоты, 2% раствор борной кислоты, 3-5% раствор питьевой соды, 5% раствор KMnO_4 , 96% этиловый спирт.

Первая медицинская помощь:

1. При ожогах химическими веществами (кислотами, щелочами) пораженный участок кожи быстро промыть большим количеством во-

ды. Затем на обожженные места накладывать примочку (при ожогах кислотой - 2% раствор питьевой соды, щелочью - 2% раствор уксусной кислоты).

2. При термических ожогах обожженные места необходимо присыпать двууглекислым натрием (питьевая сода), крахмалом или тальком. Хорошо помогают примочки из свежеприготовленных растворов питьевой соды (2% раствор) или KMnO_4 (5% раствор). Лучшее средство - примочки этилового спирта (70-96%) - он обезболивает и обеззараживает.

3. При отравлениях химическими веществами - немедленное оказание первой помощи и вызов скорой помощи.

4. При попадании кислот и щелочей в глаз промыть его большим количеством воды, при попадании кислоты - 2% раствором питьевой соды, а при попадании щелочи - 2% раствором борной кислоты или слабым раствором уксусной кислоты.

5. При ранениях стеклом окружность раны смазать йодом и сделать повязку.

РАЗДЕЛ: Молекулярные основы структурной организации клетки

ЗАНЯТИЕ № 1

ТЕМА: Состав живой материи: биомолекулы. Белки и пептиды.
Уровни структурной организации и физико-химические свойства белков.

ЦЕЛЬ: Сформировать понятие о биомолекулах как основы структурно-функциональной организации живой материи.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Биоэлементы – структурные компоненты биомолекул.
2. Основные классы биомолекул.
3. Белки и пептиды. Глобулярные и фибриллярные белки. Особенности их аминокислотного состава. Уровни структурной организации. Связи, стабилизирующие эти структуры.
4. Физико-химические свойства белков и пептидов.
5. Образование активных форм биомолекул (белков). Роль воды и неорганических ионов в формировании и активации биомолекул.
6. Биологические функции белков и пептидов.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1990. - С. 16-60.
3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия. 1984. - С. 41-80.
4. Николаев А.Я. Биохимия. 1989. - С. 9-29, 36-48.
5. Строев Е.А. Биохимия. 1986. - С. 16-26, 35-51.
6. Ленинджер А. Биохимия. 1985. - Т.1. - С. 65-70.
7. Страйер Л. Биохимия. 1984. - Т.1. - С. 18-43.

П р а к т и к у м :

1. Кушманова, Изченко. 1974. - С. 16-18, 20-24.
2. Кушманова, Изченко. 1983. - С. 28.
3. Березов Т.Т. 1976. - С. 29-31, 19-21.

Лабораторно-практические работы

Выводы и результаты лабораторных работ оформить в виде таблиц:

РАБОТА №1. Диализ белка (практикум Березова, 1976. - С. 29-31)

Исследуемый материал	Проба на хлориды с AgNO_3		Проба на белок (биурет, р-р)	
	до диализа	после диализа	до диализа	после диализа
1. Промывная жидкость (дист. вода)				
2. Содержимое мешочка (белковый р-р, содер- жащий NaCl)				

В ы в о д ы :

РАБОТА №2. Определение изоэлектрической точки казеина. В шести пронумерованных пробирках готовят буферные растворы с различными значениями pH по схеме, указанной в таблице:

		Номер пробирки					
		1	2	3	4	5	6
		количество в мл кислоты и соли					
CH ₃ COOH	0,2 М	1	2	5	8	9	9,5
CH ₃ COONa	0,2 М	9	8	5	2	1	0,5
pH буферной смеси, интенсивность помутнения		5,7	5,35	4,75	4,15	3,8	3,4

Растворы в пробирках перемешивают и в каждую пробирку прибавляют по 1 мл р-ра казеина 0,1%. Содержимое каждой пробирки перемешивают и отмечают в таблице интенсивность помутнения: знаком +++ наиболее сильное, ++ - менее сильное, + слабое, - отсутствие помутнения.

Выводы: ИЗЭТ (I_p) казеина при рН.

РАБОТА №3. Осаждение белка при кипячении (Березов Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биохимии. 1976. - С.19-21)

№ п.п.	Исследуемый материал (10 кап.)	Употребляемые реактивы по 1 кап.	pH среды	Результат наличия осадка
1.	Р-р белка 1%	-	Нейтральная	
2.	"	CH ₃ COOH 1%	Слабокислая	
3.	"	CH ₃ COOH 10%	Сильнокислая	
4.	"	CH ₃ COOH 10% + NaCl	Сильнокислая	
	"	Насыщен.	Электролит	
5.	"	NaOH 10%	Щелочная	

Выводы:

РАБОТА №4. Осаждение белков солями тяжелых металлов
(Кушманова, 1974. - С. 23-24)

а) CuSO_4 10%

б) $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 5%

Выводы:

Контрольные вопросы и задачи к занятию №1

1. Биомолекулы. Основные классы. Их роль.
2. Аминокислоты. Их роль в организме. Незаменимые аминокислоты.
3. Характеристика первичной структуры белка. Понятие о полиморфизме белков.
4. Конформация белковых молекул: а) вторичная, б) третичная. Связи, стабилизирующие эти структуры. Зависимость конформации белков от первичной структуры.
5. Факторы, влияющие на формирование вторичной и третичной структуры.
6. Зависимость биологической активности белка от пространственной структуры молекулы и образования активного центра.
7. Четвертичная структура белка. Зависимость биологической активности от кооперативных изменений конформации протомеров (гемоглобин).
8. Сравнительная физико-химическая характеристика белков и пептидов (коллоидные растворы, денатурация, седиментация, изоэлектрическая точка у белков).
9. Биологические функции белков и пептидов.
10. Объясните механизм прижигающего действия ляписа и перекиси водорода (H_2O_2).
11. Объясните механизм обеззараживающего действия спирта.
12. Гидратация белков и факторы, влияющие на растворимость. Влияние нейтральных солей, pH среды, температуры и других заряженных веществ на растворимость белков.
13. Какие изменения могут произойти в организме при недостатке белка - гемоглобина, белка - инсулина, белка - миозина?
14. В каком органе в процентном отношении больше всего содержится белка - в мозге, в мышцах или костях, почему в одних органах больше, а в других меньше?

15. Может ли одновременно выпасть в осадок белок - альбумин и пепсин, если изоэлектрическая точка среды равна 7,0?

16. Можно ли считать белковой молекулой вещества с молекулярной массой, равной 2657, 12000, 1 млн., состоящие только из аминокислот?

17. Какие изменения претерпевают белки при кипячении и при низкой температуре, равной 0-4°C (в последнем случае в присутствии солей и соответствующем значении pH)?

18. Обладает ли трипептид, состоящий из аминокислот гамма-глутаминил-цистеинил-глицин, биологической активностью?

19. Какие основные связи формируют вторичную структуру белковой молекулы? Что такое водородная связь?

20. Какие связи участвуют в формировании третичной структуры белковой молекулы?

21. По какой причине коллагеновые молекулы (волокна) не могут образовывать альфа-спирали в отличие от других белков?

22. Что означает понятие мультимерные белки, субъединицы и изоферменты?

23. Высаливание и диализ. Их значение для разделения и очистки белков.

24. Значение реакций осаждения белков для медицинской практики.

Таблица 1

Реагенты и условия, вызывающие денатурацию белков

Денатурирующие агенты	Механизм действия реагентов
1. Высокая температура (выше 60°C)	Разрушение гидрофобных и водородных связей (слабых взаимодействий)
2. Кислота и щелочи	Изменение диссоциации ионогенных групп, разрыв водородных связей
3. Алкалоидные агенты (пикриновая кислота, танин)	Образование солеобразных соединений между алкалоидами (основаниями) и белком
4. Соли тяжелых металлов	Образование нерастворимых солей белков и ионов тяжелых металлов
5. Мочевина	Разрушение внутримолекулярных водородных связей в молекулах белков в результате образования водородных связей с мочевиной

ЗАНЯТИЕ №2

ТЕМА: Методы разделения и количественного определения белков и аминокислот

ЦЕЛЬ ЗАДАНИЯ:

1. Познакомиться и освоить ряд методов разделения и количественного определения белков и аминокислот.
2. Знать физико-химические свойства, лежащие в основе методов разделения белков и количественного определения белков.
3. Уметь объяснить принцип каждого метода, основываясь на физико-химических свойствах белков.

Теоретические вопросы:

1. Принципы методов разделения белков:
 - а) фракционного осаждения (высаливание)
 - б) ультрацентрифугирования
 - в) электрофореза
 - г) гель фильтрации
 - д) ионообменной хроматографии
 - е) аффинной хроматографии.
2. Принципы методов количественного определения:
 - а) рефрактометрический
 - б) колориметрический (биуретовая реакция)
 - в) спектрофотометрический.

Л и т е р а т у р а

1. Николаев А.Я. Биологическая химия. 1989. - С. 48-53.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия. 1983. - С. 16-29; 1990. С. 19-28.
3. Стенд кафедры "Принципы препаративного разделения в биохимии".

Практические работы:

1. Разделение свободных аминокислот распределительной радиальной хроматографией на бумаге.
2. Определение общего белка в сыворотке крови рефрактометрическим методом.

3. Количественное определение белка биуретовым методом.

Л и т е р а т у р а

1. Кушманова, Ивченко. 1983.- С.19-24.; 179-180, 178.
2. Алейникова, Рубцова. 1988. - С.15-18, 19. Раб. II или методичка кафедры.

Практическая работа

1. Количественное определение концентрации общего белка сыворотки крови по биуретовой реакции на фотоколориметре (ФЭКе).

Принцип: белки реагируют в щелочной среде с сернокислой медью с образованием комплекса, окрашенного в фиолетовый цвет (биуретовая реакция).

Интенсивность окраски пропорциональна концентрации белка.

Расчет ведут по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика

От исходного (стандартного) р-ра белка (10%), т.е. 1 мл содержит 0,1 г белка, готовят рабочие растворы согласно таблице:

№ п.п.	Исходный стандартный 10% р-р белка (мл)	0,9% р-р NaCl	Рабочие р-ры, концентрация белка (г%)	Экстинкция
1.	0,2	1.	2	
2.	0,5	0,5	5	
3.	0,8	0,2	8	

Из каждого рабочего р-ра берут по 0,1 мл и прибавляют по 5 мл биуритового реактива. Через 15 мин. измеряют на ФЭКе против контроля на реактивы. Контроль на реактивы: 0,1 мл 0,9% NaCl+5 мл биуритового раствора. По полученным данным строят калибровочный график, откладывая на оси X концентрацию белка, на оси Y - экстинцию (оптическую плотность).

Ход определения

К 0,1 мл сыворотки крови прибавляют 5 мл биуретового р-ра, смешивают, избегая образования пены. Через 15 мин измеряют экстинцию (оптическую плотность) на ФЭКе в кювете с толщиной слоя 1 см при

длине волн 540-560 нм зеленый светофильтр (против контроля на реактивы), контроль тот же.

КЛАССИФИКАЦИЯ МЕТОДОВ РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ



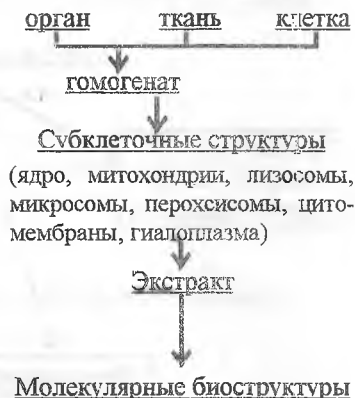
МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БЕЛКОВ

Последовательность этапов при биохимических исследованиях

Этапы исследования:

1. Гомогенизация
2. Ультрацентрифугирование
3. Экстракция (различными растворами)
4. Анализ
 - 1) рекстракция
 - 2) термообработка (дистилляция, выпаривание, сублимация)
 - 3) диализ
 - 4) седиментация (в специальных средах)
 - 5) электрофорез
 - 6) диэлектрофорез
 - 7) изоэлектрическое фокусирование в градиенте pH
 - 8) хроматография

Объект исследования:



Вопросы и задачи к занятию №2

1. Какие различия в свойствах белков составляют основу использования перечисленных ниже методов:

- | | |
|-------------------------------------|---|
| 1) Метод ультрацентрифугирования | А. Различия в растворимости |
| 2) Метод электрофореза | Б. Различия в кол-ве и природе ионогенных групп (ионизация) |
| 3) Метод гель-фильтрации | С. Различия по молекулярной массе |
| 4) Метод ионообменной хроматографии | |
| 5) Метод солевого фракционирования | |

2. Решить задачу - выбор методов для выделения белка из смеси.

Дана смесь белков:

Название белка	Молекулярная масса	I_p
Церулоплазмин	151000	4,4
Гамма-глобулин	150000	6,3
Бета-лактоглобулин	37100	5,2
Казеиноген		4,75

Выбрать методы, с помощью которых можно разделить смесь белков на индивидуальные белки, указать физико-химические свойства белков, лежащие в основе каждого метода.

3. Что такое высаливание? На чем основан метод?
4. Какие факторы влияют на процесс высаливания?
5. На чем основан принцип метода гель-фильтрации?
6. Понятие об аффинной и ионообменной-хроматографии. Принцип метода.
7. От каких факторов зависит передвижение частиц при электрофореze?
8. Что такое свидетели в хроматографии?
9. Что такое коэффициент R_f (коэффициент распределения)? Как его рассчитать и какое его значение?
10. Каковы нормативы содержания белка в сыворотке крови?
11. Как называются уменьшение и увеличение содержания белка в крови?
12. Какими методами можно определить концентрацию белка в биологических жидкостях? Принципы этих методов.
13. Каково практическое значение определения изоэлектрической точки белка (I_p)?
14. Используя данные таблицы №1 "Изменения соотношения белков сыворотки крови при патологии", сделать предположение о заболевании, для которого характерны подобные изменения в соотношении белковых фракций.

**Схема электрофореграмм белков
сыворотки крови (№1 - норма, №2 - патология)**

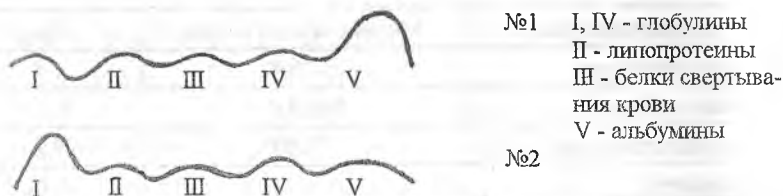


Таблица 1

Название белка/фракции	Заболевания, при которых происходят изменения соотношения белков сыворотки крови ↑ - повышается, ↓ - понижается
1. Глобулины	↑ Хронические заболевания, цирроз печени, миелоз
2. Липопротеины	↑ Нефроз, атеросклероз
3. Белки, сыв. крови, фибриноген, протром- бин, плазминоген	↑ Опухоли (рак, саркома), болезни печени ↓ Респираторные болезни (новорожденных)
4. Альбумины	↓ Нефроз, цирроз печени

15. Какие из методов разделения белков можно использовать для определения молекулярной массы белка?

Таблица 2

Методы разделения, очистки и определения молекулярной массы белков

Название метода	Принцип метода
1	2
1. Высаливание (фракционное вы- деление)	Метод основан на способности белков осаждаться при различной степени насыщения растворов белков сульфатом аммония, а также солями щелочных и щелочно-земельных металлов
2. Гель-фильтрация	Метод основан на различиях в размерах молекул белков. Применяется для разделения белков по молекулярной массе, для определения молекулярной массы белков, для очистки от низкомолекулярных соединений
3. Ультрацентри- фугирование	Метод основан на зависимости скорости седиментации молекул под действием центробежной силы от их молекулярной массы

1	2
4. Ионообменная хроматография	Метод основан на взаимодействии заряженных групп белка с ионными группами полимеров-ионообменников
5. Электрофорез	Метод основан на различиях в скорости движения белков в электрическом поле. Применяется для разделения белков по заряду и молекулярной массе
6. Аффинная хроматография	Метод основан на связывании белка специфическими лигандами, ковалентно присоединенным к нерастворимому полимеру
7. Колориметрический метод	При прохождении луча света через окрашенные р-ры на фотоэлементах прибора возникает разность потенциалов, которая прямо пропорциональна интенсивности окраски и концентрации веществ в растворе. Метод применяется для определения концентрации в-ва в окрашенных растворах
8. Рефрактометрический метод	В основе метода лежит способность луча света преломляться при переходе из менее плотной среды в плотную. Коэффициент преломления зависит от концентрации веществ в р-ре. Метод применяется для определения концентрации вещества в растворах
9. Изoeлектрическая точка (I_p)	Определенное значение pH является константой каждого индивидуального белка, при котором молекула белка находится в изoeлектрическом состоянии и выпадает в осадок. Метод применяется для фракционного разделения белков и их идентификации
10. Диализ	Метод основан на неспособности белков проходить через полупроницаемую мембрану, в то время как низкомолекулярные вещества проходят через нее. Применяется метод для очистки белков от низкомолекулярных веществ

ЗАНЯТИЕ №3

ТЕМА: Простые и сложные белки.

ЦЕЛЬ: Изучить строение, свойства и биологические функции простых и сложных белков.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Классификация простых белков, их строение, свойства и биологические функции.
2. Классификация сложных белков.

3. Строение, свойства и роль хромопротеидов: гемопротеидов, флавопротеидов, ретинолпротеидов, кабаמידпротеидов, хлорофиллпротеидов.

4. Строение, свойства и роль фосфопротеинов и металлопротеинов.

Практические работы:

1. Определение концентрации гемоглобина в крови.
2. Микроскопия кристаллов солянокислого гемина (реакция Тейхмана).

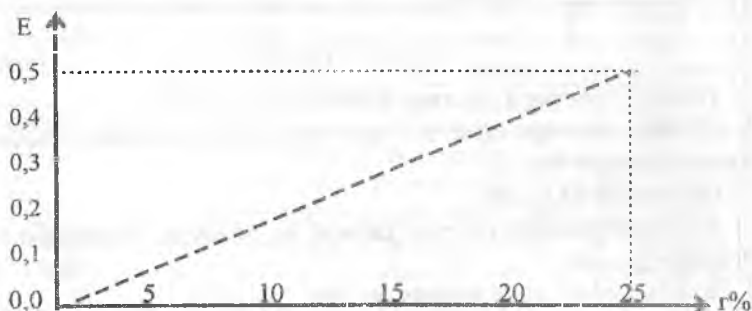
Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Николаев, 1989. - С.29-36, 45, 143, 146, 153-154, 428, 432-437.
3. Березов, Коровкин, 1983.- С.63-75, 77-86, 90-93, 620, 628-637.
4. Кушманова, Ивченко, 1974.- С.53.
5. Березов, 1976.- С.60-61, 190-194.
6. Березов, Коровкин, 1990.- С.65-76, 61-63; 1998.

Практическая работа

Определение гемоглобина крови (унифицированный гемоглобинцианидный метод). Нормальные величины гемоглобина: у женщин 120-140 г/л - 12,0-14 г%; у мужчин 130-160 г/л - 13,0-16,0 г%.

Ход определения: 0,02 мл крови приливают к 5,0 трансформирующего раствора, хорошо перемешивают. Через 10 мин измеряют на ФЭКе-М, длина волны 540 нм (зеленый светофильтр), кювета 10 мм (толщина кювет), против дист. воды. Расчет содержания гемоглобина производят по калибровочному графику:



Клиническое значение: снижение концентрации гемоглобина в крови имеет место при кровопотере, при анемиях, снижается до 6-8 г%. Повышение концентрации гемоглобина может наблюдаться при эритроцитозах, эритремии, повышается до 18-21 г%. Новорожденным свойственно увеличение содержания гемоглобина.

Получение кристаллов гемина

1. Наносят на предметное стекло каплю крови, размазывая ее по стеклу.
2. Осторожно подсушивают кровь, держа стекло высоко над пламенем горелки (не нагревать).
3. Прибавляют к подсушенной крови 1-2 капли уксусной кислоты, содержащие галогеновые соли, накрывают покровным стеклом и осторожно нагревают до кипения.
4. Вводят пипеткой под покровное стекло 1-2 капли уксусной кислоты и рассматривают выделившиеся кристаллы гемина под микроскопом при большом увеличении.

Контрольные вопросы:

1. Строение и функции простетических групп гемоглобина, миоглобина, цитохромов b, c₁, c, aa₃, каталазы.
2. Особенности строения белковых цепей физиологических гемоглобинов: HbA₁, HbA₂, HbF, HbP и патологических: HbS, HbH и семейства гемоглобинов больных бета-талассемиями.
3. Молекулярные механизмы захвата и освобождения кислорода гемоглобином (кооперативные изменения конформации протомеров под действием концентрации H⁺ ионов, 2-3 дифосфоглицерата, концентрации CO₂ и O₂).
4. Физиологические и патологические производные гемоглобина. Диагностическое значение их определения.
5. Сравнительная характеристика структуры и свойств гемоглобина и миоглобина. Кривая оксигенации гемоглобина и миоглобина.
6. Фосфорилирование и дефосфорилирование белков как механизм их активации и инактивации.
7. Назовите флавопротеины, содержащие негемовое железо.
8. Какое количество общего Hb содержится в крови взрослого человека?

9. Какие полипептидные цепи входят в состав HbP и HbF?
10. Назовите производные гемоглобина (окси-Hb, карб-Hb, карбокси-Hb, мет-Hb), их функции и содержание в крови, причины их образования.
11. Перечислите типы гемоглобина у здорового человека (HbP, HbF, HbA), их биологическое значение.
12. Чем отличается фетальный гемоглобин от гемоглобина взрослого?
13. Какие Вы знаете типы аномальных гемоглобинов? Причины их появления в крови?
14. Что такое гемоглобинопатии? Их виды.
15. В чем различие между гемоглобинопатиями и талассемиями?
16. В чем сходство и различие гемоглобина, миоглобина, каталазы, цитохрома, пероксидазы?
17. Что представляет собой хромопротеиды? Их биологическая роль.
18. Что представляют собой фосфопротеиды? Их биологическая роль.
19. Что представляют собой флавопротеиды? Их биологическая роль.
20. Что представляют собой металлопротеиды? Их биологическая роль.
21. Характеристика простых белков - гистонов, альбуминов, глобулинов, протаминов, протеиноидов.

ЗАНЯТИЕ № 4

ТЕМА: Сложные белки - надмолекулярные белковые комплексы.

ЦЕЛЬ: Изучить взаимосвязь структуры и биологических функций макромолекулярных белковых комплексов.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Макромолекулярные белковые комплексы - нуклеопротеиды, липопротеиды, гликопротеиды.
2. Нуклеопротеиды - дезоксирибонуклеопротеиды и рибонуклеопротеиды:
 - а) нуклеиновые кислоты. Строение и уровни структурной организации. ДНК и РНК. Строение нуклеотидов и нуклеозидов. Минорные нуклеотиды;
 - б) виды нуклеиновых кислот (ДНК, м-РНК, т-РНК, р-РНК). Структурно-функциональная организация ДНК в хромосомах и р-РНК в рибосомах, их локализация, функция;

- в) белковые компоненты хромосом и рибосом. Классификация гистонов, их аминокислотный состав и функции.
3. Липид-белковые комплексы. Связь белкового и небелкового компонентов:
- а) структурные липопротеиды - протеолипиды, их строение и роль;
 - б) транспортно-резервные липопротеиды. Их состав и роль в организме.
4. Углевод-белковые комплексы:
- а) гликопротеиды, состав, особенности строения простетических групп, связь с белковым компонентом. Биологические функции гликопротеидов;
 - б) протеогликаны. Состав, строение их простетических групп, связь с белковым компонентом. Биологическая роль протеогликанов.

Практическая работа:

Гидролиз нуклеопротеидов дрожжей. Студенты получают готовый гидролизат и определяют в нем следующие продукты гидролиза:

- белок (биуретовая реакция)
- фосфор (реакция с молибденово-кислым аммонием)
- пурины (реакция с аммиачным раствором серебра)
- рибозу (дезоксирибозу) - реакция Троммера.

Ход определения описан в практ. Кушмановой, 1974.- С.46-48; 1983.- С.32-35. Практик. Березова, 1976.- С.52-56.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Николаев, 1989.- С.93-105.
3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. 1982.- С.86-90, 91-92, 94-113.
4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. 1990.- С.71-76, 80-91.

Контрольные вопросы

1. Что мы называем нуклеопротеидами? Привести пример.
2. Значение комплементарности азотистых оснований в молекулах ДНК?
3. Напишите схему гидролиза нуклеопротеидов.

4. Назовите азотистые основания, относящиеся к пуриновым или пиримидиновым основаниям.
5. Строение АТФ и других нуклеотидов.
6. Дайте схему строения ДНК.
7. Уровни структурной организации ДНК.
8. Дайте схему строения разных видов РНК.
9. Локализация нуклеиновых кислот в структурах клеток. Их биороль.
10. Что такое протеогликаны? Их состав и биороль.
11. Какие гликопротеиды Вы знаете? Их биороль.
12. Липопротеиды. Их биороль.
13. Классификация липопротеидов.
14. Какие фракции липопротеидов являются фактором риска в возникновении атеросклероза? Почему?
15. Роль липидов в строении клеточных мембран.
16. Диагностическое значение определения липопротеидов сыворотки крови, особенности строения.
17. Простатические группы гликопротеидов.
18. Простатические группы протеогликанов.
19. Биологические функции полисахаридов.

ЗАНЯТИЕ № 5

ТЕМА: Биологические мембраны. Структурно-функциональная организация клетки.

ЦЕЛЬ: Изучить биохимические аспекты структурно-функциональной организации биомембран как основы клеточной организации.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Структурные компоненты биомембран.
2. Структурная организация биологических мембран. Основные разновидности мембранных структур.
3. Физико-химическая характеристика макромолекул в биомембранах.
4. Основные функции биологических мембран.
5. Механизмы трансмембранного переноса веществ.
6. Структурно-функциональная характеристика клеточных органоидов.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Николаев, 1989.- С.178-187.
3. Ленинджер, 1985.- Т.1.- С.325-351.
4. Страйер Л. Биохимия, 1984.- Т.1.- С.199-222.
5. Строев Е.А. Биохимия, 1986.- С.109-113.

Контрольные вопросы

1. Главные структурные макромолекулы мембран.
2. Основные типы мембран клетки.
3. Модели структурной организации мембран. Отличительные особенности строения однотипных мембран в клетках разной специализации.
4. Сравнительный химический состав некоторых клеточных мембран.
5. Основные классы липидов мембран.
6. Фосфолипиды, их состав.
7. Двойной липидный слой мембран.
8. Белки мембран (периферические и интегральные белки).
9. Гликопротеины - наружные мембранные белки плазматических мембран.
10. Гликолипиды мембран.
11. Гликофорин - белок плазматической мембраны эритроцитов.
12. Функции белков мембран.
13. Поперечная асимметрия мембран.
14. Жидкостьность мембран.
15. Латеральная и поперечная диффузия биомолекул.
16. Свойства и биологические функции биомембран.
17. Характеристика и функции органоидов.
18. Локализация ферментных ансамблей. Компартментация биохимических процессов.
19. Механизм трансмембранного переноса веществ.
20. Ингибиторы и активаторы трансмембранного переноса.

РАЗДЕЛ: Нейроэндокринная регуляция функций клетки.

ЗАНЯТИЕ № 6

ТЕМА: Гормоны.

ЦЕЛЬ: Изучить механизмы гормональной регуляции процессов биохимической адаптации обмена веществ в клетках организма, регуляции процессов роста, развития, дифференцировки и размножения клеток организма в норме и при эндокринных нарушениях.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Нейроэндокринные регуляторные системы организма.
2. Гормоны. Определение. Классификация. Регуляция их секреции, транспорт, инактивация.
3. Механизм действия гормонов - ранние и поздние эффекты гормонального действия. Аденилатциклазный и гуанилатциклазный механизмы передачи гормональных сигналов. Инсулин-рецепторная и Са — мессенджерная системы.
 - а) гормональные рецепторы клеточных мембран;
 - б) вторичные посредники передачи гормонального сигнала в клетку;
 - в) активация ферментов ключевых биохимических реакций;
 - г) изменение проницаемости клеточных мембран и инициация транспорта веществ в клетку;
 - д) изменение количества ферментов в клетке путем индукции и репрессии генов.
4. Строение и биороль нейrogормонов гипоталамуса и тропных гормонов гипофиза.
5. Биороль гормонов парашитовидных желез и "С"-клеток щитовидной железы.
6. Строение и биороль гормонов щитовидной железы.
7. Строение и биороль гормонов поджелудочной железы.
8. Гормоны мозгового слоя надпочечников. Строение, биологическая роль.
9. Строение и биороль глюкокортикоидов и минералкортикоидов коры надпочечников.
10. Строение и биороль гормонов половых желез.
11. Гистогормоны апуд-системы.

Контрольные вопросы:

1. Регуляция фосфорно-кальциевого обмена.
2. Гормональная регуляция обмена углеводов, жиров и белков.
3. Гормональная регуляция водно-солевого обмена.
4. Гормональная регуляция процессов роста, развития, дифференцировки и размножения клеток многоклеточного организма.
5. Гормоны и терморегуляция.
6. Нарушение функций эндокринных желез.

На данном занятии рассматриваются целевые задачи 1-4 и 1-й контрольный вопрос. Целевые задачи 5-11 и контрольные вопросы темы 2-6 подробно будут рассмотрены в соответствующих разделах курса.

Л и т е р а т у р а

1. Лекция.
2. Березов, Коровкин. Биохимия, 1983.- С.228-267, схема с. 392.
3. Березов, Коровкин, 1990.- С. 170-202, схема стр. 292.
4. Николаев. Биохимия, 1989.- С. 351-356, 361-362, 368-384, 389-399, схема с.250.
5. Строев. Биохимия, 1986.- С. 370-412.

З А Н Я Т И Е № 7

Модуль I

Контрольные вопросы к коллоквиуму по теме:

"Молекулярные основы структурной организации клеток"

1. Биомолекулы. Основные классы, их роль.
2. Аминокислоты. Роль аминокислот в организме. Незаменимые аминокислоты.
3. Пептиды. Строение и свойства. Биологические функции.
4. Белки. Уровни структурной организации белков. Первичная структура белков. Видовая специфичность. Наследственные изменения первичной структуры. Полиморфизм белков. Наследственные протеинопатии: серповидноклеточная анемия и другие примеры.
5. Конформация белковых молекул - вторичная и третичная структуры. Связи, стабилизирующие эти структуры. Факторы, влияющие на пространственную организацию пептидной цепи и образование активного центра молекулы белка.

6. Четвертичная структура белка. Олигомерные белки - гемоглобин, лактатдегидрогеназа, фосфоорилаза В и А. Зависимость биологической активности от кооперативных изменений конформации протомеров.

7. Физико-химические свойства белков и пептидов. Роль воды и неорганических ионов в образовании активных форм белковых молекул. Коллоидные свойства, амфотерность, растворимость, изоэлектрическая точка, седиментация, осаждение, денатурация и другие свойства белков, обусловленные воздействием различных физико-химических факторов.

8. Денатурация белков, ее механизм. Химические реагенты, вызывающие осаждение и денатурацию (концентрированные минеральные кислоты и щелочи, органические кислоты, соли тяжелых металлов, алкалоидные реактивы). Денатурация при нагревании. Применение в медицинской практике осаждения белков.

9. Глобулярные и фибриллярные белки. Особенности их аминокислотного состава и структурной организации.

10. Альбумины, глобулины, гистоны, коллагеновые, кератиновые белки. Особенности строения. Биологическая роль.

11. Природные пептиды - нейропептиды, пептиды-гормоны, пептиды-опиаты, глутатион, брадикинин, каллидин и другие. Строение и биологическая роль.

12. Сложные белки - хромопротеиды (гемопротеиды, флавопротеиды, ретинольпротеиды, хлорфилпротеиды). фосфопротеины и металлопротеины.

1) Гемопротеины - гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза строение гема. Связи, стабилизирующие молекулы гемопротеинов;

2) Строение и функции простетических групп гемоглобина, миоглобина, цитохромов b, c₁, c, аа₃, каталазы;

3) Особенности строения белковых цепей физиологических гемоглобинов: HbA₁, HbA₂, HbF, HbP и патологических: HbS, HbH и семейства гемоглобинов больных бета-талассемиями;

4) Молекулярные механизмы захвата и освобождения кислорода гемоглобином (кооперативные изменения конформации протомеров под действием концентрации H⁺ ионов, 2-3 дифосфоглицерата, концентрации CO₂ и O₂).

5) Физиологические и патологические производные гемоглобина. Диагностическое значение их определения.

- 6) Сравнительная характеристика структуры и свойств гемоглобина и миоглобина. Кривая оксигенации гемоглобина и миоглобина.
- 7) Фосфорилирование и дефосфорилирование белков как механизм их активации и инактивации.
- 8) Назовите флавопротеины, содержащие негемовое железо.
- 9) Какое количество общего Нв содержится в крови взрослого человека?
- 10) Какие полипептидные цепи входят в состав НвР и НвF?
- 11) Назовите производное гемоглобина (окси-Нв, карб-Нв, карбокси-Нв, мет-Нв), их функции и содержание в крови, причины их образования.
- 12) Перечислите типы гемоглобина у здорового человека (НвР, НвF, НвА), их биологическое значение.
- 13) Чем отличается фетальный гемоглобин от гемоглобина взрослого?
- 14) Какие Вы знаете типы аномальных гемоглобинов? Причины их появления в крови?
- 15) Что такое гемоглобинопатии? Их виды.
- 16) В чем различие между гемоглобинопатиями и талассемиями?
- 17) В чем сходство и различие гемоглобина, миоглобина, каталазы, цитохрома, пероксидазы?
- 18) Строение фосфопротеидов их биологическая роль.
- 19) Строение флавопротеидов, их биологическая роль.
13. Сложные белки - макромолекулярные белковые комплексы:
 - 1) Нуклеопротеиды - дезоксирибонуклеопротеиды и рибонуклеопротеиды.
 - 2) Нуклеиновые кислоты. Строение, уровни структурной организации ДНК и РНК.
 - 3) Строение нуклеотидов и нуклеозидов. Минорные нуклеотиды.
 - 4) Виды нуклеиновых кислот (ДНК, м-РНК, т-РНК, р-РНК). Структурно-функциональная организация ДНК в хромосомах и р-РНК в рибосомах. Их функции.
 - 5) Белковые компоненты хромосом и рибосом. Классификация гистонов, их аминокислотный состав и функции.
 - 6) Липопротеиды: структурные (протеолипиды) и транспортно-резервные, особенности их состава и строения. Биороль.

- 7) Углевод-белковые комплексы: гликопротеиды и протеогликаны. Состав, строение простатических групп. Биологические функции.

14. Уровни структурной организации живых организмов. Объекты и методы биохимических исследований. Методы выделения, разделения, очистки и качественного определения веществ. Методы количественного определения. Экспресс-анализы. Характеристика методов.

15. Биологические мембраны. Структурно-функциональная организация клетки:

- 1) Структурные компоненты мембран. Строение и их характеристика.
- 2) Структурная организация биологических мембран. Основные разновидности мембранных структур.
- 3) Физико-химическая характеристика макромолекул в биомембранах.
- 4) Основные функции биологических мембран.
- 5) Механизмы трансмембранного переноса веществ.
- 6) Краткая структурно-функциональная характеристика клеточных органоидов.

16. Нейроэндокринные регуляторные системы организма.

17. Гормоны. Определение. Классификация. Регуляция их секреции. транспорт, инактивация.

18. Механизм действия гормонов - ранние и поздние эффекты гормонального действия. Аденилатциклазный и гуанилатциклазный механизмы передачи гормональных сигналов:

- а) гормональные рецепторы клеточных мембран;
- б) вторичные посредники передачи гормонального сигнала в клетку;
- в) изменение проницаемости клеточных мембран и инициация транспорта веществ в клетку;
- г) активация ферментов ключевых биохимических реакций;
- д) Изменение количества ферментов в клетке путем индукции и репрессии генов.

19. Строение и биороль нейrogормонов гипоталамуса и тропных гормонов гипофиза.

20. Биороль гормонов парашитовидных желез и "С"-клеток щитовидной железы.

РАЗДЕЛ: Молекулярные основы жизнедеятельности и патологии

ЗАНЯТИЕ № 8

ТЕМА: Ферменты, строение, механизм действия

Теоретические вопросы:

1. Что такое ферменты? Их отличие от неорганического катализатора.
2. Строение ферментов:
 - а) простые и сложные ферменты
 - б) кофакторы, простатические группы, коферменты
3. Активный центр фермента
 - а) функциональные группы активного центра ферментов
 - б) факторы, влияющие на образование активного центра - контактного и каталитического участка
 - в) аллостерический (регуляторный) центр фермента;
4. Механизм действия фермента
 - а) образование фермент-субстратного комплекса. Гипотеза "индуцированного" или "вынужденного" соответствия Д.Кошланда
 - б) энергетический барьер реакции, энергия активации
 - в) разобрать механизмы расщепления ацетилхолина холинэстеразой и пептидной связи карбоксипептидазой

Практическая работа:

1. Ферментативный гидролиз крахмала амилазой слюны при комнатной температуре.

Ход работы: готовят шесть индикаторных пробирок (2 мл H_2O + 1 кап. йода).

В стаканчик наливаются 5 мл 0,5% р-ра крахмала + 5 кап. слюны, перемешивают и две капли вносят в пробирку №1, через 20 сек в №2 и т.д. Если жидкость в пробирке №2 окрасилась в синий цвет, то время внесения надо удлинить.

Индикаторные пробирки (2 мл H_2O +1 кап. йода)	Время забора проб (сек)	Окраска с йодом	Название промежуточных продуктов
1	0		крахмал
2	20		амилодекстрины
3	40		эритродекстрины
4	60		ахродекстрины
5	80		мальтоза
6	100		раствор йода

Гидролиз крахмала считают законченным, когда в одной из пробирок желтый цвет р-ра I_2 не изменяется. Из стакана отбирают 10 кап. смеси и прodelьвают реакцию Троммера.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов, Коровкин. Биохимия, 1990. - С.92-108; 1983. -С.114-128, 132-137; 1998.
3. Николаев А.Я. Биохимия, 1989. - С.53-57, 61-70.
4. Строев Е.А. Биохимия, 1986. - С. 122-125, 129-163.
5. Кучук Э.М. Молекулярные основы биохимических процессов в организме. Учебное пособие. Часть I. Бишкек, 2004.

Контрольные вопросы

1. Что такое ферменты? Их отличие от неорганических катализаторов.
2. Что называют энергетическим барьером реакции? Что такое энергия активации? Что понимают под "активированным" переходным состоянием?
3. Перечислите свойства ферментов, обусловленные их белковой природой.
4. Являются ли ферменты протеинами или протеидами? Сколько полипептидных цепей содержит молекула фермента?
5. Дайте определения "холофермент", "апофермент". "кофактор", "кофермент", "простатическая группа фермента".

6. Что называют активным центром фермента? Охарактеризуйте активный центр у ферментов-протеинов и у ферментов-протеидов.

7. Как формируется активный центр фермента, какие связи участвуют в его образовании?

8. Факторы, влияющие на формирование активного центра. Возможные механизмы их действия.

9. Перечислите функциональные группы аминокислот, которые могут участвовать в формировании активного центра фермента.

10. Перечислите известные Вам "кофакторы", "коферменты", входящие в активный центр сложных ферментов.

11. Охарактеризуйте участки активного центра ферментов. Их функции.

12. Строение некоторых коферментов и простатических групп: ФАД, ФМН, ГЕМ, УДФ, ц-АМФ, ЦДФ.

13. С помощью каких связей происходит присоединение субстрата к активному центру фермента? Каково значение "многоточечного" контакта фермента с субстратом?

14. В чем суть теории Д.Кошланда индуцированного (вынужденного) соответствия фермента и субстрата в процессе их контакта? Какова роль возникающих при этом напряжений?

15. Охарактеризуйте микросреду активного центра фермента. Какова ее роль в процессе катализа?

16. Какие эффекты в процессе катализа способствуют ускорению протекания реакции? Чем они обусловлены?

17. Мультиферментные системы. В чем заключается их биологическая роль?

18. Механизм действия фермента (рассмотреть механизм расщепления ацетилхолина холинэстеразой или пептидной связи карбоксипептидазой).

ЗАНЯТИЕ №9

ТЕМА: Свойства ферментов. Кинетика ферментных реакций. Регуляция активности ферментов.

ЦЕЛЬ: Уметь применять знания о свойствах ферментов и ферментном составе органов при последующем изучении метаболизма, функций органов и систем для решения вопросов диагностики, профилактики и лечения болезней, связанных с нарушением функционирования ферментов.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Основные свойства ферментов: а) термоллабильность ферментов; б) влияние pH среды на активность ферментов; в) влияние концентрации субстрата и фермента на скорость ферментативной реакции; г) специфичность действия ферментов.
2. Кинетика ферментативных реакций.
3. Ферментативная активность и единицы активности фермента.
4. Регуляция активности ферментов. Активаторы и ингибиторы.

Практическая работа:

1. Влияние температуры на активность фермента амилазы слюны.

Берут 2 ряда пробирок по 4 шт., в 1-4 вносят по 10 кап. 0,5% р-ра крахмала, в 5-8 вносят 10 кап. слюны, разведенной в 10 раз. Пробирки оставляют на 10 мин. в следующих условиях:

Пробирки	Температура	Окраска с I ₂
1 и 5	0° (лед)	
2 и 6	20° (комн.)	
3 и 7	37° (вод. баня)	
4 и 8	100° (кип. вод. баня)	

Через 10 мин. сливают содержимое пробирок 1 и 5, 2 и 6, 3 и 7, 4 и 8, перемешивают, снова оставляют на 10 мин. в тех же условиях и продолжают реакции с I₂.

Выводы:

2. Влияние реакции среды pH на активность фермента амилазы слюны.

Готовят буферные смеси с разными значениями pH согласно таблице:

№ пробирок	К-во Na ₂ HPO ₄ 0,2 м (мл)	К-во лимонной к-ты 0,1 м (мл)	pH смеси	Результаты опыта
1	2,9	2,1	5,6	
2	3,1	1,9	6,0	
3	3,8	1,2	6,8	
4	4,8	0,2	8,0	

В каждую пробирку наливают 0,5 мл разбавленной в 5 раз слюны и по 0,5 мл 0,5% раствора крахмала, через 5 мин. во все пробирки добавляют по 1 кап. I_2 .

Выводы:

3. Специфичность действия амилазы слюны

Выводы:

4. Влияние активаторов и парадизаторов на активность амилазы слюны.

Выводы:

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1990.- С.108-126; 1983.- С.137-160.
3. Николаев А.Я. Биохимия, 1989.- С.57-58, 73-81, 84-89.
4. Строев Е.А. Биохимия, 1986.- С.145-160.
5. Алейникова, Рубцова. Рук. практ. занятиям, 1988.- С.60, 75, 79.
6. Кушманова, Ивченко. Рук. практ. занятиям, 1983.- С.68-71, 74-75.
7. Кучук Э.М. Молекулярные основы биохимических процессов в организме. Учебное пособие. Часть I. Бишкек, 2004.

Контрольные вопросы

1. Специфичность действия ферментов. Чем она обусловлена?
2. Основные виды (типы) специфичности действия ферментов:
 - а) абсолютная субстратная специфичность
 - б) абсолютная групповая субстратная
 - в) относительная групповая субстратная
 - г) относительная субстратная специфичность
3. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций (изобразить графически)
 - а) термостабильность, температурный оптимум
 - б) pH среды. Оптимум pH для пепсина, трипсина, амилазы слюны и поджелудочной железы, липазы, аргиназы

- в) концентрация субстрата
- г) концентрация фермента
- 4. Кинетика ферментативных реакций. Константа Михаэлиса. Что она выражает?
- 5. Практическое значение зависимости ферментативной активности от pH.
- 6. Использование в медицинской практике термозависимости ферментативной активности - гибернация, пирогенный эффект некоторых лечебных средств.
- 7. Методы определения и единицы активности ферментов
- 8. Что такое активаторы ферментов? Каков механизм их действия?
- 9. Регуляция действия ферментов:
 - а) аллостерический механизм регуляции. Аллостерические эффекторы - модуляторы;
 - б) регуляция белковыми ингибиторами;
 - в) регуляция ферментов путем фосфорилирования и дефосфорилирования;
 - г) аденилатциклазная система;
 - д) активация частичным протеолизом;
 - е) активаторы - металлы (кофакторы);
 - ж) индукция синтеза ферментов - адаптивные (индуцибельные) и конститутивные ферменты.
- 10. Ингибиторы ферментов - обратимые и необратимые, конкурентные и неконкурентные, аллостерические.
- 11. Роль ингибиторов в регуляции активности ферментов; ингибиторы как лекарства, как средство изучения механизма действия ферментов в различных биохимических циклах.

ЗАНЯТИЕ № 10

ТЕМА: Классификация ферментов. Изоферменты. Энзимопатология. Энзимодиагностика

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Характеристика классов, подклассов и групп ферментов. Номенклатура ферментов.
2. Множественность молекулярных форм ферментов. Изоферменты. Их локализация в структурах клеток.
3. Происхождение ферментов плазмы крови.
4. Энзимопатология, энзимодиагностика и энзимотерапия.

Лабораторно-практическая работа:

1. Количественное определение амилазной активности по Вольге-муту.

Л и т е р а т у р а

1. Березов, Коровкин. Биохимия, 1990.- С.126-132; 1983.- С.158-168.
2. Николаев. Биохимия, 1989.- С.70-73, 89-92.
3. Строев. Биохимия, 1986. - С.125, 152, 161-163.
4. Кушманова, Ивченко. Рук. по практ., 1983.- С.74-75.
5. Алейникова, Рубцова. 1988.- С. 76, 79.
6. Кучук Э.М. Молекулярные основы биохимических процессов в организме. Часть II. Бишкек, 2004.

Контрольные вопросы:

1. По какому принципу ферменты делят на классы?
2. Рациональная и шифровая номенклатура ферментов.
3. Характеристика каждого класса ферментов. Химическая природа ферментов каждого класса. Важнейшие группы ферментов внутри класса. Типы катализируемых реакций. Привести примеры.
4. К какому классу ферментов относятся дегидрогеназы? Их разновидности, строение их и функции.
5. Ферменты редуктазы, их строение и функции.
6. Флавиновые ферменты, их строение и функции.
7. Цитохромы, их строение и функциональная взаимосвязь.
8. Строение ферментов монооксигеназ (гидроксилаз). Их функции.
9. Ферменты метилтрансферазы. Их строение и роль в ферментативных реакциях.
10. Ферменты формилтрансферазы, ацилтрансферазы, аминотрансферазы, фосфотрансферазы (киназы), гликозилтрансферазы. Их строение и функции.
11. Ферменты эстеразы, гликозидазы, пептидазы. Их строение и функции.
12. Декарбоксилазы альфа-кетокислот и аминокислот. Их коферменты. Их роль.
13. Ферменты гидратазы. Их строение и роль.
14. Альдолазы. Их строение и роль.

15. Ферменты карбоксилазы. Строение и биороль.
16. Ферментативный спектр в различных органах, тканях и крови.
17. Изоферменты. Каково биологическое значение существования множественных форм ферментов?
18. Мультиферментные системы, их биологическая роль?
19. Энзимопатология. Назовите типы энзимопатий. Охарактеризуйте их.
20. Энзимодиагностика. Изменения ферментативной активности в сыворотке крови при патологических состояниях (гепатитах и инфаркте миокарда), ферментные спектры крови.
21. Источники ферментов сыворотки крови. Достоинства энзимодиагностики.
22. Назовите ферменты, активность которых увеличивается в сыворотке крови при рахите, инфаркте миокарда, заболеваниях печени и др. органов.
23. Наследственные энзимопатии, механизмы их происхождения.
24. Имобилизованные ферменты.

ЗАНЯТИЕ № 11

ТЕМА: Водорастворимые витамины - важнейшие коферменты и простатические группы ферментов. Их роль в катализе.

ЦЕЛЬ: Изучить биологическую роль водорастворимых витаминов, как важнейших кофакторов многих белков-катализаторов. Усвоить, что механизмы возникновения многих ферментопатий (гипо- и авитаминозы) связан с витаминной недостаточностью.

Вопросы темы:

1. Строение витаминов РР, В₂, С и Р. Их биологическая (кофакторная) роль в окислительно-восстановительных реакциях. Гипо- и авитаминозы. Причины.
2. Строение витаминов В₆, В₁₂, пантотеновой и фолиевой кислот. Их коферментная роль в трансферазных реакциях и других реакциях. Гипо- и авитаминозы. Причины.
3. Витамин В₁ (тиамин). Коферментные формы. Роль в реакциях декарбоксилирования альфа-кетокислот и транскетолазных превращений. Гипо- и авитаминозы. Причины.

4. Бистин. Биологическая роль в реакциях карбоксилирования и транскарбоксилирования. Гипо- и авитаминозы. Причины.

5. Контрольная работа по теме "Ферменты и коферменты".

Лабораторно-практические работы:

Примечание: На занятие с собой приносить овощи и фрукты для определения витамина С

1. Качественные реакции на вит. В₁ (тиамин) - окисление тиамин в тиакром.

2. Качественные реакции на вит. В₂ (рибофлавин) - реакция восстановления рибофлавина в лейкофлавин.

3. Флюоресценция тиохрома и рибофлавина (демонстрация).

Таблица протокола практических работ: "Качественные реакции на витамины".

Название витамина, его формула	Употребляемые реактивы	Условия опыта	Наблюдаемое окрашивание
--------------------------------	------------------------	---------------	-------------------------

4. Количественное определение витамина С в картофеле и других продуктах растительного происхождения: отвесить 2 г очищенного картофеля или др. растительных продуктов, прибавить 3 мл НСl 2%, растереть с песком и довести до 10 мл, вытяжку не фильтровать, так как крахмал стабилизирует вит. С. Затем весь объем оттитровать 2, 6 - дихлорфенолиндифенолом до розовой окраски.

РАСЧЕТ: 1 мл 2,6 - дихлорфенолиндифенола 0,001 н соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты

$$X = \frac{0,088 \cdot A \cdot 100}{2} = \text{мг/100 г},$$

где X - содержание вит. С в мг/100 г;

A - количество 2,6 - дихлорфенолиндифенола, пошедшего на титрование;

100 - коэффициент для вычисления процентного содержания в мг/100 г продукта.

Определение витамина С в различных продуктах растительного происхождения (протокол оформления данной работы):

Продукт	Кол-во продукта	Объем вытяжки	Объем 2,6-дихлорфенолин-дофенола	Расчет в мг%
Картофель				
Лук				
Яблоки				
Морковь				

Л и т е р а т у р а

1. Березов, Коровкин, 1982.- С. 169-175, 188-214; 1990.- С. 133-138, 147-168.
2. Николаев, 1989.- С. 61-70, 167-172.
3. Строев, 1986.- С. 339-343, 352-370.
4. Кушманова, Ивченко. Прак., 1983.- С. 44-46, 52-55.

Контрольные вопросы

1. Что такое витамины, провитамины?
2. Источники витаминов и потребность человека в витаминах.
3. Что означают термины авитаминоз, полиавитаминоз, гиповитаминоз, гипervитаминозы, антивитамины? Причины витаминной недостаточности.
4. Классификация и номенклатура витаминов.
5. Механизм действия витаминов. Связь витаминов с ферментами.
6. Какие витамины могут синтезироваться в организме?
7. Активные формы витаминов (коферменты). Напишите формулы НАД⁺, НАДФ, ФАД, ФМН, КоА, ТПФ (тиамин дифосфат), пиридоксальфосфат. Их роль в биохимических реакциях. Написать катализируемые реакции.
8. Нарушение белкового питания как причина авитаминозов.

З А Н Я Т И Е № 12

ТЕМА: Жирорастворимые витамины

ЦЕЛЬ: Изучить основные механизмы действия производных жирорастворимых витаминов, как первичных мессенджеров, ключевых регуляторов клеточного деления, роста и дифференцировки клеток разви-

вающегося организма и быстро пролифилирующих тканей, как регуляторов синтеза белка, обмена веществ, окислительно-восстановительных реакций, как кофакторов отдельных ферментативных реакций и рецепторных белков.

Вопросы темы:

1. Витамин А. Активные формы производных витамина. Строение. Биологическая роль. Гипо- и авитаминозы. Пищевые источники. Провитамины.
2. Витамины группы D. Строение. Производные витамина D. Их биологические эффекты. Гипо- и авитаминозы. Пищевые источники.
3. Витамины группы К. Строение витамина K₂, K₃, викасола. Биологическая роль. Гипо- и авитаминозы. Антивитамины.
4. Витамины группы Е. Строение альфа-токоферола. Биологическая роль.

Лабораторно-практические работы:

1. Качественные реакции на витамины А, Д, Е, викасол.
2. Разделение каротиноидов на хроматографической колонке. Каротиноиды извлекают из исследуемого материала неполярным органическим растворителем и пропускают через колонку адсорбента. Пигменты разделяются в зависимости от их способности адсорбироваться на адсорбенте.

Ход работы: налить в колонку 5-6 мл бензола, затем насыпать по порциям окиси алюминия (высота 7-8 см). Когда уровень растворителя подойдет к поверхности адсорбента, в колонку наливают 0,5 мл экстракта каротиноидов из перца или моркови. Следя затем, чтобы колонка адсорбента была все время покрыта жидкостью, прибавляют небольшими порциями 20-30 мл растворителя и следят за передвижением полос в колонке.

Примечание: Вверху колонки задерживаются ксантофиллы, затем идут полосы ликопина, гамма-каротины, бета-каротины, альфа-каротины.

3. Определение активности щелочной фосфотазы и содержание фосфора в сыворотке крови при рахите.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Николаев А.Я., 1989.- С. 167-172, 386-387, 444-448, 478-480.
3. Березов, Коровкин, 1982.- С.169-188; 1990.- С.133-147.
4. Строев, 1986.- С. 339-352.
5. Кушманова, Ивченко, 1983.- С.58-61 (практ.).
6. Збарский, практ., 1962.- С. 71-74.

Контрольные вопросы и ситуационные задачи:

1. Перечислите биохимические эффекты производных вит. А.
2. Где и как в организме происходит регенерация II-цис-ретиная?
3. Ранние и поздние признаки авитаминоза А.
4. Какова роль витамина А в процессе зрения, в обмене веществ?
5. Назовите провитамины витамина D.
6. Назовите активные формы витамина D₃. Где в организме происходит их образование? Какова их роль в поддержании нормального уровня кальция и фосфора в крови?
7. Почему при употреблении печени морских животных развивается гипервитаминоз витамина А?
8. Какие соединения витамина D вам известны? Какие из них обладают биологической активностью? Механизм действия.
9. Почему гиповитаминоз витамина А в народе называют "куриной слепотой"?
10. При ионизирующем облучении организма больному назначают витамин Е. Объясните биохимический механизм действия.
11. Перечислите антивитамины витамина К и объясните механизм их действия.
12. Объясните процесс всасывания жирорастворимых витаминов.
13. Какова роль витамина К в обмене веществ?

Ферменты фосфотазы

Фосфотазы (фосфомоноэстеразы) - ферменты, ускоряющие гидролиз фосфорных эфиров. Эти ферменты поступают в кровь из костной ткани, печени, почек, селезенки, предстательной железы. Они представляют собой группу ферментов, среди которых особенно распространены фосфотазы, ускоряющие гидролиз сложных эфиров фосфорной кислоты

и углеводов, вызывая гидролиз глюко-6-фосфата, глюко-1-фосфата и некоторых других.

Кислая фосфатаза вызывает гидролиз моноэфиров ортофосфата в кислой среде (рН 4,8).

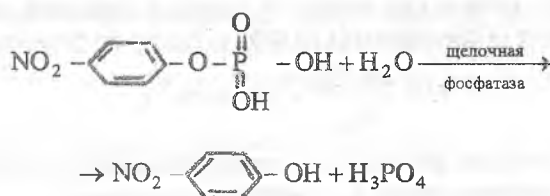
Щелочная фосфатаза катализирует гидролиз сложноэфирных связей органических соединений фосфорной кислоты с отщеплением молекулы ортофосфата при рН 8,5-10,5. Это гликопротеид С ММ-150000, содержащий 4 атома цинка, необходимых для поддержания четвертичной структуры фермента и образования фермент-субстратного комплекса. Наибольшая активность фермента в микросомах и мембранах. Участвует в транспорте веществ через клеточные мембраны в минерализации и других процессах.

Активность щелочной фосфатазы увеличивается при болезнях печени - при механической желтухе, в меньшей степени при гепатитах, циррозах и др.

Активность щелочной фосфатазы резко возрастает при рахите. За единицу активности щелочной фосфатазы принимают прирост 1 мг фосфора на 100 мл сыворотки (0,1 л), нормальная активность щелочной фосфатазы сыворотки у взрослых равна 2-4 ЕД, а у детей 5-15 ЕД.

Определение активности щелочной фосфатазы

Принцип метода основан на отщеплении ортофосфата при участии щелочной фосфатазы от пара-нитрофенилфосфата и образовании паранитрофенола, в щелочной среде приобретающего желтую окраску.



Порядок выполнения: в опытную и контрольную пробирки прилить 0,5 мл глицинового буфера (рН 10,5) с 0,05 мк/моль паранитрофенилфосфата. В опытную пробу добавляют 0,05 мл сыворотки крови. Помещают в термостат при 37°C на 30 минут. Через 30 минут в обе пробирки добавляют 5 мл 0,02 н. раствора NaOH. Интенсивность окраски измеряют на ФЭКе при длине волны 405-410 нм.

Расчет активности: в мк/моль субстрата, расщепленного 0,1 л сыворотки крови за 1 минуту

$$A = E \cdot 200 \text{ мк/моль/мин л}^{-1}, \text{ где}$$

A - активность; E - экстинция; 200 - коэффициент пересчета.

Определение неорганического фосфата

Принцип метода: неорганический фосфор с молибденовой кислотой образует комплекс, который может восстанавливаться аскорбиновой кислотой с появлением синего окрашивания, интенсивность которой пропорциональна количеству неорганического фосфора в растворе.

Порядок определения

Реактивы	Опыт	Контроль	Стандартный раствор
Сыворотка после осаждения белков трихлоруксусной кислотой	2 мл	—	—
Дистиллированная вода	—	2 мл	—
Стандартный раствор фосфора	—	—	2 мл
Молибденовый реактив с аскорбиновой кислотой	4 мл	4 мл	4 мл

Перемешать, инкубировать 20 минут при 45°C в термостате, охладить, измерить оптическую плотность опыта и стандарта при 620 нм против контроля (9 светофильтр) на ФЭКе. Расчет по формуле:

$$C = \frac{2,5 \cdot E_{оп}}{E_{ст}} = \text{мк / моль / л},$$

где C - содержание фосфора; 2,5 - количество фосфора в мк/моль/мл; E_{оп} - экстинция опыта; E_{ст} - экстинция стандарта.

ЗАДАНИЕ № 13

Модуль II

Контрольные вопросы к коллоквиуму по разделу "Молекулярные основы жизнедеятельности и патологии"

1. Что такое ферменты? Их отличие от неорганических катализаторов.
2. Что называют энергетическим барьером реакции? Что такое энергия активации? Что понимают под "активированным" переходным состоянием?
3. Перечислите свойства ферментов, обусловленные их белковой природой.
4. Являются ли ферменты протеинами или протеидами? Сколько полипептидных цепей содержит молекула фермента лактатдегидрогеназа, фосфоорилаза А?
5. Дайте определения "холофермент", апофермент, кофактор, кофермент, простетическая группа фермента.
6. Что называют активным центром фермента? Охарактеризуйте активный центр у ферментов протеинов и у ферментов протеидов.
7. Как формируется активный центр фермента, какие связи участвуют в его образовании?
8. Факторы, влияющие на формирование активного центра. Возможные механизмы их действия.
9. Перечислите известные Вам "кофакторы", "коферменты", входящие в активный центр сложных ферментов.
10. Перечислите функциональные группы аминокислот, которые могут участвовать в формировании активного центра фермента.
11. Охарактеризуйте участки активного центра ферментов. Их функции.
12. Строение некоторых коферментов и простетических групп: ФАД, ФМН, ГЕМ, УДФ, π -АМФ, ЦДФ.
13. С помощью каких связей происходит присоединение субстрата к активному центру фермента? Каково значение "многоочечного" контакта фермента с субстратом?
14. В чем суть теории Д. Кошланда индуцированного (вынужденного) соответствия фермента и субстрата в процессе их контакта? Какова роль возникающих при этом напряжений?

15. Охарактеризуйте микросреду активного центра фермента. Какова его роль в процессе катализа?

16. Какие эффекты в процессе катализа способствуют ускорению протекания реакции? Чем они обусловлены?

17. Что обозначают как мультиферментные системы? В чем заключается их биороль?

18. Специфичность действия ферментов. Чем она обусловлена?

19. Основные виды (типы) специфичности действия ферментов:

- а) абсолютная субстратная специфичность;
- б) абсолютная групповая субстратная специфичность;
- в) относительная групповая субстратная специфичность;
- г) относительная субстратная специфичность.

20. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций (изобразить графически).

- а) термолабильность, температурный оптимум;
- б) рН среды. Оптимум рН для пепсина, трипсина, амилазы слюны и поджелудочной железы, липазы, аргиназы.
- в) концентрация субстрата;
- г) концентрация фермента.

21. Кинетика ферментативных реакций. Константа Михаэлиса. Что она выражает?

22. Практическое значение зависимости ферментативной активности от рН.

23. Использование в медицинской практике термозависимости ферментативной активности - гибернация, пирогенный эффект некоторых лечебных средств.

24. Методы определения и единицы активности ферментов.

25. Что такое активаторы ферментов? Каков механизм их действия?

26. Регуляция действия ферментов:

- а) аллостерический механизм регуляции. Аллостерические эффекторы-модуляторы;
- б) регуляция белковыми ингибиторами;
- в) регуляция ферментов путем фосфорилирования и дефосфорилирования;
- г) аденилатциклазная система;
- д) активация частичным протеолизом;
- е) активаторы - металлы (кофакторы);

ж) индукция синтеза ферментов - адаптивные (индуцибельные) и конститутивные ферменты.

27. Ингибиторы ферментов - обратимые и необратимые, конкурентные и неконкурентные, аллостерические.

28. Роль ингибиторов в регуляции активности ферментов - ингибиторы как лекарства, как средство изучения механизма действия ферментов в различных биохимических циклах. Константа Михаэлиса - как показатель активности фермента.

29. По какому принципу ферменты делят на классы?

30. Рациональная и шифровая номенклатура ферментов.

31. Характеристика каждого класса ферментов. Химическая природа ферментов каждого класса. Важнейшие группы ферментов внутри класса. Типы катализируемых реакций. Привести примеры.

32. К какому классу ферментов относятся дегидрогеназы? Их разновидности, строение и функции.

33. Ферменты редуктазы, их строение и функции.

34. Флавиновые ферменты, их строение и функции.

35. Цитохромы, их строение и функциональная взаимосвязь.

36. Строение ферментов монооксигеназ (гидроксилаз). Их функции.

37. Ферменты метилтрансферазы. их строение и роль в ферментативных реакциях.

38. Ферменты формилтрансферазы, ацилтрансферазы, аминотрансферазы, фосфотрансферазы (киназы), гликозил трансферазы. Их строение и функции.

39. Ферменты эстеразы, гликозидазы, пептидазы. Их строение и функции.

40. Декарбоксилазы альфа-кетокислот и аминокислот. Их коферменты. Их роль.

41. Ферменты гидратазы. Их строение и роль.

42. Альдолазы. Их строение и роль.

43. Ферменты карбоксилазы. Строение и биороль.

44. Ферментативный спектр в различных органах, тканях и крови.

45. Изоферменты. Каково биологическое значение существования множественных форм ферментов?

46. Мультиферментные системы, их биологическая роль.

47. Энзимопатология. Назовите типы энзимопатий. Охарактеризуйте их.

48. Энзимодиагностика. Изменения ферментативной активности в сыворотке крови при патологических состояниях (гепатитах и инфаркте миокарде). Ферментные спектры крови.

49. Источники ферментов сыворотки крови. Достоинства энзимодиагностики.

50. Назовите ферменты, активность которых увеличивается в сыворотке крови при рахите, инфаркте миокарде, заболеваниях печени и др. органов.

51. Наследственные энзимопатии. Механизм их происхождения.

52. Что такое витамины, провитамины?

53. Источники витаминов и потребность человека в витаминах.

54. Что означают термины авитаминоз, полиавитаминоз, гиповитаминоз, гипервитаминозы, антивитамины? Причины витаминной недостаточности.

55. Классификация и номенклатура витаминов.

56. Механизм действия витаминов. Связь витаминов с ферментами.

57. Какие витамины могут синтезироваться в организме?

58. Активные формы витаминов - коферменты. Напишите формулы НАД⁺, НАДФ, ФАД, ФМН, КоА, ТПФ (тиамин-дифосфат), пиридоксальфосфата. Их роль в биохимических реакциях. Написать катализируемые реакции.

59. Нарушение белкового питания как причина авитаминозов.

60. Перечислите биохимические эффекты производных вит. А.

61. Где и как в организме происходит регенерация II-цис-ретиная?

62. Ранние и поздние признаки авитаминоза А.

63. Какова роль витамина А в процессе зрения, в обмене веществ?

64. Назовите провитамины вит. D.

65. Назовите активные формы вит. D₃. Где в организме происходит их образование? Какова их роль в поддержании нормального уровня Са⁺⁺ и фосфора в крови?

66. Почему при употреблении печени морских животных развивается гипервитаминоз вит. А?

67. Какие соединения вит. D вам известны? Какие из них обладают биологической активностью? Механизм действия.

68. Почему гиповитаминоз вит. А в народе называют "куриной слепотой"?

69. При ионизирующем облучении организма больному назначают вит. Е. Объясните биохимический механизм действия.

70. Перечислите антивитамины вит. К и объясните механизм их действия.

71. Объясните процесс всасывания жирорастворимых витаминов.

72. Какова роль вит. К в обмене веществ?

73. Нейроэндокринные регуляторные системы организма.

74. Гормоны как сигнальные вещества. Их химическая природа, регуляция секреции.

75. Аденилатциклазный и гуанилатциклазный механизмы передачи гормональных сигналов в клетку

76. Механизм действия гормонов - ранние и поздние эффекты гормонального действия.

77. Гормональные рецепторы клеточных мембран, аденилатциклазные и гуанилатциклазные системы, вторичные посредники, протеинкиназа С (и др.), проницаемость клеточных мембран, изменение активности ключевых ферментов, изменение количества молекул ферментов в клетке и т.д.

78. Роль гормонов гипоталамуса и гипофиза.

79. Регуляция фосфорно-кальциевого обмена - производные витамина D₃, паратгормон, гальцитонин.

80. Рахит. Активность щелочной фосфотазы.

РАЗДЕЛ: Обмен энергии. Биологическое окисление

ЗАНЯТИЕ № 14

ТЕМА: Специфические и общие пути катаболизма.

Теоретические вопросы:

1. Энергетические ресурсы организма:

а) этапы превращения органических веществ и освобождение энергии (свободная энергия);

б) макроэргические соединения.

2. Структурно-функциональная организация ферментов окисления в цитозоле и митохондриях клетки.

3. Специфические пути катаболизма углеводов, жиров и белков. Образование общих (унифицированных) продуктов обмена (схема).

4. Общие пути катаболизма:

- а) пировиноградная кислота - пути ее превращения: 1) синтез оксалоацетата; 2) окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Ферменты и коферменты. Продукты реакции. Их роль.
- б) цикл трикарбоновых кислот Кребса. Последовательность реакций. Ферменты и коферменты. Продукты реакций цикла Кребса.
- 5. Биохимические функции цикла Кребса:
 - а) интеграция всех видов обмена веществ;
 - б) генератор НАДН₂ и ФАДН₂;
 - в) амфиболическая функция;
 - г) энергетическая - субстратное фосфорилирование, синтез ГТФ.

Лабораторно-практические работы

Качественные реакции на субстраты цикла Кребса

1. В пробирку вносят несколько кристаллов лимонной кислоты, во вторую - несколько кристаллов янтарной кислоты.
2. В каждую пробирку для растворения кристаллов добавляют по 1 капле дист. воды.
3. Затем в каждую пробирку прибавляют по 10-12 капель H₂SO₄ конц.
4. После этого добавить несколько кристаллов резорцина.
5. Пробирки осторожно нагревают на спиртовке, при этом наблюдаются окрашенные продукты. В случае янтарной кислоты - желтое окрашивание.
6. К охлажденным пробиркам добавляют по 10 капель дист. воды и наблюдают в ультрафиолетовом свете: лимонная кислота - голубое окрашивание, янтарная кислота - зеленое окрашивание.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Николаев Б.Ф. Биохимия, 1989.- С.212-221.
3. Березов Б.Ф., Коровкин Г.Г., 1983.- С.317-344; 1990.- С.259-267.
4. Строев Е.А., 1986.- С.190-203.
5. Кучук Э.М. Биологическое окисление. Энергетика клетки. Учебное пособие, 1997.

Контрольные вопросы и задачи:

1. В чем заключается биологическая роль процессов распада органических веществ в организме?
2. Назовите наиболее часто встречающиеся макроэргические соединения в клетках.
3. Какие вещества образуются при реакции окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты и при карбоксилировании пировиноградной кислоты?
4. Может ли идти процесс окислительного декарбоксилирования пирувата в отсутствие тиаминпирофосфата (вит. В₁), почему?
5. В чем заключается сущность цикла трикарбоновых кислот? Каково его биологическое значение? Где он локализован в клетках?
6. Какова связь между обменом углеводов, жиров, белков и циклом трикарбоновых кислот?
7. Что такое субстратное фосфорилирование? Напишите реакцию субстратного фосфорилирования с участием сукцинил-КоА. Составной частью какого процесса является это субстратное фосфорилирование?
8. Назовите субстраты окисления в цикле трикарбоновых кислот. Какова судьба водорода (электронов и протонов), освобождающихся при дегидрировании этих субстратов?
9. Какая реакция окисления в цикле трикарбоновых кислот обеспечивает поступление электронов в укороченную дыхательную цепь?
10. Сколько молекул ГТФ (АТФ) образуется в цикле трикарбоновых кислот путем субстратного фосфорилирования? Какой субстрат это обеспечивает?
11. Изобразите принципиальную схему специфических путей катаболизма углеводов, жиров, белков и их связь с общими путями катаболизма - окислительным декарбоксилированием пирувата и циклом Кребса.
12. Синтез какого количества АТФ в дыхательной цепи обеспечивает окисление одной молекулы НАД·Н₂ и одной молекулы ФАДН₂?
13. Какие ферменты цикла трикарбоновых кислот являются регуляторными? Какие метаболиты и как на них влияют?
14. Что понимают под амфиболичностью цикла трикарбоновых кислот?

ЗАНЯТИЕ № 15

ТЕМА: Тканевое дыхание - терминальный этап биологического окисления.

Теоретические вопросы:

1. Современное представление о биологическом окислении. Сущность окисления в тканях и роль кислорода.
2. Ферменты и коферменты биологического окисления:
 - 1) Дегидрогеназы. Коферменты НАД и ФАД. Строение, биологическая роль;
 - 2) Ферменты и коферменты тканевого дыхания - переносчики протонов и электронов:
 - а) флавопротеид 1.ФМН⁺. Роль,
 - б) металлопротеиды - железосерные белки,
 - в) убихинон - строение, биологическая роль,
 - г) цитохромы - гемсодержащие ферменты.
3. Дыхательная цепь, ее организация в митохондриях. Перенос протонов и электронов. Коллекторная функция НАДН-дегидрогеназы (ФП₁) и убихинона.
4. Окислительно-восстановительные потенциалы компонентов дыхательной цепи, последовательность их расположения. Редокс-потенциал.
5. Механизм сопряжения дыхания и фосфорилирования в свете хемиосмотической теории Митчелла.
6. Роль Н-АТФ-синтаз в фосфорилировании АДФ.
7. Регуляция тканевого дыхания - дыхательный контроль:
 - а) ингибиторы, блокирующие перенос электронов в дыхательной цепи;
 - б) разобщители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, свободное (нефосфорилирующее) окисление.
8. Биологическая роль тканевого дыхания. Взаимосвязь тканевого дыхания с окислительным декарбоксилированием пирувата, бета-окислением жирных кислот, циклом Кребса, окислительным дезаминированием аминокислот и др. соединений.
9. Микросомальное окисление. Связь с окислительным (фосфоглюкокатным) путем пентозофосфатного цикла. Биологическая роль.

10. Пероксидное окисление липидов, белков и др. соединений. Регуляторы свободно-радикального окисления в клетках.

Практическая работа:

1. Количественное определение каталазы крови (*Кушманова, Ивченко* - прак., 1983.- С.98, работа 37).

Л и т е р а т у р а

1. *Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.* Биохимия, 1982.- С.280-298; 1990.- С. 213-225.

2. *Николаев А.Я.*, 1989.- С. 201-212.

3. *Строев Е.А.*, 1986.- С.204-219.

Контрольные вопросы:

1. Что понимают под биологическим окислением? Что такое тканевое дыхание? Что понимают под окислением аэробным и анаэробным? В каких структурах клетки протекают процессы биологического окисления? Ферменты биологического окисления.

2. Какие межатомные связи называются макроэргическими? Назовите наиболее часто встречающиеся макроэргические вещества.

3. Что понимают под цепью транспорта электронов? Где в клетке локализованы цепи транспорта электронов?

4. В чем заключается биологическая роль дыхательной цепи?

5. Какова судьба электронов и протонов, освобождающихся в клетках в процессе распада органических субстратов? Что происходит с энергией электронов в процессе их миграции по дыхательной цепи в митохондриях?

6. Как достигается постепенность освобождения энергии в процессе транспорта электронов в дыхательной цепи?

7. От чего зависит последовательность расположения компонентов в дыхательной цепи? Что выражают окислительно-восстановительные потенциалы компонентов цепи транспорта электронов? Как изменяются величины этих потенциалов от субстрата к кислороду? Сколько энергии (в ккал и кДж) освобождается при изменении окислительно-восстановительного потенциала в дыхательной цепи на 0,2 В?

8. Что представляет собой укороченная цепь транспорта электронов? Сколько молекул АТФ образуется при прохождении по ней электронов?

9. Трансформация энергии разности окислительно-восстановительных потенциалов веществ в энергию протонного электрохимического потенциала $\Delta_m H^+$.

10. Напишите в виде схемы полную дыхательную цепь. Обозначьте места выбрасывания протонов на наружную поверхность мембраны. Напишите реакцию окисления субстрата НАД⁺ - зависимой дегидрогеназой. Напишите реакцию окисления НАДН/Н⁺ флавиновым ферментом. Покажите механизм действия кофермента ФМН. Напишите реакцию окисления ФМНН₂ с помощью убихинона.

11. Что такое цитохромы? Какие их разновидности участвуют в дыхательной цепи? Какова их функция? Чем цитохромоксидаза отличается от других цитохромов?

12. Регуляция тканевого дыхания. Разобщители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Терморегуляторная функция тканевого дыхания.

13. В каких точках дыхательной цепи блокируется перенос электронов и какими веществами? Объясните причину токсического действия синильной кислоты.

14. Окислительное фосфорилирование и коэффициент фосфорилирования Р/О в полной и укороченной дыхательной цепи.

15. Теории сопряжения окисления и фосфорилирования в процессе транспорта электронов в дыхательной цепи.

16. Хемиосмотическая теория сопряжения окисления с фосфорилированием.

17. Какие участки дыхательной цепи обеспечивают сопряжение окисления и фосфорилирования? Какой фермент в сопрягающем устройстве обеспечивает использование энергии трансмембранного потенциала?

18. Какие вещества являются разобщающими агентами? Что такое свободное окисление? В каких случаях оно усиливается?

19. Микросомальное окисление. Ферменты микросомального окисления. Связь микросомального окисления с окислительным путем пентозофосфатного цикла. Биологическая роль микросомального окисления.

20. Перекисное окисление липидов, белков и других соединений.

21. Какова роль глутатионпероксидазы и каталазы в клетках? Напишите реакции, катализируемые этими ферментами.

РАЗДЕЛ: Углеводный обмен

ЗАНЯТИЕ № 16

ТЕМА: Углеводы. переваривание, всасывание, транспорт в клетки. Гликолитический путь окисления углеводов.

ЦЕЛЕВАЯ УСТАНОВКА: Изучение роли углеводов как структурных компонентов биомолекул мембран и межклеточного матрикса. Изучение углеводного обмена, взаимосвязи обмена углеводов, белков, липидов и механизмов регуляции ферментативных процессов углеводного обмена и их нарушений при различных патологических состояниях.

Целевые задачи:

1. Углеводы. Классификация. Роль углеводов в организме.
2. Переваривание и всасывание углеводов. Облегченный транспорт.
3. Активный транспорт углеводов в клетки. Фосфорилирование моносахаридов. Гексокиназы, их изоферментный спектр. Характеристика изоферментов-гексокиназ.
4. Взаимопревращение гексоз.
5. Глюкозо-6-фосфат-основные пути превращения в клетках организма (схема).
6. Гликолитический путь превращения глюкозо-6-фосфата. Последовательность реакций. Характеристика ферментов гликолиза. Их локализация в клетке. Ключевые реакции гликолиза. Изоферменты лактат-дегидрогеназы.
7. Переключение гликолиза на аэробный путь окисления, их взаимосвязь. Продукты реакций. Малатаспартатный и глицерофосфатный механизмы транспорта внемитохондриального водорода. Энергетика анаэробной и аэробной фаз гликолиза.
8. Биологическая роль гликолиза при интенсивной мышечной работе, гипоксических состояниях. Особенности гликолиза при различных формах патологии - злокачественных опухолях, анемиях, ингибировании дыхательных ферментов (отравлениях).
9. Спиртовое и молочнокислое брожение.

10. Включение других углеводов в процесс гликолиза.

Практическая работа:

1. Определение концентрации глюкозы в крови глюкозооксидазным методом.

Л и т е р а т у р а

1. Березов. Коровкин, 1983.- С.317-344; 1990.- С.226-254, 1998 г.
2. Николаев, 1989.- С.232-243, 254-256.
3. Кучук Э.М. Обмен веществ в организме. Часть II, 2000.
4. Кушманова, Ивченко. Прак., 1983.- С7133-134.

Контрольные вопросы:

1. Какие ферменты гликолиза являются регулирующими (лимитирующими)? Их характеристика.
2. Ферменты гексокиназы. Изоферментные формы гексокиназ. Их характеристика.
3. Какова роль 2, 3-дифосфоглицериновой кислоты в изомеризации 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат?
4. Что такое молочнокислое и спиртовое брожение?
5. Напишите реакции превращения глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат. Роль глюкозо-1,6-дифосфата, фосфоглюкомутазы и Mg^{2+} .
6. Какова концентрация глюкозы в крови здорового человека?
7. На каких этапах гликолиза образуется АТФ?
8. Назовите фермент, расщепляющий фруктозо-1,6-дифосфат на две фосфотриозы. К какому классу ферментов он относится?
9. В каких тканях происходит гликолиз? Назовите клетки, в которых отсутствует аэробная фаза гликолиза. Почему?
10. Каково энергетическое значение аэробного превращения углеводов?
11. Какова судьба водорода, отнятого от 3-фосфоглицеринового альдегида в аэробных и анаэробных условиях?
12. Назовите изомеразы, участвующие в процессе гликолиза.
13. Глюкозо-1-6-дифосфат. Биологическая роль.
14. Назовите реакцию субстратного фосфорилирования в процессе гликолиза.
15. Изоферменты лактадегидрогеназы. Их характеристика.

ЗАНЯТИЕ № 17

РАЗДЕЛ: Углеводный обмен

ТЕМА: Гексозомонфосфатный (пентозофосфатный) путь превращения глюкозо-6 фосфата в клетках организма, биосинтез глюкозы-глюконеогенез.

ЦЕЛЕВАЯ УСТАНОВКА: Изучение процессов превращения глюкозо-6-фосфата по пентозофосфатному и гликолитическому пути, а также процессов глюконеогенеза как звеньев специфических путей единого механизма превращения углеводов в цитоплазме клетки.

Теоретические вопросы:

1. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы как генератор восстановительных эквивалентов НАДФН₂ и пентозо-5-фосфатов в тканях с активным биосинтезом - в печени, жировой ткани, молочной железе, коре надпочечников, эритроцитах и др.
2. Этапы пентозофосфатного шунта:
 - а) окислительный (фосфоглюконатный) путь. Ферменты и коферменты. Роль продуктов реакции;
 - б) неокислительный путь. Сопряжение пентозофосфатного шунта с гликолизом. Ферменты и коферменты. Обратимость реакций. Роль продуктов реакции.
3. Пути превращения глюкозо-6-фосфата/фруктозо-6-фосфата) в зависимости от потребности клетки в НАДФН₂, рибозе-5-фосфата и АТФ.
4. Нарушение активности ферментов пентозофосфатного пути:
 - а) недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы;
 - б) снижение активности транскетолазы вследствие нарушения связывания ТПФ с апоферментом.
5. Глюконеогенез:
 - а) схема путей глюконеогенеза;
 - б) ключевые ферменты глюконеогенеза. Их характеристика, реакции глюконеогенеза;
 - в) общность ряда ферментов гликолиза и глюконеогенеза;
 - г) предшественники глюкозы - продукты аминокислотного обмена, лактат, глицерол. Включение их в процесс глюконеогенеза;
 - д) глюкозо-лактатный цикл (Кори), глюкозо-аланиновый цикл.
6. Регуляция глюконеогенеза, роль глюкокортикоидов.
7. Синтез и мобилизация гликогена.

Л и т е р а т у р а

1. Березов, Коровкин, 1983.- С.354-360, 341-344; 1990.- С.255-259, 268-273, 1998.
2. Николаев, 1989.- С.256-260, 246-248.
3. Кучук Э.М. Обмен веществ в организме, 2000.

Контрольные вопросы и ситуационные задачи:

1. Составить схемы окислительного и неокислительного путей пентозофосфатного шунта согласно следующим условиям:
 - а) потребность в НАДФН₂ и рибозо-5-фосфате сбалансирована;
 - б) потребность в рибозо-5-фосфате значительно превышает потребность НАДФН₂;
 - в) потребность в НАДФН₂ значительно превышает потребность в рибозо-5-фосфате, гликозо-6-фосфат полностью окисляется до CO₂;
 - г) потребность в НАДФН₂ и АТФ значительно превышает потребность в рибозо-5-фосфате.
2. Перечислите ткани, где имеют место пентозофосфатное превращение глюкозо-6-фосфата.
3. Напишите реакции окислительного пути пентозофосфатного шунта. Назовите ферменты, участвующие в этом процессе.
4. Напишите реакции неокислительного пути превращения фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата в пентозо-5-фосфат. Назовите ферменты, участвующие в этом процессе.
5. Напишите реакции неокислительного пути превращения пентозо-5-фосфатов во фруктозо-6-фосфат и глицероальдегид-3-фосфат. Назовите ферменты, участвующие в реакциях.
6. Чем функционально отличается НАДФН₂ от НАДН₂ и для чего используется водород НАДФН₂?
7. Каково значение пентозофосфатного шунта?
8. Основная роль НАДФН₂ и восстановленного глутатиона в эритроцитах.
9. Какие нарушения наблюдаются при недостаточности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы?
10. Что такое глюконеогенез? Является ли этот процесс обращением гликолиза? Составьте схему реакций глюконеогенеза и обозначьте пункты трех ключевых реакций (обходные реакции гликолиза).

11. Из чего и где в клетке синтезируется оксалоацетат? Напишите реакцию.

12. Назовите ключевой фермент глюконеогенеза. Напишите реакцию.

13. Какова роль биотина и ацетил-КоА в активации пируваткарбоксилазы в синтезе оксалоацетата? Транспорт оксалоацетата в цитоплазму.

14. Перечислите промежуточные продукты обменов, из которых может образоваться в клетках глюкоза.

15. Как лактат, образованный в сокращающейся мышце, превращается в печени в глюкозу?

16. АМФ и АТФ как аллостерические модуляторы ферментов фруктокиназы и фруктозо-1-6-дифосфатазы.

17. Ацетил-КоА как модулятор ферментов пируваткарбоксилазы и пируватдегидрогеназного комплекса.

18. Фруктозо-2,6-дифосфат как аллостерический модулятор ферментов фосфофруктокиназы и фруктозо-1,6-дифосфатазы.

19. Влияние алкоголя на синтез глюкозы.

ЗАНЯТИЕ № 18

ТЕМА: Регуляция углеводного обмена и образования энергии в клетках организма. Нарушения углеводного обмена.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Компартиментация (пространственное разделение), ключевые регуляторные ферменты, гормоны и другие эффекторы - важнейшие факторы регуляции биохимических превращений углеводов и образования энергии в клетках организма.

1) Механизм активного транспорта и фосфорилирования глюкозы в клетках (инсулиннезависимые и инсулинзависимые ткани);

2) Цитоплазма клетки:

а) гликоген как резерв и источник глюкозы в клетках организма. Гормональная регуляция синтеза и мобилизации гликогена. Особенности мобилизации гликогена в мышцах и печени. Глюкоземия;

б) регуляция гликолиза и глюконеогенеза. Механизмы регуляции. Гормональные и нуклеотидные эффекторы;

в) регуляция глюкозомонофосфатного пути превращения глюкозо-6-фосфата.

- 3) Матрикс митохондрий:
 - а) окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и синтез оксалоацетата. Механизм регуляции. Эффекторы;
 - б) цикл трикарбоновых кислот. Механизмы регуляции. Эффекторы.
- 4) Внутренняя мембрана митохондрий:
 - а) ферменты дыхательной цепи. Сопряжение дыхания и фосфорилирования.
 - б) регуляция - дыхательный контроль. Ингибиторы дыхания и фосфорилирования. Ингибиторы дыхания. Разобщители окислительного фосфорилирования. Ингибиторы АТФ-синтазы.
2. Нарушения углеводного обмена.
 - 1) Гипогликемия, гипергликемия, глюкозурия, почечный порог для глюкозы, сахарные кривые и их диагностическое значение.
 - 2) Виды глюкозурии. Сахарный диабет. Механизм его развития.
 - 3) Наследственные ферментопатии. Галактоземия, фруктозурия, непереносимость лактозы, гликогенозы, гликозидозы.

Л и т е р а т у р а

1. Березов, Коровкин, 1990.- С.243, 267, 273-275; 1983.- С.279, 361-365.
2. Николаев, 1989.- С.234-236, 245-256, 269-270.
3. Строев, 1986.- С.233-239, 256-258, 228-229.

Контрольные вопросы

1. Роль нервной системы в регуляции углеводного обмена.
2. Механизм действия инсулина, адреналина, глюкагона, глюкокортикоидов, тироксина и других гормонов на углеводный обмен.
3. Регуляция углеводного обмена субстратами (примеры). Регуляция углеводного обмена посредством регуляторных ферментов в гликолизе, в Ц.Т.К.
4. Взаимосвязь между гликолизом и циклом Кребса. Эффект Пастера.
5. Роль соотношения АТФ/АДФ в регуляции углеводного обмена.
6. Сахар крови. Гипо- и гипергликемия. Гликозурия.
7. Виды глюкозурии. Сахарный диабет. Механизм его развития.
8. Наследственные ферментопатии. Гликогенозы, галактоземия, фруктозурия, непереносимость лактозы. Гликозидозы.

**Контрольные вопросы зачетного занятия
по разделам "Биологическое окисление,
энергетика клетки и углеводный обмен"**

I. Общие и специфические пути катаболизма:

1. Энергетические ресурсы организма:
 - а) этапы превращения органических веществ и освобождение энергии (свободная энергия);
 - б) макроэргические соединения.
2. Структурно-функциональная организация ферментов окисления в цитозоле и митохондриях клетки.
3. Специфические пути катаболизма углеводов, жиров и белков. Образование общих (унифицированных) продуктов обмена (схема).
4. Общие пути катаболизма:
 - а) пировиноградная кислота - пути ее превращения. 1) синтез оксалоацетата; 2) окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Ферменты и коферменты. Продукты реакции. Их роль;
 - б) цикл трикарбоновых кислот Кребса. Последовательность реакций. Ферменты и коферменты. Продукты реакций цикла Кребса.
5. Биохимические функции цикла Кребса:
 - а) интеграция всех видов обмена веществ;
 - б) генератор НАДН₂ и ФАДН₂;
 - в) Анаболическая функция;
 - г) Энергетическая - субстратное фосфорилирование, синтез ГТФ.
6. В чем заключается биологическая роль процессов распада органических веществ в организме?
7. Какие межклеточные связи называют макроэргическими? Назовите наиболее часто встречающиеся макроэргические вещества.
8. Какие вещества образуются при реакции окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты и при карбоксилировании пировиноградной кислоты?
9. Может ли идти процесс окислительного декарбоксилирования пирувата в отсутствие тиаминапирофосфата (вит. В₁), почему?
10. В чем заключается сущность цикла трикарбоновых кислот? Каково его биологическое значение? Где он локализован в клетках?

11. Какова связь между обменом углеводов, жиров, белков и циклом трикарбоновых кислот?

12. Что такое субстратное фосфорилирование? Напишите реакции субстратного фосфорилирования с участием сукцинал-КоА. Составной частью какого процесса является это субстратное фосфорилирование?

13. Назовите субстраты окисления в цикле трикарбоновых кислот. Какова судьба водорода (электронов и протонов), освобождающихся при дегидрировании этих субстратов?

14. Какая реакция окисления в цикле трикарбоновых кислот обеспечивает поступление электронов в укороченную дыхательную цепь?

15. Сколько молекул ГТФ (АТФ) образуется в цикле трикарбоновых кислот путем субстратного фосфорилирования? Какой субстрат это обеспечивает?

16. Изобразите принципиальную схему специфических путей катаболизма углеводов, жиров, белков и их связь с общими путями катаболизма - окислительным декарбоксилированием пирувата и циклом Кребса.

17. Синтез какого количества АТФ в дыхательной цепи обеспечивает окисление одной молекулы НАДН₂ и одной молекулы ФАДН₂?

18. Какие ферменты цикла трикарбоновых кислот являются регуляторными? Какие метаболиты и как на них влияют?

19. Что понимают под амфиболичностью цикла трикарбоновых кислот?

II. Тканевое дыхание. Пероксиды

20. Современное представление о биологическом окислении. Сущность окисления в тканях и роль кислорода.

21. Ферменты и коферменты биологического окисления: 1) дегидрогеназы. Коферменты НАД и ФАД. Строение, биологическая роль. 2) Ферменты и коферменты тканевого дыхания - переносчики протонов и электронов:

- а) флавопротеид 1.ФМН⁺. Роль;
- б) металлопротеиды - железосерные белки;
- в) убихинон-строение, биологическая роль;
- г) цитохромы - гемсодержащие ферменты.

22. Дыхательная цепь, ее организация в митохондриях. Перенос протонов и электронов. Коллекторная функция НАДН-дегидрогеназы (ФП₁) и убихинона.

23. Окислительно-восстановительные потенциалы компонентов дыхательной цепи, последовательность их расположения. Редокс-потенциал.

24. Механизм сопряжения дыхания и фосфорилирования в свете хемиосмотической теории Митчелла.

25. Роль Н-АТФ-синтетаз в фосфорилировании АДФ.

26. Регуляция тканевого дыхания - дыхательный контроль:

а) ингибиторы, блокирующие перенос электронов в дыхательной цепи;

б) разобщители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования: свободное (нефосфорилирующее) окисление.

27. Биологическая роль тканевого дыхания. Взаимосвязь дыхательной цепи с окислительным декарбоксилированием пирувата, бета-окислением жирных кислот, циклом Кребса, окислительным дезаминированием аминокислот и др. соединений.

28. Микросомальное окисление. Связь с окислительным путем пентозофосфатного цикла. Биологическая роль микросомального окисления.

29. Пероксидное окисление липидов, белков и др. соединений. Регуляторы свободно-радикального окисления в клетках.

30. Что понимают под биологическим окислением? Что такое тканевое дыхание? Что понимают под окислением аэробным и анаэробным? В каких структурах клетки протекают процессы биологического окисления? Ферменты биологического окисления.

31. Какие межатомные связи называются макроэргическими? Назовите наиболее часто встречающиеся макроэргические вещества.

32. Что понимают под цепью транспорта электронов? Где в клетке локализованы цепи транспорта электронов?

33. В чем заключается биологическая роль дыхательной цепи?

34. Какова судьба электронов (и протонов), освобождающихся в клетках в процессе распада органических субстратов? Что происходит с энергией электронов в процессе их миграции по дыхательной цепи в митохондриях?

35. Какова роль электронов в образовании протонного потенциала в процессе их миграции по дыхательной цепи в митохондриях?

36. От чего зависит последовательность расположения компонентов в дыхательной цепи? Что выражают окислительно-восстановительные потенциалы компонентов цепи транспорта электронов? Как изменяются

величины этих потенциалов от субстрата к кислороду? Сколько энергии (в ккал и кДж) освобождается при изменении окислительно-восстановительного потенциала в дыхательной цепи на 0,2 В?

37. Что представляет собой укороченная цепь транспорта электронов? Сколько молекул АТФ образуется при прохождении по ней 2 электронов?

38. Трансформация энергии разности окислительно-восстановительных потенциалов веществ в энергию протонного электрохимического потенциала $\Delta_{\text{m}}H^+$.

39. Напишите в виде схемы полную дыхательную цепь. обозначьте места выбрасывания протонов на наружную поверхность мембраны. Напишите реакцию окисления субстрата НАД⁺ - зависимой дегидрогеназой. Напишите реакцию окисления НАДН⁺/Н⁺ флавиновым ферментом (покажите механизм действия кофермента ФМН). Напишите реакцию окисления ФМНН₂ с помощью убихинона.

40. Что такое цитохромы? Какие их разновидности участвуют в дыхательной цепи? Какова их функция? Чем цитохромоксидаза отличается от других цитохромов?

41. Регуляция тканевого дыхания. Разобщители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Терморегуляторная функция тканевого дыхания.

42. В каких точках дыхательной цепи блокируется перенос электронов и какими веществами? Объясните причину токсического действия синильной кислоты.

43. Окислительное фосфорилирование и коэффициент фосфорилирования Р/О в полной и укороченной дыхательной цепи.

44. Теории сопряжения окисления и фосфорилирования в процессе транспорта электронов в дыхательной цепи.

45. Хемииосмотическая теория сопряжения окисления с фосфорилированием.

46. Какие участки дыхательной цепи обеспечивают сопряжение окисления и фосфорилирования? Какой фермент в сопрягающем устройстве обеспечивает использование энергии трансмембранного потенциала?

47. Какие вещества являются разобщающими агентами? Что такое свободное окисление? В каких случаях оно усиливается?

48. Микросомальное окисление. Ферменты микросомального окисления. Связь окислительного пути пентозофосфатного шунта с микро-

сомальным окислением. Биологическая роль микросомального окисления.

49. Перекисное окисление липидов, белков и других соединений.

50. Какова роль глутатионпероксидазы и каталазы в клетках? Напишите реакции, катализируемые этими ферментами.

III. Углеводный обмен

51. Углеводы. Классификация. Роль углеводов в организме.

52. Переваривание и всасывание углеводов. Облегченный транспорт.

53. Активный транспорт углеводов в клетки. Фосфорилирование моносахаридов. Гексокиназы, их изоферментный спектр. Характеристика изоферментов гексокиназ.

54. Взаимопревращение гексоз.

55. Глюкозо-6-фосфат - основные пути превращения в клетках организма (схема).

56. Гликолитический путь превращения глюкозо-6-фосфата. Последовательность реакций. Характеристика ферментов гликолиза. Их локализация в клетке. Ключевые реакции гликолиза. Изоферменты лактатдегидрогеназы.

57. Переключение гликолиза на аэробный путь окисления, их взаимосвязь. Продукты реакций. Малатаспартатный и глицерофосфатный механизмы транспорта внемитохондриального водорода. Энергетика анаэробной и аэробной фаз гликолиза.

58. Биологическая роль гликолиза при интенсивной мышечной работе, гипоксических состояниях. Особенности гликолиза при различных формах патологии - злокачественных опухолях, анемиях, ингибировании дыхательных ферментов (отравлениях).

59. Спиртовое и молочнокислое брожение.

60. Включение других углеводов в процесс гликолиза.

61. Какие ферменты гликолиза являются регулирующими (лимитирующими). Их характеристика.

62. Ферменты гексокиназы. Изоферментные формы гексокиназ. Их характеристика.

63. Какова роль 2,3-дифосфоглицериновой кислоты в изомерации 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат?

64. Что такое молочнокислое и спиртовое брожение?

65. Напишите реакции превращения глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат. Роль глюкозо-1,6-дифосфата, фосфоглюкомутазы и Mg^{2+} .

66. Какова концентрация глюкозы в крови здорового человека?
67. На каких этапах гликолиза образуется АТФ?
68. Назовите фермент, расщепляющий фруктозо-1,6-дифосфат на две фосфотриозы? К какому классу ферментов он относится?
69. В каких тканях происходит гликолиз? Назовите клетки, в которых отсутствует аэробная фаза гликолиза. Почему?
70. Каково энергетическое значение аэробного превращения углеводов?
71. Какова судьба водорода, отнятого от 3-фосфоглицеринового альдегида при гликолизе в анаэробных и аэробных условиях?
72. Назовите реакцию субстратного фосфорилирования в процессе гликолиза.
73. Назовите изомеразы, участвующие в процессе гликолиза.
74. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы как генератор восстановительных эквивалентов НАДФН₂ и пентозо-5-фосфатов в тканях с активным биосинтезом - печени, жировой ткани, молочной железе, коре надпочечников, эритроцитах и др.
75. Этапы пентозофосфатного шунта:
- а) окислительный (фосфоглюконатный) путь. Ферменты и коферменты. Роль продуктов реакции;
 - б) неокислительный путь. Сопряжение пентозофосфатного шунта с гликолизом. Ферменты и коферменты. Обратимость реакций. Роль продуктов реакций.
76. Пути превращения глюкозо-6-фосфата (фруктозо-6-фосфата) в зависимости от потребности клетки в НАДФН₂, рибозе-5-фосфата и АТФ.
77. Нарушение активности ферментов пентозофосфатного пути:
- а) недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы;
 - б) снижение активности транскетолазы вследствие нарушения связывания ТПФ с апоферментом.
78. Глюконеогенез:
- а) схема путей глюконеогенеза;
 - б) ключевые ферменты глюконеогенеза. Их характеристика, реакции глюконеогенеза;
 - в) общность ряда ферментов гликолиза и глюконеогенеза;
 - г) предшественники глюкозы - продукты аминокислотного обмена, лактат, глицерол. Включение их в процесс глюконеогенеза;
 - д) глюкозо-лактатный цикл (Кори), глюкозо-аланиновый цикл.

79. Регуляция гликонеогенеза. Роль глюкокортикоидов.

80. Синтез и мобилизация гликогена.

81. Составить схемы окислительного и неокислительного путей пентозофосфатного шунта согласно следующим условиям:

- а) потребность в НАДФН₂ и рибозо-6-фосфата сбалансирована;
- б) потребность в рибозо-5-фосфата значительно превышает потребность в НАДФН₂;
- в) потребность в НАДФН₂ значительно превышает таковую в рибозо-5-фосфате, глюкозо-6-фосфат полностью окисляется до СО₂;
- г) потребность в НАДН₂ и АТФ значительно превышает потребность в рибозо-5-фосфате.

82. Перечислите ткани, где имеет место пентозофосфатное превращение глюкозо-6-фосфата.

83. Напишите реакции окислительного пути пентозофосфатного шунта. Назовите ферменты, участвующие в этом процессе.

84. Напишите реакции неокислительного пути превращения фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата в пентозо-5-фосфат. Назовите ферменты, участвующие в этом процессе.

85. Напишите реакции неокислительного пути превращения пентозо-5-фосфатов во фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат. Назовите ферменты, участвующие в реакциях.

86. Чем функционально отличается НАДФН₂ от НАДН₂ и для чего используется водород НАДФН₂?

87. Каково значение пентозофосфатного шунта?

88. Основная роль НАДФН₂ и восстановленного глутатиона в эритроцитах.

89. Какие нарушения наблюдаются при недостаточности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы?

90. Что такое гликонеогенез? Является ли этот процесс обращением гликолиза? Составьте схему реакций гликонеогенеза и обозначьте пункты трех ключевых реакций (обходные реакции гликолиза).

91. Из чего и где в клетке синтезируется оксалоацетат? Напишите реакции.

92. Назовите ключевой фермент гликонеогенеза. Напишите реакцию.

93. Какова роль биотина и ацетил-КоА в активации пируват-карбоксилазы-синтетазы оксалоацетата?

IV. Регуляция и патология углеводного обмена

94. Комpartmentация (пространственное разделение), ключевые регуляторные ферменты, гормоны и другие эффекторы - важнейшие факторы регуляции биохимических превращений углеводов и образования энергии в клетках организма. 1) Механизм активного транспорта и фосфорилирования глюкозы в клетках (инсулиннезависимые и инсулинзависимые ткани). 2) Цитоплазма клетки:

- а) гликоген - как резерв и источник глюкозы в клетках организма; гормональная регуляция синтеза и мобилизации гликогена. Особенности мобилизации гликогена в мышцах и печени. Глюкоземия;
 - б) регуляция гликолиза и глюконеогенеза. Механизмы регуляции. Гормональные и нуклеотидные эффекторы;
 - в) регуляция глюкозомонофосфатного пути превращения глюкозо-6-фосфата.
- 3) Матрикс митохондрий:
- а) окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и синтез оксалоацетата. Механизмы регуляции. Эффекторы;
 - б) цикл трикарбоновых кислот. Механизмы регуляции. Эффекторы.
- 4) Внутренняя мембрана митохондрий: ферменты дыхательной цепи. Сопряжение дыхания и фосфорилирования. Ингибиторы дыхания. Разобщители окислительного фосфорилирования. Ингибиторы АТФ-синтетазы.

95. Нарушения углеводного обмена. 1) гипогликемия, гипергликемия, глюкозурия, почечный порог для глюкозы, сахарные кривые и их диагностическое значение; 2) виды глюкозурии. Сахарный диабет. Механизм его развития; 3) наследственные ферментопатии. Галактоземия, фруктозурия, непереносимость лактозы, гликогенозы, гликозидоры.

96. Роль нервной системы в регуляции углеводного обмена.

97. Механизм действия инсулина, адреналина, глюкагона, глюкокортикоидов, тироксина и других гормонов на углеводный обмен.

98. Регуляция углеводного обмена субстратами (примеры). Регуляция углеводного обмена посредством изменения активности регуляторных ферментов гликолиза и Ц.Т.К.

99. Взаимосвязь между гликолизом и циклом Кребса. Эффект Пастера.

100. Роль соотношения АТФ/АДФ в регуляции углеводного обмена.

101. Сахар крови. Гипо- и гипергликемия. Глюкозурия.

РАЗДЕЛ: Обмен и функции липидов

ЗАНЯТИЕ № 19

ТЕМА: Химия и обмен липидов.

ЦЕЛЬ: Уметь применять знания о строении, функциях, метаболизме липидов и его регуляции в норме для познания биохимических основ ряда заболеваний, связанных с нарушением обмена липидов.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Классификация липидов, характеристика классов.
2. Строение, свойства и функции липидов тканей человека.
3. Переваривание и всасывание липидов пищи. Роль желчных кислот. Ресинтез жира в клетках кишечника. Образование хиломикронов. Транспорт жира из клеток кишечника.
4. Липопротеины крови - хиломикроны, ЛПОНП (липопротеины очень низкой плотности), ЛПНП (липопротеины низкой плотности), ЛПВП (липопротеины высокой плотности). Их состав и функции. Липопротеинлипаза крови.
5. Промежуточный обмен липидов
 - а) внутриклеточный липолиз;
 - б) В-окисление жирных кислот. Связь с циклом Кребса и дыхательной цепью; в) метаболизм кетоновых тел.
6. Функции и пути превращения полиеновых жирных кислот в организме человека:
 - а) пероксидное окисление непредельных высших жирных кислот,
 - б) превращение полиеновых жирных кислот в эндопероксиды: простогландины. Тромбоксаны, простациклины, лейкотриены.
7. Лабораторно-практические работы:
 - 1) Кинетика действия липазы. Ход работы: 10 г свежемороженой ткани поджелудочной железы растирают в ступке 5-6 мин. с 10 мл воды. Затем гомогенат профильтровывают через три слоя марли. В две колбы (опыт и контроль) на 200 мл наливают по 100 мл молока в разведении 1:1. В обе колбы добавляют по 3 мл профильтрованной вытяжки поджелудочной железы, затем в опытную 2 мл желчи, а в контрольную 2 мл воды. Обе колбы ставят в термостат при температуре 38°-40°. Из каждой колбы отбирают по 10 мл смеси в две колбы, добавляют по 1-2

капли 0,5% р-ра фенолфталеина и титруют 0,05 н р-ром едкого натри до слабopозовой окраски, не исчезающей в течении 30 секунд.

Проводят 3-4 таких определений с промежутком 15 минут. В начале опыта определяют исходную кислотность молока. Для чего к 5 мл цельного молока добавляют 5 мл воды, 1-2 капли фенолфталеина и титруют 0,05 н р-ром NaOH.

Данные заносят в таблицу

Время инкубирования, мин.	Количество 0,05 н NaOH, пошедшей на титрование	
	проба без желчи	проба с желчью
0		
15		
30		
45		
60		

В ы в о д ы :

В конце опыта на основании полученных данных строят график, где на оси абсцисс откладывают время в минутах, а на оси ординат - количество миллилитров 0,05 н раствора щелочи. Определив константу Михаэлиса, рассчитать активность липазы с участием желчных кислот и без них.

2) Качественные реакции на ацетон и ацетоуксусную кислоту:

Реакции на ацетон: в пробирку наливают 1 кап. мочи и 1 кап. 10% раствора нитропруссиды натрия. Появляется оранжево-красное окрашивание. Если добавить 3 кап. лед. CH_3COOH появляется вишнево-красное окрашивание.

Реакции на ацетоуксусную кислоту: в пробирку наливают 5-10 кап. мочи, добавляют по каплям 5% р-ра FeCl_3 и при наличии ацетоуксусной кислоты появляется вишнево-красное окрашивание. При стоянии бледнеет, происходит декарбоксилирование ацетоуксусной кислоты.

Л и т е р а т у р а

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1990. - С.276-300, 199-202; 1983 - С.264-267, 366-390, 1998.
2. Николаев А.Я., 1985. - С.223-227, 270-276, 396-397.
3. Кучук Э.М. Обмен веществ в организме. Часть III, 2000.
4. Кушманова, Ивченко. Прак., 1983. - С.149-152, 166-169.

Контрольные вопросы и задачи:

1. Укажите правильный порядок этапов ассимиляции жиров ($\rightarrow \dots \rightarrow \dots \rightarrow \dots \rightarrow \dots \rightarrow \dots \rightarrow \dots \rightarrow \dots$) 1) всасывание, 2) ресинтез жиров, 3) гидролиз жира (панкреатическая липаза), 4) поступление в ткани, 5) транспорт кровью, 6) образование хиломикронов, 7) действие липопротеинлипазы крови.

2. Желчные кислоты. Их роль в переваривании и всасывании липидов.

3. Начертить график, отражающий изменения содержания липидов в сыворотке крови после обильного приема пищи с высоким содержанием липидов.

4. Какие из липопротеидов будут преобладать в сыворотке крови через 4 часа после приема насыщенной жирами пищи?

5. Внутриклеточный липолиз. Каскадный механизм активации ферментов внутриклеточного липолиза глюкокортикоидом и адреналином.

6. Ферменты бета-окисления жирных кислот, их локализация в клетке.

7. Корнитин-ацилтрансфераза и транспорт жирных кислот в митохондрии.

8. Энергетический баланс окисления жирных кислот. Рассчитать количество молекул АТФ, образующихся при окислении пальмитиновой кислоты.

9. Напишите реакцию окисления глицерина. Связь с гликолизом.

10. Особенности окисления жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. Метаболизм пропионил-КоА.

11. Роль кортикостероидов и фермента простагландинсинтазы в механизме синтеза простагландинов.

12. Функции простагландинов в организме человека.

13. Роль липидных перекисей в изменении микровязкости липидов мембран, проницаемости мембран и изменение активности ряда мембранных ферментов. Механизм действия эндопероксидов.

14. Природные антиоксиданты-ингибиторы перекисного окисления липидов.

15. Роль свободнорадикального окисления липидов в повреждении мембран клеток при лучевой болезни.

16. Механизм противовоспалительного действия аспирина и индометацина.

17. Функции простагландинов в организме. Роль простагландинов и патологии.

18. Диагностическое значение определения липидов и продуктов их обмена в крови и моче.

ЗАНЯТИЕ № 20

ТЕМА: Биосинтез липидов. Регуляция и патология липидного обмена.

ЦЕЛЬ ИЗУЧЕНИЯ: Уметь использовать знания о регуляции биосинтеза липидов, их взаимосвязи с углеводным и белковым обменом для понимания патогенеза некоторых заболеваний, связанных с нарушением липидного обмена.

Теоретические вопросы:

1. Промежуточные продукты углеводного и белкового обмена как строительный материал для синтеза липидов.

2. Синтез высших жирных кислот в клетках организма. Организация полиферментного комплекса синтеза жирных кислот. Роль биотина, HS-АПБ-комплекса, НАДФН₂ - продукта пентозофосфатного цикла.

3. Образование фосфоглицерина. Связь с гликолизом. Биосинтез триацилглицеридов. Роль ацил-КоА.

4. Синтез фосфолипидов. Роль ЦТФ, АТФ, метионина, холина, непредельных высших жирных кислот.

5. Синтез холестерина в организме. Роль ацетил-КоА, АТФ НАДФН₂. Регуляция обмена холестерина. Выведение продуктов обмена холестерина.

6. Гормональная регуляция липидного обмена. Взаимосвязь углеводного и липидного обмена.

7. Нарушения липидного обмена: роль ЛПНП и ЛПОНП в возникновении атеросклероза, ожирении. Сахарный диабет.

Лабораторно-практические работы

1. Качественное определение холестерина в ткани мозга:

Пояснение к работе: к 10 кап. хлороформного экстракта мозга добавить 10 кап. уксусного ангидрида и 2-3 кап. H₂SO₄ конц. Хорошо перемешать, при этом наблюдается зеленое окрашивание.

2. Определение содержания бета-липопротеинов в сыворотке крови.

Л и т е р а т у р а

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1990. - С.300-317; 1983. - С.401-425.
2. Николаев А.Я., 1989. - С.276-303.
3. Строев Е.А., 1986. - С.262-272.
4. Кушманова, Ивченко. Руководство к лаб.занятиям, 1983. - С.162, 164-165.

Контрольные вопросы:

1. Липопротеины плазмы крови. Их состав. Диагностическое значение их определения.
2. Ацетил - КоА. Его образование и использование в организме.
3. Сколько молекул АТФ может образоваться при окислении масляной кислоты до конечных продуктов?
4. Синтез кетоновых тел. Факторы, способствующие синтезу. Значение кетоновых тел в организме. Диагностическое значение определения.
5. Регуляция липидного обмена (влияние гормонов, промежуточных и конечных продуктов липидного и углеводного обмена).
6. Патология липидного обмена (атеросклероз, ожирение, сахарный диабет, цирроз печени, наследственные заболевания липидного обмена).
7. Биологическая роль холестерина и фосфолипидов.
8. В каких клеточных структурах локализованы ферменты синтеза жирных кислот, холестерина, фосфолипидов?
9. Какие из ниже перечисленных веществ являются факторами риска развития атеросклероза? Ожирения? - ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП, ксилоникотин.
10. Роль печени в липидном обмене.
11. Перечислите витамины и кофакторы, принимающие участие в ферментативных реакциях синтеза жирных кислот, фосфолипидов.
12. Особенности липидного обмена в печени и мышечной ткани при углеводном голодании.

РАЗДЕЛ: Обмен белков и аминокислот

ЗАНЯТИЕ № 21

ТЕМА: Белковое питание. Переваривание белков, всасывание продуктов распада белков.

ЦЕЛЬ: Уметь применять знания о биологической роли белков и аминокислот, о полноценности белков пищи, о механизме действия ферментов протеинах при переваривании белков для анализа патологических состояний, связанных с нарушением белкового питания, процессов пищеварения и поступления аминокислот в организм.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Белковое питание. Пищевая ценность белков. Источники аминокислот крови. Азотистое равновесие.
2. Переваривание белков:
 - а) источники протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта;
 - б) эндопептидазы и экзопептидазы. Образование активных форм ферментов, субстратная специфичность, механизм действия ферментов пептидаз на примере химотрипсина или карбокси-пептидаз;
 - в) переваривание белков в желудке. Роль соляной кислоты;
 - г) переваривание белков в кишечнике. Пристеночное пищеварение;
 - д) регуляция пищеварения;
 - е) превращения аминокислот под действием микрофлоры кишечника. Биологически активные амины и другие токсичные вещества.
3. Всасывание продуктов распада белков и пути использования аминокислот крови в организме.
4. Механизмы обезвреживания в печени токсичных продуктов превращения аминокислот в кишечнике:
 - а) реакции гидроксирования;
 - б) реакции окислительного дезаминирования аминов;
 - в) реакции конъюгирования.
5. Нарушения переваривания белков.

Лабораторно-практические работы

1. Количественное определение кислотности желудочного сока

Пункт титрования	Наименование индикатора	К-во 0,1 н NaOH, пошедшей на титр 5 мл жел.сока	Окраш.	Свободная HCl (кл.ед)	Общая кислотность (кл.ед)
1	П-диметил-аминоазобензол				
2	Фенолфталеин				

Выводы:

2. Патологические составные части желудочного сока и их обнаружение.

3. Клинический анализ желудочного сока (задача) провести по схеме:

- а) определить pH желудочного сока с помощью индикаторной бумаги "Рифан";
- б) провести качественную реакцию на кровь и молочную кислоту;
- в) определить свободную и общую кислотность желудочного сока в одной пробе с двумя индикаторами. Поставить предварительный диагноз.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1990. - С.318-337; 1983. - С.426-461.
2. Николаев А.Я., 1989.- С.303-308, 413-415.
3. Строев Е.А., 1986. - С.178-181, 184-185, 188-189.
4. Кушманова, Ивченко. Руководство к лабораторным занятиям по биохимии. 1983. - С.168-174. Раб.: № 66, 67.

Информация к размышлению - контрольные вопросы и задачи:

1. Критерии полноценности белков пищи.
2. Механизмы активации проферментов-пепсиногена, трипсиногена, химотрипсиногена.

3. Значение pH для действия ферментов гидролаз в различных пищеварительных соках.

4. Субстратная специфичность протеиназ-избирательность гидролиза пептидных связей трипсином, химотрипсином и другими ферментами.

5. Желудочный сок. Состав. Общая кислотность, свободная и связанная соляная кислота. Их нормативы.

6. Патологические изменения кислотности желудочного сока (гипо-, гиперхлоргидрия, ахилия). Патологические составные части желудочного сока. Диагностическое значение их определения.

7. Диагностическое значение определения парных серных кислот и глюкуронидов в моче.

8. Какие функции выполняет соляная кислота в желудке?

9. Суточные возрастные нормативы потребностей белков и незаменимых аминокислот для человека.

10. Отрицательный и положительный азотистый баланс.

11. Белковое голодание и авитаминозы.

Таблица 1

Компоненты желудочного сока в норме и при некоторых патологических состояниях

	pH	Кислотность*			Пепсин	Внутр. фактор	Молоч. кислота	Желчные к-ты	Кровь
		общая	связанная HCl	свободная HCl					
Норма	1,5-2,0	40-60	20-30	20-40	+	+	-	-	-
Гиперацидный гастрит	1,0	60		40	+	+	-	+	-
Гипоацидный гастрит	2,5	40		20	+	+	+	-	-
Анацидный гастрит (ахилия)	6,0-8,0								
Злокачественные опухоли желудка	2,0	40-60		20	+	+	+	На поздних стадиях	
Язва желудка	1,5	60 не всегда		40 не всегда	+	+	-	Часто + при активном процессе	

*Кислотность - выражается количеством 0,1 М NaOH в мл. затраченных на титрование 100 мл жел.сока по определенному индикатору.

Примечание: 1 - При диагностике желудочных заболеваний кроме биохимических обязательно проводят рентгенологические и эндоскопические исследования, делают биопсию.

- 2 - "Внутренний фактор" (фактор Кастла) способствует всасыванию витамина В₁₂ в тонком кишечнике. Отсутствие этого витамина приводит к развитию одной из форм анемии - пернициозной анемии. Кислотность - выражается количеством 0,1 М NaOH в мл, затраченных на титрование 100 мл жел.сока по определенному индикатору.

ЗАНЯТИЕ № 22

ТЕМА: Промежуточный обмен аминокислот.

ЦЕЛЬ: Получить практические навыки по определению активности аминотрансфераз и содержания мочевины в биологических жидкостях. Уметь применять знания о процессах катаболизма и синтеза аминокислот для понимания значения обмена аминокислот в норме и для анализа патологических состояний, связанных с нарушением обмена аминокислот.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Трансмембранный перенос аминокислот в клетки.
2. Пути распада аминокислот в организме, связанные с реакциями трансдезаминирования: а) трансаминирование. Аминотрансферазы и их коферменты. Аминотрансферазы крови (АсАТ и АлАТ) и диагностическое значение их определения; б) реакции дезаминирования. Ферменты и коферменты. Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты; в) не прямое дезаминирование аминокислот; г) судьба безазотистых остатков аминокислот - пять пунктов включения их в цикл трикарбоновых кислот; д) особенности обезвреживания аммиака в клетках различных тканей организма и его транспорт в печень и почки; е) орнитинный цикл мочевинообразования в печени. Образование аммонийных солей в почках.
3. Биосинтез заменимых аминокислот из промежуточных продуктов углеводного обмена: а) восстановительное аминирование альфа-кетоглутаровой кислоты, б) реакции трансреаминирования.
4. Гормональная регуляция обмена аминокислот - глюкагон, инсулин, кортизол.
5. Остаточный азот крови. Нормативы содержания мочевины в суточной моче. Диагностическое значение их определения.

Лабораторно-практические работы:

Определение активности аспаратаминотрансферазы (АсАт) и аланинаминотрансферазы (алАТ) сыворотки крови

Принцип метода: аспарат-аминотрансфераза (К.Ф.2.6.1.1.) катализирует реакцию между альфа-аспаратом и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в альфа-глутамат и оксалоацетат. Определение основано на измерении оптической плотности гидрозонов 2-оксоглутаровой и оксалоацетата в щелочной среде. Аланинаминотрансфераза (К.Ф.2.6.1.2.) катализирует реакцию между альфа-аланином и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в альфа-глутамат и соль пировиноградной кислоты. Определение основано на измерении оптической плотности гидрозонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислоты в щелочной среде.

Реактивы: Раствор №2/2, 4-динитрофенилгидразин 1 ммоль/л и HCl 1 моль/л №2/NaOH 0,4н/, №4 (субстрат (асАТ)), №5 субстрат АлАТ (№6) физраствор.

Оборудование: ФЭК, термостат, пипетки на 0,1 мл, 5мл, бюретка на 25 мл. Проведение анализа определения активности АсАТ. Длина волны 490 нм, кювета - 1 см, ФЭК.

Отмерить (мл)	Проба	Контрольный раствор
Реактив №4	0,5	0,5
Физиологический р-р	—	0,1
Сыворотка крови	0,1	—
Инкубируют 45 мин при 37°C реактив №2	0,5	0,5
Перемешивают и оставляют на 15 мин при комнатной температуре р-р NaOH	0,5	0,5
Перемешивают и спустя 10 мин определяют оптическую плотность		

Параллельно определяют активность АлАТ, причем вместо раствора №4 приливают раствор №5.

Расчет

По оптической плотности - пробы АсАТ/А и АлАТ/В, на соответствующем калибровочном графике находят активность АсАТ в сыворотке крови.

Нормативные величины:

Активность АсАТ, АлАТ - 0,06-0,14 мкмоль/л

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия; 1982.— С. 461-483; 1990.—С. 337-344, 350-354.
3. Николаев, 1989. — С. 303-323.
4. Строев А.Я., 1986. — С. 277-285.
5. Кучук Э.М. Обмен веществ в организме. Часть IV — Обмен белков и аминокислот. Бишкек, 2000.

Контрольные вопросы и задачи:

1. Какова судьба всосавшихся аминокислот в организм?
2. Транспорт аминокислот через клеточные мембраны.
3. Четыре типа реакций дезаминирования аминокислот.
4. Реакции окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты.
5. Реакции трансаминирования. Коферментная функция пиридоксальфосфата.
6. Реакции восстановительного аминирования. Их роль в синтезе заменимых аминокислот.
7. Обезвреживание аммиака в клетках мозга, мышечной и других тканях.
8. Механизм обезвреживания аммиака в печени и почках. Написать реакции.
9. Диагностическое значение определения активности аминотрансфераз крови при заболеваниях печени и инфаркте миокарда.
10. Роль глутаминовой и альфа-кетоглутаровой кислот в реакциях трансдезаминирования (дать схему).

Особенности обмена аммиака в различных тканях. Значение этого процесса для поддержания кислотно-основного равновесия

Около 10-15% аминокислот в клетках различных органов и тканей организма используется для энергетического обеспечения. В процессе окислительного дезаминирования образующийся аммиак обезвреживается - из мышц с участием глюкозо-аланинового цикла аммиак переносится в печень, а из мозга и других тканей в виде глутамина в печень и почки.

При врожденных гипераммонемиях отмечаются рвота, судороги, высокая степень умственной отсталости, связанные с токсическим действием аммиака и метаболитов орнитинового цикла на нервные клетки. Токсичность аммиака обусловлена несколькими причинами: во-первых, он обладает сильными основными свойствами и защелачивает среду в клетках; во-вторых, аммиак в высоких концентрациях сдвигает реакцию, катализируемую глутаматдегидрогеназой: $\alpha\text{-кетоглутарат} + \text{НАД}\cdot\text{H}_2 + \text{NH}_3^+ \rightarrow \text{глутамат} + \text{НАД}^+$ в сторону образования глутамата и тем самым сильно угнетает обмен аминокислот - в том числе и обмен медиаторов ЦНС и образование энергии в клетках; в-третьих, накопление аммиака существенно нарушает некоторые функции мембран, особенно активный перенос одновалентных катионов, что влияет на проведение нервных импульсов.

ЗАНЯТИЕ № 23

ТЕМА: Особенности обмена отдельных аминокислот.

ЦЕЛЬ: Получить практические навыки определения креатинина в моче и уметь использовать знания о путях обмена серина, глицина, метионина и других аминокислот для понимания их важнейшей роли как предшественников многих специализированных биомолекул и роли последних в реакциях клеточного метаболизма.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Декарбоксилирование аминокислот: а) образование биогенных аминов (гистамин, ГАМК, серотонин, путрецин, кадаверин, спермидин, спермин). Их роль в организме: б) распад биогенных аминов. Роль моноаминоксидаз (МАО) и диаминоксидаз.

2. Обмен серина и глицина. Образование одноуглеродных групп. Роль H_4 - фолата (ТГФК - тетрагидрофолиевой кислоты).

3. Обмен метионина и цистеина: а) реакции трансметилирования - синтез креатина, холина, адреналина, анзерина. Их биороль, б) образование цистеина. Роль пиридоксальфосфата; в) регенерация метионина. Роль H_4 - фолата и витамина B_{12} ; г) нарушения обмена метионина и цистеина. Роль недостаточности витамина B_6 , B_{12} , (фолиевой кислоты).

4. Обмен фенилаланина и тирозина. Образование катехоламинов.

5. Обмен триптофана и гистидина.

6. Наследственные нарушения обмена аминокислот.

7. Контрольная работа.

Лабораторно-практические работы

1. Количественное определение креатинина в моче.

Метод количественного определения креатинина основан на цветной реакции с пикриновой кислотой, дающей пикрат креатинина.

Ход работы: В две мерные колбочки на 50 мл (опытную и контрольную) наливают по 1 мл 10% NaOH и 1,5 мл насыщенного р-ра пикриновой кислоты. В опытную колбочку добавляют 1 мл исследуемой мочи, а в контрольную - 1 мл H_2O . Обе колбочки взбалтывают и оставляют стоять на 5 мин. В опытной пробе развивается ярко-оранжевое окрашивание, в контрольной - лимонное. Через 5 мин. в колбочки доливают воду до метки, перемешивают. Интенсивность окраски измеряют на фотоэлектроколориметре - зеленый светофильтр (540 нм), кювета - 0,3 или 0,5 мм. Зная оптическую плотность опытного раствора, по калибровочному графику определяют количество креатинина в 1 мл исследуемой мочи. Далее рассчитывают количество креатинина, выделенного с мочей за сутки.

Построение калибровочного графика

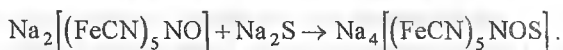
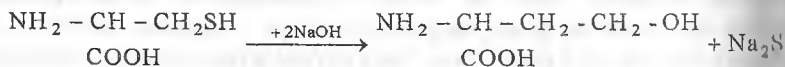
Основной стандартный раствор креатинина: 50 мг креатинина растворяют в мерной колбе, вместимостью 50 мл, дистиллированной водой и доводят до метки. 1 мл этого раствора содержит 1 мг креатинина. Берут 4 стандартных раствора креатинина различной концентрации (0,5 мг, 1 мг, 1,5 мг, 2 мг) в четыре колбы на 50 мл и обрабатывают так же, как и исследуемую мочу, добавляя щелочь и пикриновую кислоту. Одновременно ставят контроль.

При отсутствии креатинина для построения калибровочного графика используют стандартный 1 н. раствор двуххромовокислого калия (49,08 г $K_2Cr_2O_7$ до 1 л H_2O), который по цвету и интенсивности окраски совпадает с пикратом креатинина. Опытным путем найдено, что окраска 0,1 н. стандартного раствора $K_2Cr_2O_7$ соответствует окраске 2 мг креатинина, содержащегося в 1 мл. Из стандартного 1 н. раствора бихромата калия приготавливают ряд разведений, которые соответствуют 0,5, 1, 1,5 и 2 мг креатинина в 1 мл. Определяют оптическую плотность этих растворов, фотометрируют против контрольной колбы. На основании результатов определения строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации креатинина.

Расчет выделения креатинина с мочой за сутки $X=ab$, a - кол-во мг креатинина, определенного в 1 мл мочи; b - суточное кол-во мочи в мл. За сутки с мочой выделяется креатинина: у мужчин - 8,8-17,7 ммоль/сут (1-2 г/сут) у женщин - 7,1-15,9 ммоль/сут (0,8-1,8 г/сут). Для перерасчета ммоль/сут кол-во креатинина умножить на коэффициент пересчета 8,84.

2. Реакции на цистеин и цистин.

Ход работы: к 5 каплям исследуемой мочи добавить 5 кап. 30% раствора NaOH и 2 кап. 5% нитропрусида натрия. Жидкость в пробирке окрашивается в красно-фиолетовый цвет за счет образования комплексной соли.



Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1982. - С. 488-507; 1990 С. 345-350, 354-368.
3. Николаев. Биохимия, 1989. - С. 322-339.
4. Строев. Биохимия, 1986. - С. 285-291.
5. Ж.А.Чотоева, Э.М.Кучук, Ж.С.Сыдыков Методическое пособие Роль аминокислот в энергетическом обмене, 1986.

Контрольные вопросы и задачи

1. Что такое биогенные амины и как они образуются в организме?
2. Какую роль в ЦНС играет ГАМК (гамма-аминомасляная кислота)? Из какой кислоты она образуется?
3. Напишите реакцию синтеза креатинина.
4. Напишите реакцию метилирования норадреналина. Назовите фермент и его коферментную группу, участвующих в реакциях метилирования.
5. Дать схему образования одноуглеродных групп (метил- и формил- H_4 -фолат) из глицина.
6. Распад биогенных аминов. Роль моноаминоксидаз (МАО).
7. Написать формулу S - аденозилметионина.
8. Напишите реакции образования дофамина из фенилаланина.
9. Напишите реакции образования этаноламина и холина из серина.
10. Напишите реакцию ресинтеза метионина.

Некоторые врожденные нарушения аминокислотного обмена у человека (энзимопатия)

Название болезни	Инактивированный фермент	Основные проявления
1. Альбицизм	Тирозиназа	Нарушение образования меланина. Чувствительность к солнечному облучению. Снижение остроты зрения
2. Алкаптонурия	Оксидаза гомогентизиновой кислоты	Выделение с мочой гомогентизиновой кислоты. Охроноз-отложение пигмента в тканях, потемнение носа, ушей и склеры. Артриты
3. Гиперглицинемия	Глицин-расщепляющий фермент	Повреждение мозга, судороги. Гипотония
4. Гомоцистинурия	Цистатионин синтетаза	Высокая концентрация гомоцистеина и метионина в тканях, нарушение умственного развития и развития скелета

Название болезни	Инактивированный фермент	Основные проявления
5. Фенилкетонурия (фенилпировиноградная олигофрения)	Гидроксилаза фенилаланина	Резкое нарушение умственного развития, высокое содержание фенилаланина в крови, в моче - фенилпировата
6. Тирозинемия	Ирозинтранс аминаза	Нарушение умственного развития, гиперкератоз ладоней и подошв, помутнение роговицы
7. Гистидинемия	Гистидаза	Резкая степень нарушений умственного развития и речи. Высокая концентрация гистидина в крови и моче

ЗАНЯТИЕ № 24 Модуль III

Вопросы коллоквиума "Обмен липидов и белков"

1. Классификация липидов. Характеристика классов.
2. Строение, свойства и функции липидов тканей человека.
3. Переваривание и всасывание липидов пищи. Роль желчных кислот. Ресинтез жира. Образование хиломикронов и транспорт жиров. Липопротеидлипаза.
4. Липопротеины крови - хиломикроны, ЛПОНТ, ЛПНП, ЛПВП. Их состав и функции. Липопротеидлипаза крови.
5. Промежуточный обмен липидов:
 - а) внутриклеточный липолиз;
 - б) В-окисление жирных кислот, связь с циклом Кребса и дыхательной цепью. Энергетический баланс окисления пальмитата;
 - в) метаболизм кетонных тел.
6. Функции и пути превращения полиеновых жирных кислот в эндопероксиды: простогландины, тромбоксаны, простаглицлины, лейкотриены. Их роль.
7. Корнитин-ацилтрансфераза и транспорт жирных кислот в митохондрии.
8. Особенности окисления жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. Метаболизм пропионил - S-CoA.

9. Природные антиоксиданты-ингибиторы перекисного окисления липидов.
10. Диагностическое значение определения липидов и продуктов их обмена в крови и моче.
11. Промежуточные продукты углеводного и белкового обмена как строительный материал для синтеза липидов.
12. Синтез жирных кислот в организме. Полиферментный комплекс синтеза жирных кислот.
13. Образование фосфоглицерина. Связь с гликолизом. Биосинтез триацилглицеридов.
14. Синтез фосфолипидов. Роль ЦТФ, АТФ, метионина, холина. Роль фосфолипидов в организме.
15. Биосинтез холестерина. Роль холестерина.
16. Гормональная регуляция липидного обмена. Взаимосвязь углеводного и липидного обмена.
17. Нарушение липидного обмена: роль ЛПНП и ЛПОНП в возникновении атеросклероза, ожирении.
18. Пищевая ценность белков пищи. Источники аминокислот в крови. Азотистое равновесие.
19. Переваривание белков. Протеолитические ферменты желудочно-кишечного тракта.
20. Переваривание белков в желудке. Роль соляной кислоты.
21. Переваривание белков в кишечнике. Пристеночное пищеварение.
22. Превращения аминокислот под действием микрофлоры кишечника. Биологически активные амины и токсичные вещества - продукты гниения белков.
23. Механизмы обезвреживания токсичных продуктов обмена аминокислот в печени.
24. Патологические изменения кислотности желудочного сока. Диагностическое значение их определения.
25. Диагностическое значение определения парных серных кислот и глюкуронидов в моче.
26. Положительный и отрицательный азотистый баланс. Значение их определения.
27. Реакции трансаминирования. Аминотрансферазы, их коферменты, аспартат- и аланинаминотрансферазы крови, диагностическое значение их определения.

28. Реакции дезаминирования. Ферменты и коферменты. Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты.

29. Непрямое дезаминирование аминокислот (схема). Роль реакций

30. Судьба безазотистых остатков аминокислот - пять пунктов включения их в цикл трикарбоновых кислот (схема). Глюконеогенез из безазотистых остатков аминокислот (схема).

31. Обезвреживание аммиака в клетках организма. Транспорт его в печень и почки.

32. Орнитиновый цикл мочевинообразования в печени.

33. Реакции восстановительного трансаминирования - синтез заменимых аминокислот.

34. Транспорт аминокислот через клеточные мембраны. Судьба всосавшихся аминокислот в организме.

35. Декарбоксилирование аминокислот - образование биогенных аминов. Примеры. Их роль в организме.

36. Образование полиаминов спермидина и спермина, путрецина и кадаверина. Написать их формулы. Их роль в клетках организма.

37. Роль моноаминоксидаз (MAO) и диаминоксидаз в инактивации биогенных аминов.

38. Обмен серина и глицина. Образование одноуглеродных групп. Роль ТГФК (тетрагидрофолиевой кислоты).

39. Напишите реакции синтеза креатинфосфата. Его роль в клетках.

40. Роль S-аденозилметионина в синтезе креатина, холина, адреналина.

41. Обмен фенилаланина и тирозина. Образование катехоламинов.

42. Обмен триптофана и гистидина.

43. Наследственные нарушения обмена аминокислот.

РАЗДЕЛ: Молекулярные механизмы передачи генетической информации

ЗАНЯТИЕ № 25

ТЕМА: Обмен нуклеотидов.

ЦЕЛЬ: Выяснение центральной роли нуклеотидов как источников потенциальной энергии в клетках, как регуляторных веществ, составных частей коферментов, как мономеров в синтезе нуклеиновых кислот - основы хранения, передачи и реализации наследственной информации, заложенной в молекулах ДНК хромосом клеток.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Нуклеотиды, их строение. Свойства комплементарного взаимодействия нуклеотидов.
2. Роль нуклеотидов в клетках организма: а) строительный материал, б) участие в обмене энергии.
3. Источник нуклеотидов в организме.
4. Синтез нуклеотидов. Особенности синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов: а) биосинтез пуриновых нуклеотидов, б) биосинтез пиримидиновых нуклеотидов.
5. Роль одноуглеродных групп (метил-формил-ТГФК) и тиоредоксина в синтезе нуклеотидов.
6. Распад нуклеотидов и нарушения их обмена в организме.

Контрольные вопросы и задачи

1. Что такое нуклеотиды? Нуклеозиды? Перечислите функции нуклеотидов. Напишите формулы АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ, ТМФ, d-АМФ, d-ГМФ, d-ЦМФ. Назовите другие нуклеотиды.
2. Напишите пуриновые и пиримидиновые ядра и покажите происхождение их атомов.
3. Напишите реакции синтеза пуриновых нуклеотидов: а) формулами до глицинамидрибонуклеотида, б) далее в виде схемы до ИМФ. Как регулируется синтез пуриновых нуклеотидов?
4. Напишите реакции образования АМФ и ГМФ из инозиновой кислоты.

5. Какова роль кофермента ТГФК и ФРПФ в синтезе нуклеотидов? Перечислите особенности синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

6. Напишите реакции синтеза пиримидиновых нуклеотидов до ОМФ. Покажите превращение ОМФ в УМФ и ЦМФ. Как регулируется синтез пиримидиновых нуклеотидов?

7. Как происходит синтез дезоксирибонуклеотидов? Какова роль тиоредоксина? Покажите образование d-ГМФ из d-УМФ.

8. Напишите распад адениловой и гуаниловой кислот до мочевой кислоты. Какова роль ксантиноксидазы?

9. Напишите распад цитидиловой и тимидиловой кислот. Назовите конечные продукты распада.

10. Что такое подагра и синдром Леша-Нихана? Каковы причины их возникновения, симптомы и принципы лечения?

Информация к размышлению:

Роль нуклеотидов в клетках организма:

1. Строительный материал: а) при синтезе нуклеиновых кислот (РНК, ДНК); б) составная часть коферментов НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД⁺, HSKoA; в) ц-АМФ, ц-ГМФ-посредники передачи гормональных сигналов на внутриклеточные эффекторные системы - протеинкиназы.

2. Участие в обмене энергии:

1) аккумуляция энергии при окислении веществ в процессе гликолиза, цикла Кребса и тканевого дыхания
 $R=CH-OPO_3H_2 + АДФ \rightarrow АТФ + R-CO-COOH$; $АДФ + P_n \rightarrow АТФ$

2) передача энергии в реакциях типа: $АТФ + УДФ \rightarrow АДФ + УТФ$
креатин + АТФ → креатин-фосфат + АДФ - в митохондриях
креатин-фосфат + АДФ → креатин + АТФ - в цитоплазме

3) активирование метаболитов: глюкозы, аминокислот, глицерина, жирных кислот - АТФ, участие в ключевых реакциях глюконеогенеза (ГТФ), синтеза фосфолипидов (ЦТФ), синтеза гликогена, мукополисахаридов (УТФ), синтеза белков (ГТФ и АТФ).

4) аллостерическое активирование и ингибирование ключевых ферментов синтеза пиримидиновых нуклеотидов (УТФ), синтеза пуриновых нуклеотидов (АМФ и ГМФ), активирование и ингибирование фосфофруктокиназы и изоцитратдегидрогеназы избытком АТФ.

- 5) участие в процессах активного транспорта веществ через клеточные мембраны (Na^+ , K^+ -зависимые АТФ-азы).
- 6) роль АТФ в процессах мышечного сокращения, секреторной функции клеток.

Лабораторно-практические работы

1. Количественное определение мочевой кислоты в моче экспрессметодом. Принцип метода: мочевая кислота восстанавливает фосфорновольфрамовый реактив с образованием синего окрашивания, интенсивность которого пропорциональна количеству мочевой кислоты. Кол-во образовавшейся фосфорновольфрамовой сини определяют путем титрования раствором феррицианида калия - железосинеродистый калий $-\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Феррицианид окисляет фосфорновольфрамовую синь и синяя окраска исчезает.

Ход работы: берем две колбочки для титрования (1 - опытная, 2 - контрольная), последовательно добавляя реактивы, указанные в таблице:

Реактивы	Контр. проба	Опытная проба
Стандартный раствор мочевой кислоты 0,25 мг/мл	1 мл	-
Вода	4 мл	4 мл
Исследуемая моча	-	1 мл
Вольфрамвоокислый реактив	2 мл	2 мл
Раствор углекислого натрия	2	2 мл

Затем содержимое опытной и контрольной колбочек титруем раствором феррицианида калия до обесцвечивания.

Расчет

Для расчета содержания мочевой кислоты в моче необходимо знать, какое количество мочевой кислоты соответствует. 1 мл $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$.

Например: на титрование контрольной пробы, содержащей 0,25 мг мочевой кислоты в 1 мл, пошло 0,5мл феррицианида калия, тогда 1 мл феррицианида соответствует 0,5 мг мочевой кислоты. Содержание мочевой кислоты в 1 мл в суточной моче вычисляют по формуле

$$X = \frac{c \cdot a \cdot v}{n} = \text{мг}$$

- где с - количество мочевой кислоты, соответствующее 1 мл р-ра феррицианида К;
в - количество мочи (мл), выделенной за сутки;
а - количество феррицианида калия, пошедшее на титрование опытной пробы;
п - объем мочи, взятой для анализа.

Л и т е р а т у р а :

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1983.- С. 513-525, 538-544; 1990.- С. 369-376, 390-394.
3. Николаев А.Я. 1989.- С. 339-350.
4. Строев, 1986.- С. 297-300.
5. Кушманова Е.А., Ивченко. Руковод. к лаб.занятиям по биохимии, 1983.- С. 210-211, работа №81.

З А Н Я Т И Е № 2 6

ТЕМА: Биосинтез нуклеиновых кислот (репликация и транскрипция ДНК).

ЦЕЛЬ: Изучить основные этапы процессов репликации и транскрипции ДНК как ключевых механизмов реализации генетической информации.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Материальные носители наследственности ДНК-хромосом. Строение хроматина. Строение и организация генов.
2. Три этапа реализации генетической информации - репликация, транскрипция, трансляция.
3. Репликация ДНК: компоненты, необходимые для репликации. Характеристика ферментов и белковых факторов синтеза ДНК:
 - а) полуконсервативный механизм синтеза ДНК;
 - б) этапы репликации. Механизм репликации;
 - в) репликация и фазы клеточного цикла.
4. Синтез ДНК на матрице РНК. Роль обратной транскриптазы (ревертазы).
5. Транскрипция - биосинтез РНК:
 - а) компоненты, необходимые для транскрипции. ДНК-зависимая РНК-полимераза;

- б) биогенез м-РНК у эукариот. Сплайсинг.
- в) биогенез т-РНК и р-РНК.
- 6. Биологическое значение репликации и транскрипции.

Контрольные вопросы по теме "Биосинтез нуклеиновых кислот"

1. Что представляют собой нуклеиновые кислоты? Перечислите различия между ДНК и РНК. Как связаны друг с другом нуклеотиды-мономеры нуклеиновых кислот?
2. Назовите и охарактеризуйте основные этапы реализации генетической информации.
3. Что такое репликация? Назовите компоненты, необходимые для репликации. Охарактеризуйте функции ферментов репликации.
4. Напишите схемы реакций синтеза ДНК из соответствующих нуклеотидов и реакции образования $5', 3'$ - фосфодиэфирной связи.
5. Покажите схему и объясните суть полуконсервативного механизма синтеза ДНК.
6. Назовите этапы репликации. Опишите процессы, происходящие на каждом этапе (дайте схему). Назовите участвующие ферменты и белковые факторы.
7. Что такое фрагменты Оказаки? Покажите их образование. Какова их роль?
8. Что представляет собой праймер? Какова его роль? Что такое праймаза и праймосома?
9. Что такое транскрипция? Назовите компоненты, необходимые для транскрипции. Какова роль ДНК-зависимой РНК-полимеразы?
10. Напишите схемы реакций синтеза РНК из соответствующих нуклеотидов и реакции образования $5', 3'$ - фосфодиэфирной связи.
11. Назовите и охарактеризуйте виды реакций, происходящих при процессинге РНК. Что такое "кэп" и полиА-хвост? Их роль. Дайте схему процессинга.
12. Роль полинуклеотидфосфорилазы в синтезе РНК.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1990.- С. 377-390; 1982.- С. 525-538.

3. Николаев А.Я. Биохимия, 1989.- С. 104-16.

4. Строев Е.А., 1986. Биохимия.- С. 303-313.

Дополнительная литература

1. Ленинджер А. Основы биохимии, 1985.- С. 894-924.

2. Уотсон Д.Ж. Молекулярная биология гена, 1978.- С.180-235, 268-288.

ЗАНЯТИЕ № 27

ТЕМА: Синтез белка, его регуляция и молекулярные механизмы изменчивости.

ЦЕЛЬ: Изучить основные этапы биосинтеза белка и его регуляции, роль молекулярных механизмов генетической изменчивости в эволюционном развитии и возникновение наследственной патологии, цель и задачи генной инженерии.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Биосинтез белка: 1) белок-синтезирующий комплекс, характеристика компонентов белок-синтезирующей системы; 2) генетический код. Вырожденность кода М-РНК. Адапторная функция т-РНК; 3) этапы биосинтеза белка: а) активирование аминокислот. Роль аминок-ацил-тРНК синтетазы; б) инициация трансляции. Роль белковых факторов; в) элонгация трансляции. Роль ферментов, белковых факторов и ГТФ; г) терминация трансляции. Роль терминальных кодонов и белковых факторов, д) посттрансляционная модификация белка.
2. Регуляция биосинтеза белка.
3. Ингибиторы синтеза белка.
4. Молекулярные механизмы генетической изменчивости.
5. Цели и задачи генной инженерии.

Контрольные вопросы:

1. Компоненты белковосинтезирующей системы - рибосомы, м-РНК, т-РНК, аминокислоты, ферменты, белковые факторы.
2. Энергетическое обеспечение процессов синтеза белка. Роль АТФ и ГТФ.
3. Субстратная специфичность аминок-ацил-т-РНК-синтетазы.
4. т-РНК, адапторная функция т-РНК.

5. Строение и функции субъединиц рибосом, образование белок-синтезирующего комплекса.

6. Инициация трансляции. Напишите реакцию образования N-формилметионил-т-РНК. Роль в инициации трансляции.

7. Назовите функциональные участки рибосом. Что собой они представляют и какова их роль?

8. Элонгация трансляции. Пептидил-трансферазная и пептидил-трансферазная реакции. Энергетическое обеспечение. Роль белковых факторов.

9. Терминация трансляции. Роль терминирующих кодонов и белковых факторов.

10. Назовите энергозависимые реакции биосинтеза белка. Сколько АТФ и ГТФ необходимо для образования одной пептидной связи?

11. Что такое процессинг белка? Перечислите виды посттрансляционных химических модификаций белка.

12. Объясните регуляцию биосинтеза белка по типу индукции. Приведите пример.

13. Объясните регуляцию биосинтеза белка по типу репрессии. Приведите пример.

14. Дайте определение понятий "оператор", "промотор", "структурные гены", "оперон", "индуктор", "корепрессор".

15. Каковы механизмы ингибирующего действия антибиотиков и дифтерийного токсина на биосинтез белка?

16. Ингибиторы синтеза белка и их значение в клинике.

17. Молекулярные механизмы изменчивости: 1) виды мутаций; 2) биологические последствия мутаций; 3) репарация ДНК.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.

2. Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин. Биохимия, 1990.- С. 388-390, 399-422; 1982.- С. 552-570, 536.

3. Николаев А.Я., 1989.- С. 137-142.

4. Е.А.Строев, 1986.- С. 313-337.

5. Ленинджер А. Основы биохимии, 1985.- С. 926-963.

ЗАНЯТИЕ №28
(коллоквиум)

Контрольные вопросы и задачи:

1. Что такое нуклеотиды? Нуклеозиды? Перечислите функции нуклеотидов. Напишите формулы АТФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ, ТМФ, d-АМФ, d-ГМФ, d-ЦМФ. Назовите другие нуклеотиды.
2. Напишите формулы пуринового и пиримидинового ядра и покажите происхождение их атомов.
3. Напишите реакции синтеза пуриновых нуклеотидов: а) формулами до глицинамидрибонуклеотида; б) далее в виде схемы до ИМФ. Как регулируется синтез пуриновых нуклеотидов?
4. Напишите реакции образования АМФ и ГМФ из инозиновой кислоты.
5. Какова роль кофермента ТГФК и ФРПР в синтезе нуклеотидов? Перечислите особенности синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
6. Напишите реакции синтеза пиримидиновых нуклеотидов до ОМФ. Покажите превращения ОМФ в УМФ и ЦМФ. Как регулируется синтез пиримидиновых нуклеотидов?
7. Как происходит синтез дезоксирибонуклеотидов? Какова роль тиоредоксина? Покажите образование d-ТМФ из d-УМФ.
8. Напишите распад адениловой и гуаниловой кислот до мочевой кислоты. Какова роль ксантиноксидазы?
9. Напишите распад цитидиловой и тимидиловой кислот. Назовите конечные продукты распада.
10. Что такое подагра и синдром Леша-Нихана? Каковы причины их возникновения, симптомы и принципы лечения?
11. Что представляют собой нуклеиновые кислоты? Перечислите различия между ДНК и РНК. Как связаны друг с другом мономеры нуклеиновых кислот?
12. Назовите и охарактеризуйте основные этапы реализации генетической информации.
13. Что такое репликация? Назовите компоненты, необходимые для репликации. Охарактеризуйте функции ферментов репликации.
14. Напишите схемы реакций синтеза ДНК из соответствующих нуклеотидов и реакции образования 5¹, 3¹, - фосфодиэфирной связи.

15. Покажите схему и объясните суть полуконсервативного механизма синтеза ДНК.

16. Назовите этапы репликации. Опишите процессы, происходящие на каждом этапе (дайте схему). Назовите участвующие ферменты и белковые факторы.

17. Что такое фрагменты Оказаки? Покажите их образование. Какова их роль?

18. Что представляет собой праймер? Какова его роль? Что такое праймаза и праймосома?

19. Что такое транскрипция? Назовите компоненты, необходимые для транскрипции. Какова роль ДНК-зависимой РНК-полимеразы?

20. Напишите схемы реакций синтеза РНК из соответствующих нуклеотидов и реакции образования $5'$, $3'$, - фосфодиэфирной связи.

21. Назовите и охарактеризуйте виды реакций, происходящих при процессинге РНК. Что такое "кэп" и полиА-хвост? Их роль. Дайте схему сплайсинга.

22. Роль полинуклеотидфосфорилазы в синтезе РНК.

23. Компоненты белоксинтезирующей системы - рибосомы, м-РНК, т-РНК, аминокислоты, ферменты, белковые факторы.

24. Энергетическое обеспечение процессов синтеза белка. Роль АТФ и ГТФ.

25. Субстратная специфичность аминоацил-т-РНК-синтетазы.

26. т-РНК, адапторная функция т-РНК.

27. Строение и функции субъединиц рибосом, образование белоксинтезирующего комплекса.

28. Инициация трансляции. Напишите реакцию образования N-формил-метионил-т-РНК. Роль в инициации трансляции.

29. Назовите функциональные участки рибосом. Что собой они представляют и какова их роль?

30. Элонгация трансляции. Пептидил-трансферазная и пептидил-транслоказная реакция. Энергетическое обеспечение. Роль белковых факторов.

31. Терминация трансляции. Роль терминирующих кодонов и белковых факторов.

32. Назовите энергозависимые реакции биосинтеза белка. Сколько АТФ и ГТФ необходимо для образования одной пептидной связи?

33. Что такое процессинг белка? Перечислите виды посттрансляционных химических модификаций белка.

34. Объясните регуляцию биосинтеза белка по типу индукции. Приведите пример.

35. Объясните регуляцию биосинтеза белка по типу репрессии. Приведите пример.

36. Дайте определение понятий "оператор", "промотор", "структурные гены", "оперон", "индуктор", "корепрессор".

37. Каковы механизмы ингибирующего действия антибиотиков и дифтерийного токсина на биосинтез белка?

38. Ингибиторы синтеза белка и их значение в клинике.

39. Молекулярные механизмы изменчивости: 1) виды мутаций; 2) биологические последствия мутаций; 3) репарация ДНК.

40. Гены ДНК-мутации, репарации, рекомбинации и клонирование.

РАЗДЕЛ: Функциональная биохимия органов и тканей

ЗАНЯТИЕ № 29

ТЕМА: Биохимия печени

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЙ: Рассмотреть интеграционную (регуляторно-гомеостатическую): детоксикационную, экскреторную, депонирующую и другие функции печени в свете особенностей кровоснабжения и анатомо-физиологического положения ее в организме.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Особенности энергетического обмена, кровоснабжения и обеспечение печени кислородом.

2. Интеграционная (регуляторно-гомеостатическая) функция печени:

- а) роль печени в углеводном, липидном и белковом обмене;
- б) участие печени в обмене витаминов;
- в) участие печени в обмене азотистых оснований, порфирина;
- г) участие печени в водно-минеральном обмене;
- д) биосинтез веществ в печени на "экспорт".

3. Желчеобразовательная и экскреторная функция печени.

4. Антиоксическая функция печени:

- а) обезвреживание аммиака - биосинтез мочевины;
- б) механизмы обезвреживания токсических веществ, образующихся в организме и поступающих извне:
 - 1) микросомальное окисление; 2) реакции конъюгации;
- в) роль печени в пигментном обмене (катаболизм гема);

- г) инактивация гормонов;
 - д) обезвреживание продуктов гниения белков в кишечнике;
 - е) метаболизм лекарственных веществ.
5. Печеночно-клеточная недостаточность.

Практические работы:

1. Сулемово-фосфатная проба (СФП). Эта проба является флоккуляционной пробой, она основана на изменениях, наступающих в коллоидной устойчивости сыворотки крови. Положительный результат этой пробы чаще всего вызывается количественными изменениями в сыворотке крови в глобулиновых подфракциях (увеличение бета, гамма-глобулинов) или изменением отношения альбумины/глобулины, что может служить неспецифическим признаком при паренхиматозном заболевании печени. Фактором, выявляющим нарушение коллоидной системы сыворотки крови, которое наблюдается при различных заболеваниях, является нерастворимое соединение - фосфорнокислая ртуть - $(\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{HgCl}_2 = \text{HgHPO}_4 + 2\text{NaCl})$. Фосфорнокислая ртуть, обладающая сильно лиофобными свойствами в соединении с гамма-глобулинами, имеющими наименьшую величину электрохимического заряда по сравнению с другими белками сыворотки крови, большую величину частиц и высокий молекулярный вес, обуславливает в определенных условиях снижение устойчивости коллоидного раствора, что выражается в помутнении данного раствора.

Ход работы:

К 0,1 мл негемолизированной сыворотки крови прибавляем 5 мл раствора 1, смешиваем и прибавляем 1 мл 0,1% р-ра HgCl_2 . Содержимое пробирки перемешиваем и через 5 мин фотокolorиметрируем при оранжевом светофильтре (590 нм). Кювета 10 мм, контроль дист. вода. Результат умножаем на 100. В норме (СФП) равна -4-21 услов. ед.

2. Качественная реакция на наличие билирубина в сыворотке крови. В пробирку отмеривают 1 мл сыворотки крови, 2 мл этилового спирта (или кофеинового реактива) и центрифугируют 15 мин. Через 15 мин добавляют 0,25 мл диазореактива, при этом появляется краснооранжевое окрашивание.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. "Б-К", 1982.- С. 579-594; 1990.- С. 427-437.
3. Николаев, 1989. С. 411-426.
4. Строев, 1986.- С.423-426.

Контрольные вопросы:

1. Роль печени в биосинтезе белков крови, холестерина, кетоновых тел, креатина, порфирина, пантатената, глутатиона, аминокислот, глюкозы и др.
2. Особенности энергетического обеспечения печени.
3. Роль витамина К в синтезе белков свертывающей системы крови.
4. Транспортные липопротеины крови, синтезируемые в печени. Их состав и роль.
5. Реакции микросомального окисления.
6. Реакции конъюгации с ФАФС, УДФ-глюкуроновой кислоты, глицином.
7. Реакции инактивации катехоламинов (моноаминоксидазные реакции, реакции метилирования с участием S-аденозилметионином).
8. Непрямой и прямой билирубин, роль печени в образовании диглюкуронилбилирубина.
9. Определить вид желтухи при следующих показателях лабораторного исследования:

Задача 1 - концентрация непрямого билирубина в сыв. крови - 25,0 мкмоль/л;
- концентрация прямого билирубина в сыворотке крови - 0,86 мкмоль/л.

В моче уробилинген и билирубин не определяется.

В кале присутствует стеркобилиноген.

Задача 2 - концентрация непрямого билирубина в сыворотке крови - 27 мкмоль/л;
- концентрация прямого билирубина в сыворотке крови - 30 мкмоль/л.

В моче повышено содержание уробилиногена, билирубина.

В кале снижена концентрация стеркобилиногена.

Задача 3 - концентрация непрямого билирубина в сыворотке крови - 20,5 мкмоль/л;
- концентрация прямого билирубина в сыворотке крови - 40 мкмоль/л.

В моче снижено содержание уробилиногена, присутствует билирубин.

Задача 4 - концентрация непрямого билирубина в сыворотке крови - 5 мкмоль/л;
концентрация прямого билирубина в сыворотке крови - 1,5 мкмоль/л.

В моче не определяются уробилиноген, билирубин.
В сыворотке определяется стеркобилиноген.

ЗАНЯТИЕ № 30

ТЕМА: Биохимия крови.

ЦЕЛЬ: Изучить химический состав, физико-химические свойства, биохимические и физиологические функции крови. Получить практические навыки определения и диагностический интерпретации показателей нарушения некоторых компонентов крови.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Кровь, состав, биохимические и физиологические функции.
2. Биохимические особенности клеток крови и их функции.
3. Основные белки, плазмы крови и их функции.
4. Ферменты плазмы крови, их происхождение и диагностическая ценность определения.
5. Липопротеины плазмы крови.
6. Азотистые и безазотистые низкомолекулярные органические компоненты крови, их значение.
7. Неограниченные компоненты крови.
8. Регуляторная или гормоноидная функция крови - кинины.

Практическая работа:

Исследование неорганических фосфатов в сыворотке крови (прак. по биохимии Збарский, 1962.- С. 194-195), лаб. методы исследования в клинике. Меншиков, М.- 1987.- С. 271-272.

В сыворотке крови человека содержится 2-4 мг%, или 0,61 - 1,29 ммоль/л фосфора в виде неорганических фосфатов (коэффициент пересчета 0,3228). Принцип метода определения фосфора заключается в образовании комплексной фосфорномолибденовой кислоты, которую затем восстанавливают эйконогеном до молибденовой сини. Кол-во фосфора затем определяют колориметрически по интенсивности окраски. В сухую пробирку отмеривают 6 мл дист. воды, добавляют 2 мл сыворотки крови и 2 мл р-ра ТХУ. Перемешивают и отфильтровывают от осадка белка в другую пробирку; бумажный фильтр следует промывать предварительно дист. водой. Затем анализ проводят по схеме:

Реактивы	Опыт	Стандарт
Безбелковый фильтрат	5 мл	-
Ст. Раствор фосфорнокислого калия 0.004 мг/мл	-	1 мл
H ₂ O	-	3 мл
ТХУ 20%	-	1 мл
Молибденовокислый аммоний 2,5%	1 мл	1 мл
Эйконоген	0,4 мл	0,4 мл

Через 15 мин. в пробирку долить 3,6 мл H₂O дист. и колориметрировать против. дист. воды на ФЭКе, красный светофильтр 680-690 нм, толщина кювет 0,5 см. Расчет ведут по формуле

$$C_{\text{оп}} = \frac{C_{\text{ст}} \cdot E_{\text{оп}} \cdot 100}{E_{\text{ст}}} = \text{мг\%}.$$

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1982. - С. 569-646.
3. Николаев, 1982.- С.427-448.
4. Строев, 1986.-С. 412-423.
5. Алейников. Практикум, 1988.- С. 186-203.
6. Методичка кафедры "Органоспецифические ферменты", 1988.
7. Стайер, 1984. Т.1.-С. 69-75.
8. Ленинджер, 1985.- С. 187-223.

Контрольные вопросы и задачи:

1. Каково содержание общего белка в плазме крови? Гипо- и гиперпротеинемия.
2. Остаточный азот плазмы крови и его клиническое значение.
3. Биохимические особенности метаболических процессов в форменных элементах крови.
4. Транспорт O_2 и CO_2 эритроцитами.
5. Дыхательная регуляция pH крови.
6. Буферные системы крови.
7. Альбумины крови.
8. Гемоглобин. Синтез. Гемоглобинопатии.
9. Значение определения ферментативной активности крови при инфаркте миокарда, гепатитах, инсульте.
10. Диагностическое значение определения ЛПВП и ЛПНП в крови.
11. Роль содержания альбуминов в крови в механизме развития отеков при различных патологиях.

Таблица 1

Биохимические показатели крови и плазмы человека

Вещество	ммоль/л	Г или мг на 1 л
Гемоглобин	-	130-160 г/л
Общий белок	-	65-85 г/л
Альбумины	-	40-50 г/л
Глобулины	-	20-30 г/л
Фибриноген	-	2-4 г/л
Холестерин	3,5-6,9	1,5-2,5 г/л
Фосфолипиды	-	2,4-3,2 г/л
Глюкоза	3,3-5,5	0,6-1,0 г/л
Билирубин	до 0,026	до 12 мг/л
Остаточный азот	15-28	200-400 мг/л
Мочевина	3,3-6,6	200-400 мг/л
Мочевая кислота	до 0,3	до 50 мг/л
Кетоновые тела	-	до 30 мг/л
Кальций	2,2-2,7	до 10 мг/л
Неорганический фосфат	1,3-2,3	40-70 мг/л
Натрий	130,35	3,2 г/л
Калий	4,6	0,18 г/л

ЗАНЯТИЕ №31

ТЕМА: Обмен воды и минеральных веществ, функциональная биохимия почек, химический состав мочи

ЦЕЛЬ: Рассмотреть роль воды и минеральных веществ в структурной организации биомолекул, органов, клеток, органов и тканей. Роль почек в регуляции водно-солевого обмена и диагностическое значение определения органических и неорганических компонентов мочи.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Вода. Физико-химические свойства. Роль воды в структурной организации биомолекул.
2. Роль воды, макро- и микроэлементов в организме.
3. Основные функции почек. Роль почек в регуляции водно-солевого обмена и поддержании гомеостаза в организме.
4. Химический состав и свойства мочи. Органические и неорганические компоненты мочи.
5. Патологические составные части мочи. Диагностическое значение определения их в моче.

Лабораторно-практические работы:

1. Качественная реакция на белок в моче:
 - а) с концентрированной HNO_3 .
2. Качественная реакция на глюкозу в моче с реактивом Фелинга.
3. Количественное определение экспресс-методом в моче (пентофан):
 - а) белка;
 - б) глюкозы;
 - в) кетоновых тел.
4. Качественная реакция на желчные кислоты. Проба Петенкофера: В пробирку наливают 1 мл мочи, прибавляют к ней 20% р-р сахарозы и слегка встряхивают. По стенке пробирки подслаивают 1-2 мл концентрированной серной кислоты. На месте соприкосновения с кислотой проявляется пурпурно-красное окрашивание, которое при осторожном перемешивании распространяется на все содержимое пробирки.
5. Качественная реакция на пигменты крови - бензидиновая проба.
6. УИРС (учебно-исследовательская работа студентов) - задача.

Л и т е р а т у р а

1. Березов, Коровкин, 1982.- С. 648-668; 1990. С. 473-487.
2. Николаев, 1989. С. 358-367.
3. Строев, 1986.- С. 18-25.
4. Лекции по теме "Водно-солевой обмен и его регуляция".
5. Кушманова. Руководство к лабор. занятиям по биохимии, 1983.- С. 71, 240-257.
6. Алейникова. Практик., 1988.-С. 204-221.
7. Строев. Практик., 1986.- С. 183-189.

Контрольные вопросы:

1. Роль воды в организме.
2. Роль микроэлементов Fe, Mn, Co, Cu, F, Zn, I, Mo, Se в организме.
3. Роль Ca, P, Mg, K и Na в организме.
4. Регуляция фосфорно-кальциевого обмена.
5. Трансмембранный градиент Na и K. Na^+/K^+ - АТФ-аза и ее функции.
6. Гормональная регуляция водно-солевого обмена.
7. Основные функции почек. Роль почек в регуляции водно-солевого обмена.
8. Содержание основных органических и неорганических компонентов в моче здорового человека.
9. Какое общее количество азота выводится с мочей за сутки?
10. Перечислите азотсодержащие вещества мочи взрослого человека.
11. Какое вещество является главным азотсодержащим соединением мочи?
12. Назовите ферменты, обнаруживаемые в нормальной моче.
13. Диагностическое значение определения амилазной активности в моче.
14. Какие вещества появляются в моче при патологии?
15. При какой патологии выделяется с мочей гомогентизиновая кислота?
16. Объясните значение терминов "глюкозурия", "протеинурия", "кетонурия", "гематурия", "фенилкетонурия", "галактозурия", "билирубинурия".

17. Механизмы нарушения водно-солевого обмена при сахарном диабете, холере, тиреотоксикозе, несахарном диабете и др. заболеваниях.

Азотсодержащие вещества в моче взрослых

Компонент	Содержание в расчете на суточное кол-во мочи	% от общего
Мочевина	10-35 г	80-90
Аммонийные соли	40-120 мг	3-6
Креатинин	0,5-2 г	2,5-7
Мочевая кислота	0,4-1 г	1,5
Аминокислоты	30-170 мг	1,5
Гиппуровая кислота	0,7 г	0,5
Индикан	10-40 мг	0,1
Общий азот	10-18 г	-

ЗАНЯТИЕ № 32

ТЕМА: Биохимия соединительной ткани

ЦЕЛЬ: Изучить особенности состава, строения и обмена соединительной ткани как основы структурно-функциональной организации органов и тканей организма. Получить практические навыки определения и диагностической интерпретации некоторых показателей нарушения обмена соединительной ткани.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Разновидности соединительной ткани. Особенности строения. Роль в организме.
2. Структурная организация соединительной ткани: а) типы клеточных элементов. Их функции; б) межклеточный органический матрикс.
3. Особенности химического состава биополимеров соединительной ткани. Особенности строения и обмена коллагена, эластина, протеогликанов, гликопротеинов. Их функции.
4. Регуляция метаболизма соединительной ткани. Роль гормонов, витаминов и других факторов.
5. Биохимические изменения соединительной ткани при старении в некоторых патологических процессах. Диагностические тесты.

Практическая работа:

Количественное определение свободного оксипролина в моче. В ходе биосинтеза коллагена в клетках свободный оксипролин не включается в состав этого белка. Его количество в крови и моче (в условиях исключения приема коллагена с пищей) зависит от интенсивности распада коллагена в тканях. У взрослого человека с мочей за сутки выводится 1-8 мг свободного оксипролина. Экскреция оксипролина резко возрастает при деструктивных процессах в соединительной ткани.

Ход работы:

1. К двум пробам по 1 мл одной и той же исследуемой профильтрованной мочи (одна из них контроль) добавляют 1 мл р-ра сернокислой меди, 1 мл р-ра едкого натра, 1 мл пергидроля.
2. Обе пробирки перемешивают в течение 5 мин и нагревают в течение 5 мин при 70°C с периодическим встряхиванием.
3. Пробы охлаждают в воде со льдом, к ним добавляют 4 мл р-ра серной кислоты и 2 мл реактива Эрлиха и перемешивают.
4. Опытную пробу 80 сек нагревают при 100°C, а контрольную - на то же время ставят в воду со льдом. В опытной пробе развивается розовое окрашивание.
5. Содержимое обеих пробирок колориметрируют на ФЭКе при зеленом светофильтре против воды, толщина кюветы 1 см. Из величины оптической плотности (ОП) опытной пробы вычитывают показатель контроля для учета ОП окраски исследуемой мочи и реактивов. По калибровочной кривой находят, что величина данной ОП соответствует 5 мкг оксипролина. Следовательно, в 1 мл мочи содержится 5 мкг оксипролина. Вычислить количество оксипролина в 100 мл и в суточном количестве мочи.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1983.- С. 715-726; 1990.- С. 518-535.
3. Николаев, 1989.- С. 399-408.
4. Строев, 1986.- С. 41-43, 276. Практикум, 1986.- С. 139-141; раб. 55.

Контрольные вопросы и задачи:

1. Назовите биополимеры соединительной ткани.
2. Типы коллагена, его содержание в различных типах соединительной ткани и роль.
3. Особенности аминокислотного состава и физико-химических свойств коллагена.
4. Особенности биосинтеза коллагена и связи, стабилизирующие молекулы коллагена.
5. Механизм образования коллагеновых волокон.
6. Изменение содержания и обмена коллагена с возрастом.
7. Факторы, участвующие в регуляции обмена коллагена. Гормоны, ферменты, витамины и др.
8. Особенности строения и физико-химические свойства эластина.
9. Содержание эластина в различных видах соединительной ткани и его биологическая роль.
10. Протеогликаны. Их состав. Роль.
11. Глюкозаминогликаны-мукополисахариды: гиалуроновая кислота, хондриатинсульфаты и другие. Их биологическая роль.
12. Химический состав и биологическая роль гепарина.
13. Состав молекул протеогликанов и гликопротеинов. Их функции.
14. Особенности химического состава и обмена веществ костной ткани.
15. Химический состав, свойства и функции синовиальной жидкости.
16. Роль пептидаз, коллагенолитического фермента (катексин II), коллагеназ, В-гиалуронидаз и других ферментов в обмене соединительных тканей.

ЗАНЯТИЕ № 33

ТЕМА: Биохимия мышечной и нервной ткани.

ЦЕЛЬ: Рассмотреть строение, обмен веществ, образование энергии и биохимические механизмы мышечного сокращения, особенности строения, обмена веществ. Образование энергии, молекулярные механизмы синаптической передачи и биохимические основы механизмов психической функции нервной системы.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Особенности строения, обмена веществ и образование энергии в мышечной ткани.

1) важнейшие белки миофибрилл: миозин, актин, актомиозин, тропомиозин, тропонин, их строение и роль; 2) молекулярная структура миофибрилл; 3) биохимические механизмы мышечного сокращения и расслабления, роль градиента концентрации ионов кальция и одновалентных ионов; 4) саркоплазматические белки, их функции (миоглобин); 5) экстрактивные вещества мышц, их роль; 6) особенности энергетического обмена в мышцах. Креатинфосфат; 7) биохимические изменения в мышцах при дистрофиях и денервации мышц, креатинурия.

2. Особенности строения, обмена веществ и образование энергии в нервной ткани: а) молекулярные механизмы синаптической передачи. Медиаторы: ацетилхолин, серотонин, ГАМК, гистамин, катехоламины. Роль витаминов В₁, В₆, В₁₂, ТГФК, HS-CoA в синтезе медиаторов; б) нарушения обмена биогенных аминов при психических заболеваниях; в) физиологически активные пептиды мозга.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.

2. Николаев А.Я. Биохимия, 1989.- С. 450-460, 461-474.

3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1983.-С. 680-713; 1990. - С. 488-516.

РАЗДЕЛ: Нейроэндокринная регуляция обмена веществ. Биохимическая адаптация

З А Н Я Т И Е № 3 4

ТЕМА: Гормональная регуляция обмена веществ и функций.

ЦЕЛЕВЫЕ ЗАДАЧИ:

1. Уровни регуляции обмена веществ в организме и их взаимосвязь:

1) внутриклеточные механизмы регуляции (изменение активности ферментов путем активации или ингибирования; изменение количества ферментов и других белков путем индукции и репрессии их синтеза, изменение скорости трансмембранного переноса веществ);

- 2) эндокринная система регуляции. Гормоны как химические сигналы передачи информации внутрь клетки;
- 3) нервная система и рецепторный аппарат трансформации сигналов внешней и внутренней среды.
2. Эндокринная система регуляции:
 - 1) механизмы регуляции синтеза и секреции гормонов - нервные, тропные и метаболические.
 - 2) взаимодействие гормонов - понятие о синергизме, антогонизме и пермиссивном действии гормонов;
 - 3) биохимические механизмы действия гормонов на клеточные структуры.
3. Гормональная регуляция обмена веществ, процессов биохимической адаптации, размножения, роста и развития организма:
 - 1) регуляция обмена углеводов, жиров и аминокислот;
 - 2) регуляция энергетического обмена в клетке
 - 3) регуляция водно-солевого обмена и секреции пищеварительных соков;
 - 4) регуляция фосфорно-кальциевого обмена;
 - 5) регуляция процессов роста и развития организма, пролиферации и дифференцировки клеток;
 - 6) регуляция обмена веществ, связанная с репродуктивной функцией организма;
 - 7) роль гистогормонов апуд-системы в регуляции обмена веществ в организме.
4. Нарушение гормональной регуляции обмена веществ, роста и развития организма.

Л и т е р а т у р а

1. Лекции.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биохимия, 1983.-С. 228-267; 325; 1990. - С. 170-202, 243.
3. Николаев А.Я. Биохимия, 1989.- С. 351-398.
4. Строев Е.А. Биохимия, 1986.- С. 370-412.

Контрольные вопросы и задачи

1. Инсулин и его роль в регуляции углеводного, липидного и аминокислотного обмена. Сахарный диабет.

2. Глюкагон и адреналин. Их роль в регуляции углеводного и липидного обмена.

3. Глюкокортикоиды, их роль в регуляции обмена белков, глюконеогенеза и обмена липидов. Гиперкортицизм.

4. Паратгормон, кальцитонин, 1,25-дигидроксикальциферрол, 24,25-дигидроксикальциферрол. Их роль в регуляции фосфорно-кальциевого обмена.

5. Минералкортикоиды и вазопрессин. Их роль в регуляции водно-солевого обмена. Альдостеронизм. Несахарный диабет.

6. Роль адреналина, тироксина, инсулина и других гормонов в регуляции энергетического обмена в клетке.

7. Тироксин. Его роль в обмене веществ, росте и развитии организма. Гипо- и гиперфункции щитовидной железы.

8. Половые гормоны и их роль в регуляции обмена веществ и репродуктивной функции организма.

9. Гормон роста, тироксин, половые гормоны, соматомедины. Их роль в регуляции синтеза белка, регуляции роста и развития организма, размножении и дифференцировки клеток.

10. Гормоны местного действия - гистогормоны апуд-системы.

РАЗДЕЛ: Генетические основы наследственных болезней обмена. Диагностика

ЗАНЯТИЕ № 35

ТЕМА: Система обследования детей для выявления наследственных болезней обмена

ЦЕЛЬ: Познакомить с экспресс-методами выявления наследственных болезней обмена.

Среди наследственных заболеваний большую группу составляют болезни обмена, связанные с недостаточным синтезом или отсутствием отдельных ферментов (энзимопатии). Диагностика наследственных болезней обмена веществ основана на анализе клинических, генеалогических и биохимических данных. Современные методы биохимического исследования позволяют обнаружить энзимопатии в ранней период жизни ребенка, до появления клинических признаков заболеваний. Полные программы биохимических исследований, имеющих целью выявить наследственные дефекты обмена, чрезвычайно сложны, требуют наличие квалифицированных лаборантов,

дефицитных реактивов и поэтому трудно выполнимы в условиях лабораторной службы детских больниц. Поэтому в настоящее время во многих странах вводится двухэтапная система обследования детей. На первом этапе используются качественные "отсеивающие" (screening) тесты, которые не требуют больших затрат времени, дорогостоящих реактивов и позволяют проводить обследование больших контингентов детского населения. При положительных результатах качественных проб осуществляется второй этап биохимической диагностики с помощью современных методов биохимии и нагрузочных проб в специальных лабораториях.

Представленная скринирующая программа используется для первого этапа обследования. С помощью приведенных в ней качественных реакций можно выявить нарушения обмена углеводов, аминокислот, мукополисахаридов, обмена кальция и меди. Обнаружение редуцирующих веществ в моче говорит о нарушении углеводного обмена. При положительной реакции на редуцирующие вещества нужно дополнительными пробами установить характер углевода (глюкоза, фруктоза, пентозы). Положительная реакция на фенилпировиноградную и имидазолпировиноградную кислоты наблюдается при нарушениях обмена фенилаланина и гистидина, которые известны под названием "фенилкетонурия" и "гистидинемия".

Положительная реакция на кетокислоты наблюдается при нарушении обмена разветвленных аминокислот (валина, лейцина, изолейцина), которое известно под названием "болезнь с запахом мочи кленового сиропа". Положительная реакция на мукополисахариды характерна для мукополисахаридов (горгоилизм). Синдромы: Гурлер, Гунтера, Санфилиппо, Марио, Пеле, Гарто).

При гипераминоацидурии будет резко положительная реакция на свободные альфа-аминокислоты. В основе развития гипераминоацидурии лежат нарушения внутриклеточного обмена аминокислот или ферментных систем транспорта аминокислот на уровне клеточных мембран (нарушения реабсорбции в почечных канальцах). Выделение тирозина (тирозилурия) наблюдается при тирозинозе, пролина и оксипролина - при нарушениях обмена коллагена, цистина при цистинурии. Увеличение содержания Са в моче наблюдается при тубулопатии, гипервитаминозе Д, меди - при гепатолентикулярной дегенерации.

Определение фенилаланина в сыворотке крови

ХОД РАБОТЫ: на кружок фильтровальной бумаги на одинаковом расстоянии от вырезанного центра (метки "ф", "ис", "са") наносят строго одинаковое количество - 0,02 мл - стандартного раствора фенилаланина (0,06 г/л), затем испытуемой сыворотки ("ис") и сыворотки здорового человека. В чашку Петри наливают разгоночную смесь и накладывают на нее кружок с вставленным в центр цилиндром из фильтровальной бумаги, накрывают крышкой, разделяют аминокислоты, затем высушивают кружок, опрыскивают нингидрином, сравнивают величины пятен фенилаланина (стандарта), контроля и испытуемой пробы. Оценка результатов - на глазок, полуколичественная.

Полуколичественное определение гипераминоацидурии

ХОД РАБОТЫ: на полоску фильтровальной бумаги наносят строго одинаковое (0,02 мл) количество исследуемой мочи и через каждые 1 см - такое же количество стандартных растворов глицина 2-4-10-20 ммоль/л. Подсушивают бумажку, опрыскивают ее нингидрином и определяют в испытуемой пробе количество суммы аминокислот (в сравнении с окраской пятен стандартных растворов глицина). Сделать расчет суточной экскреции суммы аминокислот, исходя из объема мочи за сутки 1,0 л и концентрации аминокислот в пробе. Нормальный ребенок весом в 4 кг выделяет за сутки не более 5 ммоль аминокислот.

Диагностика тирозиноза пробой Миллона

ХОД РАБОТЫ: на одну полоску фильтровальной бумаги наносят 1 каплю мочи здорового, а на другую - больного пациента и высушивают полоски на воздухе. На каждое пятно наносят каплю реактива Миллона. Через 2 мин отмечают появление характерного оранжевого окрашивания. Для полуколичественной оценки результатов на четыре полоски фильтровальной бумаги наносят по 1 капле стандартных растворов тирозина, соответствующих концентрации 0,3; 0,4; 0,5 и 0,6 г/л. Подсушивают полоски на воздухе и в эти же зоны вносят по капле реактива Миллона. Нижняя граница чувствительности реакции при содержании исследуемых субстанций 0,3 г/л. Сравнивают интенсивность окраски исследуемых проб мочи с цветной шкалой стандартных растворов тирозина и устанавливают примерное

содержание определяемых субстанций в моче (тирозин+4-гидроксифенилпироват).

Практическое значение работы: В норме содержание тирозина в плазме крови у детей до 1 месяца составляет 90-140 и у детей от 2 месяцев до 14 лет - 55-110 мкмоль/л; экскреция с мочей этой аминокислоты у детей до года равна 4-30 и от года до 14 лет - 5-88 мкмоль/сутки. При тирозинозе концентрация его в этих биологических жидкостях увеличивается в 2 раза и более и пробы на присутствие их становятся положительными.

Выявление алкантонурии

Алкантонурия - наследственное заболевание, связанное с дефектом гомогентизинаоксидазы, осуществляющей превращение гомогентизиновой кислоты в фумарилацетоуксусную. При этом заболевании накапливается в средах организма гомогентизиновая кислота.

ХОД РАБОТЫ: метод основан на окислении гомогентизиновой кислоты кислородом воздуха в щелочной среде с образованием пигментного продукта сине-фиолетового цвета. В одну пробирку вносят 10 капель нормальной, а в другую - патологической мочи, добавляют по 2 капли раствора гидроксида натрия, встряхивают и наблюдают за изменением окраски 1-2 мин. Проба положительна при наличии сине-фиолетового окрашивания, свидетельствующего о присутствии гомогентизиновой кислоты.

Схема скринирующего анализа мочи для выявления наследственных заболеваний

Открываемый индигент	Реактивы	Постановка реакций	Результат реакций
1. Удельный вес	Урометр		
2. Цвет			
3. Прозрачность			
4. Реакция	Лакус		
5. Белок	Сульфосалициловая кислота 20%	К 2 мл мочи + несколько капель реактива. Сравнивают с мочой без реактива	Муть или осадок
6. Редуцирующие вещества (углеводы)	Р-р Бендикта 173 г. лимонно-кислого Na_2CO_3 раств. в 700 мл воды 17,3 г CuSO_4 в 100 мл смешать и довести до 1 л	К 1 мл р-ра Бендикта + 0,5 мочи и помещают в кипящую водяную баню на 5 мин. Регистрируют окраску и, пользуясь следующей шкалой, дают приблизительную количественную оценку	Голубой цвет - нет углеводов. Зеленый - 0,25% глюкозы. Оливковый - 0,5%. Желто-зеленый - 0,75%. Желто-коричневый - 1,0%. Оранжевый - 2%
7. Глюкоза	Глюкотест-бумажка	Бумажка смачивается исслед. мочой	Оценка окраски по шкале
8. Ацетоновые тела	Нитропруссид натрия 5%, 10%, КОН	К 10 кап. мочи + 1 кап., свежераспределенного реактива + 1-2 кап. 10% КОН	Красное стойкое окрашивание, усиливающееся после добавления 2-3 кап. конц. CH_3COOH
9. Фенилпировиноградная и имидзопировиноградная к-ты	Мо-реактив: 11 г NaCl , 20 мл конц. NH_4OH и вода до литра 10% FeCl_3 10% HCl	Если много фосфатов, для их удаления приливают Мо-реактив, 4 мл мочи + 1 мл р-ра через 5 мин. Фильтруют. Смесь подкисляют 2-3 кап., 10% HCl , затем по кап. (3-4 кап.) 10% FeCl_3 до появления окраски	Сине-зеленую окраску, которая быстро бледнеет, дают фенилпировиноградная и имидзопировиноградная кислоты. Красно-фиолетовое окрашивание дают ацетоуксусная кислота и салицилаты. Зеленое окрашивание дают билирубин, томогенизиновая кислота и катехоламины при стоянии в течение 0,5 час.

Открываемый ингредиент	Реактивы	Постановка реакций	Результат реакций
10. Кстоикислоты	0,2% 2,4-динитрофенилгидразин в 2 н HCl	0,25 мл мочи + 1 мл реактива. Оставляют на 10 мин. Затем добавляют равный объем эфира, встряхивают и верхний слой переносят в чистые пробирки. Сюда добавляют равный объем 10% Na ₂ CO ₃	В нижнем слое или на границе двух жидкостей образуется комплексное соединение, окрашенное в желто-оранжевый цвет. Интенсивность окраски оценивается визуально от 1 до 4-х плюсов.
11. Мукополисахариды	Толуидиновый синий 0,2 г в 80 мл ацетона + 20 мл воды	На очерченные места на фильтровальной бумаге наносят мочу, сушат и затем помещают бумажку в р-р толуидинового синего. В качестве стандарта берется р-р хондроитин-серной кислоты. По высыханию капли излишек реактива устраняют двукратным погружением в 10 CH ₃ COOH	При положительной пробе пятна окрашиваются в пурпурно-красный цвет
12. Аминокислоты по аминоразу	КОН-бумажка, нингидриновый р-р 15 мг нингидрина + 5 мл этиленгликоля + 0,1 мл лед. CH ₃ COOH	На очерченные участки на КОН-бумажке наносят капли мочи и высушивают. Затем бумажку смачивают в нингидриновом реактиве и высушивают в сушильном шкафу при 100°C 10 мин	Аминокислоты дают фиолетовые пятна
13. Пролин	Изотиновый р-р; 9,6 мл 0,2% р-р изотина + 0,4 мл лед. CH ₃ COOH	На очерченные полоски на бумаге наносится моча и высушивается. Затем полоски смачиваются в изотиновом р-ре и высушиваются в сушильном шкафу при 100°C 10 мин	Пролин дает голубое окрашивание
14. Тирозин	Реактив Миллона	На бумажку наносят мочу, высушивают и сюда же наносят реактив Миллона	Кирпично-красное окрашивание

Открываемый ингредиент	Реактивы	Постановка реакций	Результат реакций
15. Цистин	1,5 мг азида натрия + 50 мл 0,1% этиловый спирт до 100 мл	На фильтровальную бумагу наносят каплю мочи и затем реактив	Исчезновение окраски (красной)
16. Кальций	Реактив: 0,5 мг щавелевой к-ты (NH ₄ /C ₂ O ₄ - 2,5 г 5 мл лед. CH ₃ COOH вода до 150 мл	К 1 мл мочи + 0,5 мл реактива	В норме через 30 мин появляется молочно-белое помутнение. При повышенном содержании Са-облаковидное помутнение
17. Медь	Реактив: свежеприготовл. ортогалуидин - 1 мг 0,5 г 5,0 мл ацетона	На полоску фильтровальной бумаги наносят мочу и оставляют высохнуть на воздухе. Затем на то же пятно наносят ортогалуидиновый реактив	При наличии меди получается синее окрашивание в течение 30 секунд

ЗАНЯТИЕ № 36

Модуль IV

1. Нейроэндокринные регуляторные системы организма.
2. Гормоны. Определение. Классификация. Регуляция их секреции, транспорт, инактивация.
3. Механизм действия гормонов - ранние и поздние эффекты гормонального действия:
 - а) гормональные рецепторы клеточных мембран;
 - б) вторичные посредники передачи гормонального сигнала в клетку;
 - в) изменение проницаемости клеточных мембран и инициация транспорта веществ в клетку;
 - г) изменение активности ферментов ключевых биохимических реакций;
 - д) изменение количества ферментов в клетке путем индукции и репрессии генов.
4. Строение и биороль нейрогормонов гипоталамуса и тропных гормонов гипофиза.
5. Строение и биороль гормонов щитовидной железы.
6. Биороль гормонов паращитовидных желез и "С" - клеток щитовидной железы.
7. Строение и биороль гормонов поджелудочной железы.
8. Гормоны мозгового слоя надпочечников. Строение, биороль.
9. Строение и биороль глюкокортикоидов и минералокортикоидов коры надпочечников.
10. Строение и биороль гормонов половых желез.
11. Гистогормоны апуд-системы.
12. Роль воды, макро- и микроэлементов в организме.
13. Основные функции почек. Роль почек в регуляции водно-солевого обмена и поддержания гомеостаза в организме.
14. Химический состав и свойства мочи. Органические и неорганические компоненты мочи.
15. Патологические составные части мочи. Диагностическое значение определения их в моче.
16. Кровь. Состав, биохимические и физиологические функции.
17. Биохимические особенности клеток крови и их функции.
18. Основные белки плазмы крови и их функции.

19. Ферменты плазмы крови, их происхождение и диагностическая ценность определения.

20. Липопротеины плазмы крови.

21. Азотистые и безазотистые низкомолекулярные органические компоненты крови, их значение.

22. Неорганические компоненты крови.

23. Регуляторная и гормональная функция крови - кинины.

24. Особенности энергетического обмена, кровоснабжения и обеспечение печени кислородом.

25. Интеграционная регуляторно-гомеостатическая функция печени:

а) роль печени в углеводном и липидном, белковом обмене;

б) участие печени в обмене витаминов;

в) участие печени в обмене азотистых оснований, порфирина;

г) участие печени в водно-минеральном обмене;

д) биосинтез веществ в печени на "экспорт".

26. Желчеобразовательная и экскреторная функция печени.

27. Антиоксическая функция печени:

а) обезвреживание аммиака - синтез мочевины;

б) механизмы обезвреживания вредных веществ, образующихся в организме и поступающих извне: 1) микросомальное окисление, 2) реакция конъюгации;

в) роль печени в пигментном обмене (катаболизм гема);

г) инактивация гормонов;

д) обезвреживание продуктов гниения белков в кишечнике;

е) метаболизм лекарственных веществ.

28. Печеночно-клеточная недостаточность.

29. Разновидности соединительной ткани. Особенности строения. Роль в организме.

30. Структурная организация соединительной ткани: а) типы клеточных элементов. Их функции; б) межклеточный органический матрикс.

31. Особенности химического состава биополимеров соединительной ткани. Особенности строения и обмена коллагена, эластина, протеогликанов, гликопротеинов. Их функции.

32. Регуляция обмена соединительной ткани. Роль гормонов и витаминов и других факторов.

33. Биохимические изменения соединительной ткани при старении и некоторых патологических процессах. Диагностические тесты.

34. Механизм действия адренолина, глюкагона, инсулина, глюкокортикоидов на углеводный, белковый и липидный обмен.
35. Механизм действия минералокортикоидов на водно-солевой обмен.
36. Виды глюкозурии. Сахарный диабет, механизм его развития.
37. Источники и особенности энергетического обеспечения мышечной деятельности.
38. Механизм мышечного сокращения. Роль небелковых азотистых экстрактивных веществ.
39. Биохимические изменения в мышцах при патологии.
40. Особенности химического состава, строения и метаболизма нервной ткани.
41. Химические основы возникновения и проведения нервных импульсов.
42. Химический состав спинномозговой жидкости, диагностическое значение их определения.

Биохимические константы и элементы клинической биохимии

1. Нормальное содержание глюкозы в крови при определении глюкозооксидазным методом.
2. Сахарные кривые, диагностическое значение определения. Глюкозо-толерантный тест.
3. Нормальное содержание холестерина в крови и изменение его при атеросклерозе и ожирении (ЛПНП - бета-липопротеины).
4. Нормальное содержание белка в сыворотке крови. Диагностическое значение определения.
5. Нормальное содержание остаточного азота в сыворотке крови и его изменение при острой почечной недостаточности.
6. Нормальное содержание мочевины в сыворотке крови и его изменение при острой почечной недостаточности.
7. Нормальное содержание мочевой кислоты в крови. Диагностическое значение ее определения при подагре.
8. Нормальное содержание общего билирубина в сыворотке крови. Диагностическое значение определения при желтухах.
9. Изменение содержания связанного и свободного билирубина при механической и гемолитической желтухах.

10. Нормальное содержание неорганического фосфата в крови и его изменение при рахите.
11. Нормальное содержание ионизированного кальция в крови и его изменение при удалении околощитовидной железы.
12. Нормальное содержание гемоглобина в крови. Диагностическое значение его определения.
13. Нормальные величины общей кислотности, связанной, свободной соляной кислоты желудочного сока и их изменения при патологии.
14. Диагностическое значение определения изоферментов лактатдегидрогеназы в сыворотке крови при инфаркте миокарда и при болезнях печени.
15. Диагностическое значение определения активности амилазы в моче.
16. Диагностическое значение определения активности кислой фосфатазы при раке предстательной железы.
17. Глюкозурия, ее причины и диагностическое значения определения при сахарном диабете. Почечный порог для глюкозы.
18. Патологические составные части мочи.
19. Диагностическое значение определения белка в моче.
20. Диагностическое значение определения ацетоновых тел в крови и в моче.
21. Механизм и значение повреждения митохондрий при действии химических веществ и физических факторов.
22. Определение числа омыления, кислотного числа. Акролеиновая проба. Значение этих показателей и использование их в санитарной службе.
23. Способы определения активности холинстераз и их диагностическое значение в условиях химического производства.
24. Ингибиторы дегидрогеназ: их виды и механизм действия. Диагностическое значение определения активности в условиях химического производства.
25. Биохимические механизмы патологического процесса, вызванного химическими факторами внешней среды.
26. Строение гемоглобина. Производные гемоглобина, образующиеся при действии токсических веществ.
27. Основные принципы определения активности ферментов. Использование ферментативных тестов в клинико-лабораторной диагностике интоксикаций.

28. Критерии пригодности жира в пищу и их гигиеническое значение.

29. Особенности химического состава клеточного ядра и его роль в метаболизме клетки. Нарушение функции ядра клетки физическими факторами.

30. Строение и биологическая роль ДНК. Понятие о химических мутагенах. Механизм мутаций, вызванных химическими и физическими факторами.

31. Основные виды химических повреждений молекулярной структуры и функций гемоглобина. Производные гемоглобина, важные для понимания патогенеза отравлений промышленными ядами.

32. Механизм образования метгемоглобина, его свойства, физиологическая роль и способы количественного определения.

33. Цикл трикарбоновых кислот. Его значение в обмене веществ. Понятие о "летальном синтезе".

34. Химический состав, ультраструктура, биологическая роль клеточных мембран. Возможные механизмы повреждения токсическими веществами.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
РАЗДЕЛ: Молекулярные основы структурной организации клетки	
ЗАНЯТИЕ №1. Тема: Состав живой материи: биомолекулы. Белки и пептиды	6
ЗАНЯТИЕ №2. Тема: Методы разделения и количественного определения белков и аминокислот	11
ЗАНЯТИЕ №3. Тема: Простые и сложные белки	17
ЗАНЯТИЕ №4. Тема: Сложные белки - надмолекулярные белковые комплексы	20
ЗАНЯТИЕ №5. Тема: Биологические мембраны. Структурно-функциональная организация клетки	22
РАЗДЕЛ: Нейроэндокринная регуляция обмена веществ. Биохимическая адаптация	
ЗАНЯТИЕ №6. Тема: Гормоны	24
ЗАНЯТИЕ №7. Модуль I Тема: Молекулярные основы структурной организации клетки. Биохимическая адаптация	25
РАЗДЕЛ: Молекулярные основы жизнедеятельности и патологии	
ЗАНЯТИЕ №8. Тема: Ферменты, строение, механизм действия	29
ЗАНЯТИЕ №9. Тема: Свойства ферментов. Кинетика ферментивных реакций	31
ЗАНЯТИЕ №10. Тема: Классификация ферментов. Изоферменты	34
ЗАНЯТИЕ №11. Тема: Водорастворимые витамины - важнейшие кофакторы ферментов	36
ЗАНЯТИЕ №12. Тема: Жирорастворимые витамины	38
ЗАДАНИЕ №13. Модуль II. Тема: Молекулярные основы жизнедеятельности и патологии	43
РАЗДЕЛ: Обмен энергии. Биологическое окисление	
ЗАНЯТИЕ №14. Тема: Специфические и общие пути катаболизма	47
ЗАНЯТИЕ №15. Тема: Тканевое дыхание	50
РАЗДЕЛ: Углеводный обмен	
ЗАНЯТИЕ №16. Тема: Гликолитический путь окисления углеводов	53
ЗАНЯТИЕ №17. Тема: Гексозомонофосфатный путь окисления углеводов. Глюконеогенез	55
ЗАНЯТИЕ №18. Тема: Регуляция и нарушения углеводного обмена	57
РАЗДЕЛ: Обмен и функции липидов	
ЗАНЯТИЕ №19. Тема: Химия и обмен липидов	67
ЗАНЯТИЕ №20. Тема: Биосинтез липидов. Регуляция и патология липидного обмена	70
РАЗДЕЛ: Обмен белков и аминокислот	
ЗАНЯТИЕ №21. Тема: Белковое питание. Переваривание белков	72
ЗАНЯТИЕ №22. Тема: Промежуточный обмен аминокислот	75
ЗАНЯТИЕ №23. Тема: Особенности обмена отдельных аминокислот	78
ЗАНЯТИЕ №24. Модуль III. Тема: Обмен липидов, белков, аминокислот	82

РАЗДЕЛ: Молекулярные механизмы передачи генетической информации	
ЗАНЯТИЕ №25. Тема: Обмен нуклеотидов	85
{ ЗАНЯТИЕ №26. Тема: Биосинтез нуклеиновых кислот.....	88
{ ЗАНЯТИЕ №27. Тема: Синтез белка, его регуляция и молекулярные механизмы изменчивости	90
ЗАНЯТИЕ №28 (коллоквиум). Раздел: Молекулярные механизмы передачи генетической информации	92
РАЗДЕЛ: Функциональная биохимия органов и тканей	
ЗАНЯТИЕ №29. Тема: Биохимия печени.....	94
{ ЗАНЯТИЕ №30. Тема: Биохимия крови	97
{ ЗАНЯТИЕ №31. Тема: Обмен воды и минеральных веществ	100
ЗАНЯТИЕ №32. Тема: Биохимия соединительной ткани.....	102
ЗАНЯТИЕ №33. Тема: Биохимия мышечной и нервной ткани.....	104
РАЗДЕЛ: Нейроэндокринная регуляция обмена веществ. Биохимическая адаптация	
ЗАНЯТИЕ №34. Тема: Гормональная регуляция обмена веществ и функций	105
РАЗДЕЛ: Генетические основы наследственных болезней обмена. Диагностика	
ЗАНЯТИЕ №35. Тема: Система обследования детей для выявления наследственных болезней обмена.....	107
ЗАНЯТИЕ №36. Модуль IV. Тема: Функциональная биохимия органов и тканей. Нейроэндокринная регуляция обмена веществ.....	114

Э.М.Кучук

МЕТОДИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ ЗАНЯТИЙ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Редактор Л.В. Тарасова

Технический редактор Э.К. Гаврина

Корректор О.А. Матвеева

Компьютерная верстка Е.В. Бондаренко

Подписано в печать 05.09.96. Формат 60×84 1/16

Офсетная печать. Объем 7,5 п.л.

Тираж 250 экз. Заказ 91

Издательство Кыргызско-Российского
Славянского университета
720000, Бишкек, ул. Киевская, 44

Отпечатано в типографии КРСУ
720000, Бишкек, ул. Шопокова, 68

ПЕРИОДИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ЭЛЕМЕНТОВ Д. И. МЕНДЕЛЕЕВА

I	II	III	IV	V	VI	VII	He
1 1 1,0079 Водород	4 9,01 Бериллий	5 10,81 Бор	6 12,011 Углерод	7 14,00 Азот	8 15,999 Кислород	9 18,995 Фтор	10 20,179 Неон
2 2 2,018 Литий	12 24,3 Магний	13 26,98 Алюминий	14 28,09 Кремний	15 30,97 Фосфор	16 32,06 Сера	17 35,45 Хлор	18 39,95 Аргон
3 22,99 Натрий	19 39,098 Калий	20 40,08 Кальций	21 44,96 Скандий	22 47,90 Титан	23 50,94 Ванадий	24 51,996 Хром	25 54,94 Марганец
4 39,098 Калий	40 89,904 Стронций	41 87,62 Иттрий	42 91,22 Цирконий	43 92,906 Нобий	44 95,94 Молибден	45 98,906 Технеций	46 101,07 Рутений
5 63,55 Медь	30 65,38 Цинк	31 69,72 Галлий	32 72,59 Германий	33 74,92 Мышьяк	34 78,96 Селен	35 79,904 Бром	36 83,80 Криpton
6 85,47 Рубидий	37 85,47 Стронций	38 87,62 Иттрий	39 91,22 Цирконий	40 92,906 Нобий	41 95,94 Молибден	42 98,906 Технеций	43 101,07 Рутений
7 107,368 Серебро	46 112,41 Кадмий	47 114,82 Индий	48 118,69 Олово	49 121,75 Сурьма	50 127,60 Теллур	51 128,904 Йод	52 131,30 Ксенон
8 132,905 Цезий	55 137,33 Барий	56 138,905 Лантан	57 140,91 Церий	58 143,91 Прометий	59 147,07 Неодим	60 150,41 Празмодин	61 151,96 Самарий
9 196,966 Золото	80 200,59 Ртуть	81 200,59 Таллий	82 204,37 Свинец	83 208,98 Висмут	84 210,0 Полоний	85 210,0 Астат	86 222,0 Радон
10 223,0 Франций	87 223,0 Франций	88 226,025 Радий	89 226,025 Актиний	90 227,0 Торий	91 232,0 Протактиний	92 238,0 Уран	93 238,0 Нептуний

*) ЛАНТАНОИДЫ 58-71

58 140,9 Церий	59 147,07 Неодим	60 150,41 Празмодин	61 151,96 Самарий	62 153,92 Европий	63 157,25 Гадолиний	64 160,93 Тербий	65 162,50 Диспрозий	66 164,93 Гольмий	67 167,26 Эрбий	68 168,93 Тулий	69 170,94 Иттербий	70 173,04 Лютеций	71 175,04 Гафний
-------------------	---------------------	------------------------	----------------------	----------------------	------------------------	---------------------	------------------------	----------------------	--------------------	--------------------	-----------------------	----------------------	---------------------

**) АКТИНОИДЫ 90-103

90 226,025 Торий	91 232,0 Протактиний	92 238,0 Уран	93 238,0 Нептуний	94 244,1 Плутоний	95 247,1 Америций	96 251,1 Кюрий	97 252,0 Берклий	98 257,1 Калифорний	99 261,1 Эйнштейний	100 265,1 Фермий	101 269,1 Менделеев	102 273,1 Нобелий	103 277,1 Лавриенсий
---------------------	-------------------------	------------------	----------------------	----------------------	----------------------	-------------------	---------------------	------------------------	------------------------	---------------------	------------------------	----------------------	-------------------------

РЯД НАПРЯЖЕНИЙ МЕТАЛЛОВ

→ Способности присоединять электроны: (восстанавливаться) возрастает

Li⁺ Rb⁺ K⁺ Cs⁺ Ca²⁺ Na⁺ Mg²⁺ Al³⁺ Ti²⁺ Mn²⁺ Cr²⁺ Zn²⁺ Cr³⁺ Fe²⁺ Cd²⁺

Co²⁺ Ni²⁺ Sn²⁺ Pb²⁺ Fe³⁺ (H)⁺ Bi³⁺ Cu⁺ Cu²⁺ Ag⁺ Hg²⁺ Pt²⁺ Au³⁺ Au⁺

← Способности отдавать электроны (окисляться) возрастает